

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA
FACULTE SNV STU

DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur en Sciences
Sciences Biologiques

THÈME

*Evaluation du risque écologique et sanitaire de la contamination
des eaux et des sédiments du barrage Beni Haroun (Wilaya de Mila)*

Présenté par : M^{elle} Safia Habila

Membres de jury :

Président	: Pr. HOUHAMDI. M.	Université de Guelma.
Directeur de thèse	: Pr. LEGHOUCHI. E.	Université de Jijel.
Co-directeur de thèse	: Pr. NAVAS. J.M.	INIA Madrid Espagne
Examineurs	: Pr. DJEBAR. M.R.	Université d'Annaba.
	: Pr. LAHOUEL. M.	Université de Jijel.
	: Dr. BOUDALIA. S.	Université de Guelma.

Année 2017/2018

*"There are no secrets to success. It is the result of preparation,
hard work, and learning from failure."*

-- Colin Powell

À mon père, que je n'oublierai jamais et qui aurait été comblé de bonheur, s'il était encore dans ce monde, que Dieu ait son âme et l'abrite dans son immense paradis.

À la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à celle dont j'ai prononcé le premier mot, source de ma vie ma mère.

*À mon frère Tahir et mes sœurs Loubna et Khadidja.
À mes Neveux et mes nièces Mino, Adoma , Islamo, Joury , Romiesa et Line(Soundosse).*

À mon futur mari Yousef,

À tous ceux que j'aime,

Remerciements

Avant tout, je remercie le bon Dieu tout puissant qui m'a donné la force et la foi et de m'avoir permis d'arriver à ce stade-là.

J'aimerais adresser, en premier lieu, ma plus sincère gratitude à mon directeur de thèse, le professeur Essaid Leghouchi. Ça sera pas suffisant pour lui exprimer toute ma grande reconnaissance pour la confiance et le grand soutien et la disponibilité qu'il m'a accordé pour faire avancer ce travail. Il a fait preuve à la fois d'une grande expérience scientifique et humaine, patience, gentillesse et d'un esprit responsable, critique et rigoureux.

J'exprime ma profonde reconnaissance à chacun des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et de le porter un éclairage différent.

Une partie de ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de phytochimie et pharmacologie. Je tiens à cet effet à remercier le Professeur Smail khelili qui n'a pas cessé de me prêter son soutien, scientifique et moral, depuis qu'il a dirigé mon travail de magister. Je tiens à lui exprimer ma plus vive reconnaissance pour sa disponibilité et ses conseils. Je dois aussi remercier le nouveau directeur Mr Belghoubi et les ingénieurs de labo Riad et spécialement Hadia qui était toujours souriante et gentille avec moi.

Mes remerciements vont également au ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique et de la faculté de sciences de la nature et de la vie université de Jijel pour m'avoir donné l'opportunité de faire une partie du présent travail à l'étranger.

Je tiens aussi à exprimer toute ma gratitude au professeur José Maria Navas mon co-directeur de la thèse et le directeur du Laboratoire (Disrupción endocrina y toxicidad de contaminantes) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) Madrid. Vous m'avez apporté une aide inestimable en m'accordant largement votre attention et en me prodiguant vos conseils. Vous avez mis tout le matériel de votre laboratoire à ma disposition. Je n'oublierai jamais votre accueil chaleureux au sein de votre équipe à l'INIA et je suis très reconnaissante de l'intérêt que vous m'avez porté en toutes circonstances.

Je tiens aussi à remercier Ana Valdhita pour son aide dans l'apprentissage des techniques d'analyse et surtout dans la culture cellulaire.

Mes remerciements vont également à tous les membres de l'équipe (Disrupción endocrina y toxicidad de contaminantes). Lilian, Javier, Luis, victor, Juliana, Alicia, Azucena, Maria Luisa, Miguel, Judith et David. Leur aide, leur sympathie, leur soutien et leur générosité m'ont permis de travailler dans un environnement agréable. Merci encore pour votre accueil et surtout de votre sincère amitié.

Ma collaboration avec le professeur Murat Ozman a été un grand plaisir. Je lui remercie de m'avoir donné l'occasion de travailler au niveau du laboratoire Environmental Toxicology Inonu university Turkey. Je tiens à lui exprimer ma plus vive reconnaissance pour son soutien, ses conseils, sa compétence et sa disponibilité, mais aussi pour sa bonne humeur et sa gentillesse et son humanité. À cet égard je tiens à remercier Dr Abbas Güngördü pour son encadrement et son aide pour réaliser les dosages des biomarqueurs. Je trouve pas les mots pour te dire merci pour tous, tu n'étais pas seulement un encadrant mais aussi un cher amis. Je tiens à remercier aussi Miraç pour son aide, merci pour ton aide et ton amitié. Je n'oublierai jamais le temps que j'ai passé avec toi et avec Abbas.

Nesrine Ozman je tenais vraiment à t'exprimer toute ma sympathie. Tu étais très gentille avec moi lors de mon séjour en Turquie.

Je suis également très touchée par l'accueil et les facilités accordées lors de la réalisation des dosages des métaux lourds dans le laboratoire de géoressources et environnement université FST Fes Maroc. Merci au professeur Lahcen Ben Abidate, à Halima et à Hanane.

Un grand merci aussi aux pêcheurs et à l'ensemble du personnel de la direction de pêche de la wilaya de Mila qui ont mis à ma disposition leurs moyens et leurs temps pour les prélèvements des poissons et spécialement Ahmed, à cet égard je remercie infiniment mon frère Tahir Habila et Mon étudiant Rafique Djellit d'avoir transporté les poissons jusqu'au laboratoire.

Je remercie vivement le Dr Guettef Mohemmed pour son aide pour l'échantillonnage.

Je remercie chaleureusement Dr Bodjelale Farhat pour son aide dans les analyses statistiques et Dr Ghorab Ismahane pour son aide dans l'identification des poissons.

Je remercie aussi tous mes collègues du laboratoire de phytochimie et pharmacologie spécialement Karima, Meriem, Amina, Khadidja, Samira, Zineb, Fatiha, Widad et Zaki. Je tiens à remercier aussi mes amies de l'université de Jijel spécialement Nada, Asma et Nassima.

Merci 250 poissons d'avoir donné votre vie à la science.

Très nombreux les gens qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail. Tout en m'excusant auprès d'eux de ne pas les citer, je leur exprime ma vive reconnaissance.

Résumé

Le lac du barrage de Beni Haroun, situé dans la wilaya de Mila Nord Est d'Algérie, est considéré comme la plus importante source d'eau potable, d'irrigation et de la pêche en Algérie. Ce travail de thèse s'intéresse particulièrement à l'étude de la pollution des eaux et de sédiments du lac du barrage par les métaux lourds et les polluants organiques persistants (POPs). Afin d'atteindre notre objectif, ce travail s'est appuyé sur une approche mixte associant d'une part l'utilisation des analyses physico-chimiques telles que les mesures des concentrations des métaux lourds (plomb (Pb), cadmium (Cd) et chrome (Cr)) dans les eaux, dans les sédiments et dans les muscles des poissons et d'autre part la recherche des POPs dans les eaux et les sédiments, a cet effet, l'utilisation des biomarqueurs (EROD, BFCOD, AChE,; CaE, CAT, GST, GR, GSH et MDA) chez trois espèces de poissons (*Abramis brama*, *Barbus callensis* et *Cyprinus carpio*) a été retenue. Pour mener à bien le présent travail, il s'est avéré indispensable d'appliquer la technique des bio-essais qui porte sur le test des extraits des sédiments sur les lignées cellulaires des poissons (PLHC1 et RTG2). Les résultats des analyses physico-chimiques montrent clairement la détérioration de l'écosystème aquatique du barrage aussi bien au niveau des eaux qu'au niveau des sédiments, cela se traduit par les concentrations assez élevées des différents métaux lourds (Pb, Cd, Cr) confirmées même dans les muscles de l'espèce *Cyprinus carpio*. Ces résultats ont montré aussi l'existence de certains polluants organiques fortement toxiques pour l'environnement. Il s'agit essentiellement des hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs), des phtalates et de certains organochlorés. Les résultats des dosages des biomarqueurs chez l'espèce *Cyprinus carpio* ont montré que cette espèce est soumise à un stress chimique qui se traduit par une inhibition des activités EROD, AChE et CaE et une induction et/ou inhibition des activités CAT, GST, GR et GSH et une augmentation du taux de MDA. Les résultats des mesures des activités EROD (CYP1A) et BFCOD (CYP3A) dans les espèces *Abramis brama* et *Barbus callensis* et les cellules des poissons ont montré que le lac du barrage est contaminé par les inducteurs des EROD (CYP1A) et BFCOD (CYP3A). Cette étude a montré l'utilité de l'utilisation intégrée des analyses physico-chimiques des biomarqueurs et des bioessais pour évaluer la qualité des milieux aquatiques. Cette étude a aussi montré que les espèces *Abramis brama*, *Barbus Callensis* et *Cyprinus carpio* sont des espèces prometteuses d'être utilisées comme espèces sentinelles dans les programmes de biomonitoring en Afrique du Nord.

Mots clés : Le barrage de Beni Haroun, métaux lourds, Polluants organiques persistants, Biomarqueurs, Bioessais, biomonitoring.

Abstract

Beni Haroun dam Lake, located in the wilaya of Mila, North East of Algeria, is the most important source of drinking water, irrigation, and fishing in Algeria. The aim of this work was to assess the dam lake water and sediments pollution by heavy metals and persistent organic pollutants (POPs). To achieve our objective, this work was based on a mixed approach that combines physicochemical analyzes with the use of biomarkers and bioassays. Heavy metals (Pb, Cd and Cr) concentrations were determined in water, sediment and muscle of fish and POPs were analyzed in water and sediments. In addition, a battery of biomarkers (EROD, BFCOD, AChE, CaE, CAT, GST, GR, GSH and MDA) was applied in three fish species (*Abramis brama*, *Barbus callensis* and *Cyprinus carpio*) and bioassays based on in vitro cultures of fish cell lines (RTG2 and PLHC1) served to test the pollution level of sediments. The results of the physicochemical analyzes showed clearly a deterioration of the dam lake aquatic ecosystem which is reflected by the high heavy metals (Pb, Cd, Cr) concentrations in water, sediment, and muscles of *Cyprinus carpio*. These results showed also the presence of some highly toxic POPs such as polyaromatic hydrocarbons (PAHs), phthalates and some organochlorines. In *C. carpio* specimens chemical stress led to an inhibition of EROD, AChE, and CaE activities and an induction and / or inhibition of CAT, GST, GR and GSH and an increase in MDA levels. The results of EROD (CYP1A dependent) and BFCOD (CYP3A dependent) activities in *Abramis brama* and *Barbus callensis* tissues and in fish cells exposed to sediment extracts, demonstrated the presence of substances able to induce the corresponding CYPs. The present study revealed the utility of the combined use of physico-chemical analyzes biomarkers, and bioassay in the monitoring of water contamination. This study point out that *Abramis brama*, *Barbus Callensis* and *Cyprinus carpio* could be promising sentinels species in biomonitoring programs in North Africa.

Key words: Beni Haroun dam, Heavy metals, persistent organic pollutants, biomarkers, Bioassays, bio monitoring.

الملخص

تعتبر بحيرة سد بني هارون الواقعة في ولاية ميلة شمال الجزائر أهم مصدر لمياه الشرب والري والصيد في الجزائر. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم مدى تلوث مياه ورواسب السد بالمعادن الثقيلة و الملوثات العضوية الثابتة. ومن أجل تحقيق هذا الهدف قمنا بإتباع منهجية نعتمد فيها على دمج تقنيات التحاليل الفيزيائية والكيميائية مثل قياس تركيزات المعادن الثقيلة (Pb, Cd, Cr) في مياه ورواسب واسماك السد من جهة و البحث عن وجود الملوثات العضوية الثابتة في مياه ورواسب السد من جهة اخرى . كما قمنا باستخدام المؤشرات الحيوية عند ثلاث أنواع من الاسماك *Abramis brama*, *Barbus callensis*, *Cyprinus carpio* . ومن أجل اكمال هذا العمل قمنا بتجربة الرواسب على نوعين من خلايا الاسماك (RTG2, PLHC1) في المخبر. أظهرت نتائج التحاليل الفيزيائية والكيميائية بوضوح مدى تدهور النظام البيئي المائي لبحيرة السد والذي ينعكس جليا في ارتفاع تركيزات المعادن الثقيلة (Pb, Cd, Cr) في مياه وتربة واسماك السد كما أثبتت هذه الدراسة وجود بعض الملوثات العضوية الثابتة العالية السمية كالكاربوهيدرات العطرية المتعددة الحلقات و بعض المواد العضوية التي تحتوي على الكلور و الفتالات. أثبتت نتائج المؤشرات الحيوية ان سمك *Cyprinus carpio* يعاني من الاجهاد الكيميائي و الذي ينعكس بتنشيط نشاطات انزيمات CaE , AChE , EROD من جهة وتحفيز او تثبيط نشاط الانزيمات GRI, GST, CAT و مستوى GSH و ارتفاع مستوى ال:MDA من جهة اخرى أظهرت نتائج قياسات انشطة (CYP1A) EROD و (CYP3A) BFCOD في انواع *Abramis brama* *Barbus callensis* وخلايا الأسماك وجود محفزات EROD و BFCOD في بحيرة سد بني هارون. كشفت الدراسة الحالية عن فائدة الجمع بين استخدام التحاليل الفيزيائية والكيميائية، والمؤشرات الحيوية، في رصد تلوث المياه. وتشير هذه الدراسة إلى أن أنواع الأسماك *Abramis brama*، *Barbus callensis* و *Cyprinus carpio* يمكن أن تكون مؤشرات بيولوجية واحدة في برامج المراقبة البيولوجية للمياه في شمال أفريقيا.

الكلمات المفتاحية

سد بني هارون , المعادن الثقيلة , الملوثات العضوية الثابتة , المؤشرات الحيوية , المراقبة البيولوجية , الاختبارات بيولوجية

Liste des abréviations

AChE	Acétylcholinestérase
ACTI	Actylecholine Iodite
AhR	Aryle hydrocarbon
Al	Aluminium
ANBT	Agence Nationale des Barrage et des transferts
As	Arsenic
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BFC	7-Benzoyloxy-4-trifluoromethylcoumarin
BFCOD	Benzoyloxy-4 [trifluoromethyl]-coumarin-Odebenzoyloxylase
BH	Bassin de Beni Haroun
BSA	Sérum d'albumin bovine
CaE	Carboxylestérases
CAT	Catalase
CBSQG	Consensus-Based Sediment Quality Guidelines
CDNB	1-Chloro-2,4-dinitrobenzene
CF	Facteur de condition
Co	Cobalt
CPG	Chromatographie en Phas gazeuse
Cu	Cuivre
CYP1 A	Cytochrome P 4501 A
CYP3A	Cytochrome P4503A
DDt	Dichlorodiphényltrichloroethane
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DTNB	5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)
DTT	Dithiothreitol
EC	Communauté Economique Européenne
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EN	Oued Endja
EPA	Environmental Protection Agency
EROD	Ethoxyresorufin-O-deethylase
F	Femelles
FAO,	Food and Agriculture Organization
Fe	Fer
GC/MS.	Chromatographie en Phas gazeuse couplée au spectromètre de masse
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GR	Glutathion réductase
GSH	Gluthion
GSSG	Glutathion oxydé
GST	Glutathion –s transférase
HAP	Hydrocarbures polycycliques aromatiques
HCB	Hexachlorobenzène
HFC	7-hydroxy-4-[trifluoromethyl]-coumarin
Hg	Mercure
HSI	L'indice hépatosomatique
KH	kilohertz
Km	Kilometre
M	Males
MDA	Malon dialdéhyde

Liste des abréviations

Mo	Molybdène
MS222	Méthanesulfonate d'éthyl aminobenzoate
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
Ni	Nicle
OMS	Organisation mondiale de la santé
p	Précipitations
PBDE	Les retardateurs de flamme bromés
PCBs	Biphényles polychlorés
PCDD	Dibenzo- phoxines polychlorées
PCDF	Dibenzofurannes polychlorés
PEL	Concentrations qui peuvent avoir un effet probable
PH	Période humide
PMSF	Phenylmethane sulfonyl fluoride
PNPA	<i>p</i> -nitrophenol
PNUE	Programme des Nations Unies pour l'environnement
POPs	Polluants Organiques Persistant
Ps	Période sèche
PXR	Récepteur X du pregnane.
RH	Oued Rhumel
ROS	Radicaux libres oxygénés
rpm	Ron par minute
RXR	rétinoïde
SAA	Spectrophotomètre d'absorption atomique
So	Etain
SOD	Superoxyde dismutase
βKF	Benzo [K] fluoranhene
βNF	β-naphthoflavone
t	Température
TEL	Seuil de toxicité
TSCA	Chemical Substance Inventory
UNICEF	United NationsInternational Children Emergency Fund
UNESCO	United Nations Educational an Scientific and cultural
USEPA	United States Environment Protection Agency
V	Volume
WHO	Word Health Organisation
Zn	Zinc

Figure 1.	Comportement des métaux lourds dans l'écosystème aquatique	08
Figure.2.	Processus impliqués dans le comportement et le transport de POPs dans le milieu aquatique	15
Figure. 03	Représentation des méthodologies permettant de surveiller les milieux aquatiques	18
Figure .4.	la relation entre les différents contaminants et les biomarqueurs	22
Figure 5:	différentes étapes de biotransformation chez les poissons	23
Figure 6.	Induction de l'expression du gène CYP1A1 par la voie du récepteur arylhydrocarbon (AhR) et production de la protéine P450 suite à la pénétration d'un xénobiotique dans la cellule	27
Figure.7.	Mécanisme de l'induction de du CYP3A4 par un produit chimique. Chez les mammifères	29
Figure.8.	les réactions impliquées dans la réduction de l'oxygène pendant le métabolisme	32
Figure. 9.	Génération des ROS par voie mitochondriale	34
Figure.10.	Génération des ROS par le Cytochrome P450 (CYP)	35
Figure.11.	Génération des espèces réactive de l'oxygène par les éléments traces métalliques	36
Figure.12.	Les principales interactions oxydatives entre différentes classes des polluants chimiques. ROS	37
Figure 13.	Principales voies enzymatiques et non enzymatique de défense antioxydante cellulaire	39
Figure 14.	Dismutation de l'anion superoxyde par les SOD	41
Figure 15.	Les dégâts oxydatifs	42
Figure.16.	Inhibition de l'acétylcholinestérase	44
Figure.17	image en 3D du barrage Beni Haroun	45
Figure.18	Les grands domaines hydrogéologiques du Kébir-Rhumel	46
Figure.19.	diagramme Embrothermique de Beni Haroun	47
Figure.20.	la brème commune (Abramis brama)	50
Figure.21.	le barbeau Algérien (Barbus callensis)	52
Figure.22.	La carpe commune (Cyprinus Carpio)	53
Figure.23.	Sites d'échantillonnage	55
Figure.24.	Concentrations des métaux lourds dans les muscles de l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le lac du barrage Beni Haroun entre Mars et Octobre 2014	70
Figure.25.	Activité EROD dans le foie de l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014	73
Figure26.	L'activité de l'acétylcholinestérase chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre2014	74
Figure.27.	L'activité de la Carboxyle estérase chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014.	74
Figure. 28	L'activité de la catalase chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014	78
Figure.29.	L'activité de la GST. Chez l'espèce <i>Cyprinus carpi</i> o capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014	80
Figure.30.	L'activité de glutathion réductase (GR)chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014	81
Figure.31.	le taux du glutathion(GSH) chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période Mars- Octobre 2014.	83
Figure.32.	le taux MDA chez l'espèce <i>Cyprinu scarpio</i> capturée dans le barrage de Beni	84

Liste des figures

Figure .33.	Haroun durant la période Mars- Octobre 2014. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) dans les tissus du barbeau Algérien (<i>Barbus callensis</i>) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre Mars2015 et Janvier 2016	90
Figure .34.	Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) dans les tissus de la brème commune Algérien (<i>Abramis brama</i>) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre Mars et Octobre 2015	92
Figure .35.	Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-O-debenzyloxyase (BFCOD) dans les tissus du barbeau Algérien (<i>Barbus callensis</i>) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre Mars2015 et Janvier 2016	94
Figure .36	Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-O-debenzyloxyase (BFCOD) dans les tissus de la brème commune Algérien (<i>Abramis brama</i>) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre Mars et Octobre 2015	96
Figure .37	BNF-Eq dans les échantillons de sédiments recueillis dans lac du barrage de Beni Haroun entre Mars2015 et Janvier 2016	98

Liste des tableaux

Tableau 1.	Effet toxiques des quelques métaux lourds sur la santé humaine	09
Tableau. 2.	Différents polluants organiques persistants	13
Tableau.3.	les différents enzymes impliquées dans les réactions de biotransformation	24
Tableau.4.	Les principales espèces réactives de l'oxygène	33
Tableau 5	Les moyennes de température mensuelle pour (2007-2016)	46
Tableau 6.	Les Valeurs moyennes mensuelles des pluviométries (2007-2016)	47
Tableau.7.	valeurs (moyennes \pm SEM) des différents paramètres physicochimiques et des concentrations des métaux lourds des eaux du barrage Béni Haroun wilaya de Mila Algérie	65
Tableau.8.	valeurs (moyennes \pm SEM) des différents paramètres physico-chimiques et des concentrations des métaux lourds des sédiments du barrage Béni Haroun wilaya de Mila Algérie	66
Tableau.9	Poids, longueur, facteur de condition (CF) et indice hépatosomatique (HSI) des spécimens Barbel (<i>Barbus callensis</i>) utilisés dans cette étude	72
Tableau 10.	Données biométriques et physiologiques d' <i>Abramis brama</i> échantillonnées dans le barrage de Beni Haroun	85
Tableau 11	EROD activity in RTG2 cell lines induced by Sediment samples collected From Beni Harun dam lake.	87
Tableau .12.	valeurs (moyennes \pm SEM) des paramètres biométriques des u spécimens de l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> utilisée dans cette étude	102
Tableau .13.	comparaison des concentrations des métaux lourds dans les muscles des poissons obtenues dans cette étude avec les autres études et la valeurs limites	105
Tableau.14	Comparaison des concentrations des métaux obtenues dans le barrage de Beni Haroun avec les autres études et avec les valeurs guides	110

Liste des abréviations	I
Liste des figures	III
Liste des tableaux	VI
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
I. Pollution de l'eau	06
I.1. Métaux lourds	06
I.1.1. Définition	06
I.1.2. Sources des métaux lourds	07
I.1.3. Comportement des métaux lourds dans le milieu aquatique	07
I.1.4. Toxicité des métaux lourds	08
I.1.5. Métaux étudiés	09
a. Cadmium	10
b. plomb	11
c. Chrome	11
I.2. Polluants organiques persistants :	12
I.2.1. Définition	12
I.2.2. Différents types des polluants organiques persistants	12
I.2.3. Sources des Polluants organiques persistants	14
I.2.4. Comportement dans l'environnement	15
I.2.5. Toxicité des polluants organiques persistants	16
II. Surveillance de la qualité des milieux aquatiques.	16
II.1. Surveillance chimique	16
II.2. Surveillance biologique (Biomonitoring)	17
II.2.1. Bio indicateurs	18
II.2.1.1. Généralité	18
II.2.1.1.1. Utilisation des poissons pour la surveillance de la qualité de l'eau	19
II.2.1.2. Biomarqueurs	19
II.2.2.1. Généralités	19
II.2.2.2. Types des biomarqueurs	21
III. Métabolisme des xenobiotiques chez les poissons	22
III.1. Réactions de la phase 1	23
III.1.1. Système cytochrome P450	24
III.1.1.1. CYP1A	25
III.1.1.2. CYP3A	28
III.1.2. Carboxylesterase (CaE)	29
III.2. Réactions de phase II.	30
IV. Stress oxydant	31
IV.1. Sources des espèces réactives de l'oxygène	32
IV.1.1. Sources endogènes	32
IV.1.2. Sources exogènes	34
IV.2. Espèces réactives de l'oxygène et pollution :	35
IV.2.1. Génération des ROS par les éléments traces métalliques :	35
IV.2.2. Génération des ROS par les polluants organiques persistants	36
IV.3. Système antioxydant	38
IV.3.1. Système antioxydant non enzymatique	38
IV.3.2. Système antioxydant enzymatique :	40
a. Superoxyde dismutases (SOD)	40
b. Catalase	41
c. Glutathion peroxydase (GPOX)	41
d. Glutathion réductase	41

IV.4. Dommages oxydatifs.	42
V. Acétylcholinestérase (AChE)	43
VI- présentation du barrage Beni Haroun	44
VI.1.1. Situation géographique et intérêt socio-économique du barrage	44
VI.1.2. Hydrographie de la région d'étude	45
VI.1.3. Contexte géologique	45
VI.1.4. Climatologie	46
VI.1.5. Sources de pollutions	47
VI.1.5.1. Décharges publiques	47
VI.1.5.2. Eaux usées domestiques	48
VI.1.5.3. Eaux usées industrielles	48
VI.1.5.4. Agriculture	49
Matériel et méthodes	
I. Prélèvement des échantillons.	50
I.1. Station de prélèvement	50
I.2.. Prélèvement des eaux et sédiments	50
I.3. Prélèvement des poissons	51
I.3.1. Brème commune (<i>Abramis brama</i> Linnaeus, 1758)	51
I.3.2. Barbeau Algérien (<i>Barbus callensis</i> Valenciennes, 1842)	52
I.3.3. Carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i> , Linnaeus, 1758)	53
II. Préparation des échantillons	55
II.1. Eau	55
II.1. Sédiments	55
II.3. Poissons	55
III. Méthodes de mesure et d'analyse.	55
III.1. approche physico-chimique	56
III.1.2. Caractérisation physico-chimiques des eaux et des sédiments	55
III.1.2. Extraction et analyse des polluants organiques	56
III.1.3. Dosage des éléments trace métalliques (plomb, cadmium et chrome)	57
III. 2. Approche biologique.	57
III.2.1. Paramètres biologiques :	57
III.2.2. Biomarqueurs	58
III.2.2.1. Biomarqueurs dans l'espèce. <i>Cyprinus capio</i>	58
II.I2.2.1 .1. Préparation de la fraction cytosolique	58
a. Foie et branchies	58
b. Cerveau	58
III. 2.2.1.2. Détermination des activités enzymatiques	58
III.2.2.3. Biomarqueurs dans les espèces <i>Abramis brama</i> et <i>Barbus callensis</i>	60
III.2.2.3. 1. Préparation de la fraction microsomale :	60
III.2.2.3.2. Mesure des activités EROD et PFCOD	61
III.2.3. Bio-essai	62
III.2.3.1. Préparation des extraits des sédiments	62
III.2.3.2. Lignées cellulaires et conditions de culture cellulaire	62
III.2.3.3. Traitement des cellules et mesure des activités EROD et BFCOD.	62
IV. Analyses statistiques	63
Résultats	
I. Approche physico-chimique	65
I.1. Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux et des sédiments du barrage e.	65
I.1.1. Paramétrés physico-chimiques	65
I.1.3. Polluants organiques persistans(POPs)	67
II.3. Métaux lourds.	68

I.1.3.1. Métaux lourds dans les eaux	68
I.1.3.2. Métaux lourds dans les sédiments	68
I.1.2.3. Métaux lourds dans les poissons	69
II. Approche biologique	71
II.1. Utilisation d'une batterie des biomarqueurs chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds	71
II. 1.1. Paramètres biométriques	71
II.1.3. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)	72
II.1.4. Acétylcholinestérase (AChE)	73
II.1. 5. Carboxyle estérase (CaE)	75
II.1.6. Stress oxydatif	77
II .1.6.1. Catalase (CAT)	77
II. 1.6.2. Glutathion- S- transférase (GST)	77
II. 1.6.3. Glutathion réductase (GR)	80
II. 1.6.4. Glutathion (GSH)	80
II. 1.6.5. MDA	83
II.3. Utilisation de l'induction <i>in vivo</i> chez les espèces (<i>Abramis brama</i> et <i>Barbus callensis</i>) et <i>in vitro</i> dans les lignées cellulaires (RTG2 et PLHC1) des activités de détoxification du système P450 (CYP1A et d CYP3A) pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les polluants organiques persistants (POPS)	85
III. 3.1. Paramètre de l'eau	85
III. 3.2 Paramètres biométriques	85
III. 3.2.1. Paramètres biométriques de l'espèce <i>Barbus callensis</i>	85
III 3.2.2. Paramètres biométriques de l'espèce <i>Ab ramis brama</i>	87
III.3.3. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)	88
III.3.3.1. Activité EROD chez l'espèce <i>Barbus callensis</i>	88
III.3.3.1. Activité EROD chez l'espèce <i>Abramis brama</i>	89
III.3.4. Activité Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-O-debenzyloxyase (BFCOD)	93
III.3.4.1. Activité EROD chez l'espèce <i>Barbus callensis</i>	93
III.3.4.2. Activité BFCOD chez l'espèce <i>Abramis brama</i>	95
III.3.5 BNF-Eq dans les échantillons de sédiments	97
III.3.6. BKF équivalents dans les échantillons de sédiments.	99
Discussions	
I. Approche physico-chimique	100
I.1. Polluants organiques persistants	100
I.2. Métaux lourds	100
I.2.1. Métaux lourds dans les eaux et les sédiments	100
I.2.1. Métaux lourds dans les poissons	103
II. Approche Biologique	107
II.1. Utilisation d'une batterie des biomarqueurs chez l'espèce <i>Cyprinus carpio</i> pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds	107
II. 1.1. EROD	107
II. 1.3. Acétylcholinestérase (AChE)	109
II. 4.4. Carboxyle estérase (CaE)	110
II. 4.5. Stress oxydatif	111
II.2. Utilisation de l'induction <i>in vivo</i> chez les espèces <i>Abramis brama</i> et <i>Barbus callensis</i> et <i>in vitro</i> dans lignées cellulaires (RTG2 et PLHC1) des activités de détoxification du système P450 (CYP1A et d CYP3A) pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les polluants organiques persistants (POPs)	116
Conclusion	126
Références bibliographiques	129

Introduction

L'eau est indispensable à la vie humaine, à la sécurité alimentaire et à la nutrition, elle est l'élément vital des écosystèmes (**Melghit et al., 2015 ; HLPE, 2015**).

L'eau recouvre 72% de la surface terrestre et représente une réserve totale de 1350 milliard de km³ dans la biosphère (**Genin et al., 2003**). Toutefois seulement 3% du stock total de l'eau sur la planète est douce. 75% de cette eau douce est bloquée dans les calottes de glace polaires dans les pôles nord et sud et 1/3 dans les nappes souterraines est inaccessible. Il ne reste que 0.3 % de l'eau douce (soit 0.01% de l'eau planétaire) sous forme de fleuves, de lacs et de réservoirs est disponible pour l'utilisation par les êtres vivants (**Ramade, 1998 ; Hinrichsen et Tacio, 2002**). Malheureusement cette même petite proportion de l'eau accessible est inégalement répartie dans le temps et dans l'espace (**UNESCO, 2017**) et une grande partie est menacée par la croissance démographique rapide, par l'urbanisation et par la forte demande des secteurs agricole et industriel (**Azizullah et al., 2011; Mancosu et al., 2015**), mais aussi par les changements climatiques et par la pollution par les différentes substances chimiques toxiques (**Barceló et Sabater, 2010; Petrovic et al., 2011; Arenas-Sánchez et al., 2016**).

Selon les dernières estimations de l'OMS et de l'UNICEF en 2017 «Sur les 7.5 milliards d'habitants que compte la population mondiale 60%, soit 4,5 milliards, ne disposent pas de services d'assainissement gérés en toute sécurité et 2,1 milliards de personnes, soit 30% de la population mondiale, n'ont toujours pas accès à des services d'alimentation domestique en eau potable. Sur les 2,1 milliards de personnes qui n'ont pas accès à l'eau gérée en toute sécurité, 844 millions ne bénéficient même pas d'un service élémentaire d'approvisionnement en eau potable. Parmi ces personnes, 263 millions vivent à plus de 30 minutes du premier point d'eau et 159 millions continuent à boire de l'eau de surface non traitée puisée dans des cours d'eau ou dans des lacs» (**OMS 2017^a**). Selon un autre rapport de l'OMS «8 42000 habitant meurt chaque année suite aux problèmes de l'insalubrité et de pollution de l'eau» (**OMS, 2017^b**)

Dans de nombreux pays en voie de développement, la pénurie d'eau est l'enjeu le plus inquiétant du développement socio-économique et humain au sens large (**UNESCO, 2017**). Les changements climatiques, en particulier dans les régions arides et semi-arides, en Afrique, au Moyen-Orient et en Asie du Sud , qui sont déjà en situation de stress hydrique, le manque de la gestion adéquate, l'indisponibilité des professionnels et les contraintes financières peuvent aggraver cette pénurie (**Azizullah et al., 2011**).

Comme les autres pays en voie de développement, l'Algérie, pays semi-aride, voire même aride (200 à 400 mm), souffre de problème de la rareté de l'eau (**Sutton et Zaimeche, 1992; Kadi, 1997; Zaid-Chertouk, 2011; Nadir et Boualem, 2016**). Les ressources en eau sont limitées irrégulières et très inégalement réparties. A l'exception des eaux fossiles du Sahara, les ressources hydrauliques naturelles sont essentiellement situées dans le Nord du pays (**Benblidia et Thivet, 2010; Hannachi et al., 2014**). La situation est aggravée par la sécheresse qui s'est accrue ces dernières années (**Sattar et Demmak, 2014**). De plus, tandis que les ressources en eau diminuent redoutablement, la demande d'eau par la population (estimée d'environ 40 millions habitants en 2017), l'industrie et surtout l'agriculture augmente rapidement, aggravant ainsi le problème (**Sutton et Zaimeche, 1992**). À vrai dire, cette demande a été multipliée par 4 au cours des quarante dernières années, elle dépasse actuellement plus de la moitié du volume des ressources potentiellement mobilisables. A ce rythme, la limite maximale du potentiel hydraulique sera atteinte avant 2050 (**Benblidia et Thivet, 2010 ; Hannachi et al., 2014**). Face à ce défi, une politique active de mobilisation des ressources en eau par la construction des barrages a été mise en œuvre par l'état Algérien.

Parmi les grands projets réalisés, le barrage de Beni Haroun, est d'une grande importance nationale. Aussi, par sa capacité (963 hm³) et son impact régional, il constitue actuellement le plus puissant aménagement hydraulique réalisé à travers le pays. En plus de son utilisation pour alimenter plus de quatre millions habitant réparties sur 6 wilayas de l'Est Algérien (Mila, Constantine, Oum Elbouaghi, Jijel, Batna et Khenchela) et l'irrigation de grandes surfaces des terres agricoles, le barrage de Beni Haroun est considéré comme une source importante des poissons d'eaux douces (**ANBT, 2014**). Malgré son importance pour pallier le déficit observé dans les ressources en eau, Beni Haroun est devenu un exutoire des différents rejets des activités industrielles, agricoles et municipales, qui mènent à sa contamination par les différents polluants chimiques qui se sont accumulés dans les eaux et les sédiments. Entre autres, les polluants organiques persistants (POPs) et les métaux lourds et leurs dérivés, souvent solubles dans la colonne d'eau ou liés aux particules des sédiments peuvent s'accumuler dans les organismes vivants aquatiques à des concentrations élevées (**Doong et al., 2008; Chen et al., 2015; Li et Qian, 2016; Koltowski et al., 2017**). Ils sont toxiques et peuvent menacer la vie aquatique depuis les producteurs primaires jusqu'au sommet de la chaîne alimentaire (**Monjerezi, 2012**). La présence de ces derniers dans le barrage peut donc présenter un danger potentiel pour la population consommatrice des eaux et des poissons du barrage. Ainsi il est primordial de surveiller la qualité des eaux et des sédiments du barrage.

L'évaluation de la qualité des milieux aquatiques peut s'effectuer par la mesure des concentrations des polluants dans les eaux et les sédiments en utilisant des techniques d'analyse physico-chimiques. Bien que ces analyses fournissent des informations précieuses sur la qualité des milieux aquatiques et les niveaux de polluants chimiques, elle restent néanmoins insuffisantes pour évaluer la qualité environnementale des écosystèmes aquatiques (**Van der Oost et al., 1996; Cajaraville et al., 2000; Van der Oost et al., 2003**), car ces techniques ne permettent pas de suivre le nombre des innombrables polluants présents dans les milieux aquatiques (**van der Oost et al., 2003**). En outre, les concentrations de ces substances se situent généralement en dessous de la limite de détection des méthodes analytiques (**Wan et al., 2015**) et les analyses chimiques ne peuvent pas refléter les interactions complexes entre les différents produits chimiques qui conduisent à des effets additifs, synergiques et/ou antagonistes (**Valdehita et al., 2016**). Pour éviter toutes ces questions, les biomarqueurs sont apparus au cours des dernières années comme un outil primordiale pour évaluer la qualité de l'environnement (**Ozmen et al., 2008; Güngördü et Ozmen, 2011; Quesada-García et al., 2013; Quesada-García et al., 2015**). L'un des principaux avantages des biomarqueurs est qu'ils peuvent, s'ils sont utilisés correctement, fournir un signal d'alarme précoce de la toxicité sublétales des contaminants dans les différents compartiments de l'environnement (**Mierzejewski et al., 2014; Turja et al., 2014**). Ainsi, l'utilisation intégrée des analyses chimiques, et des biomarqueurs est la meilleure façon d'évaluer l'état sanitaire des milieux aquatiques (**Van der Oost et al., 1996; Cajaraville et al., 2000; Van der Oost et al., 2003, De la Torre et al., 2007; Bozcaarmutlu et al., 2009; Asker et al., 2016; Louiz et al., 2016; Saleh et Marie, 2016**).

Certaines activités enzymatiques dans le foie et les branchies sont considérées comme des bons biomarqueurs qui peuvent fournir de précieuses données concernant les effets toxiques des polluants sur les organismes aquatiques. Cependant ces enzymes sont influencées par les changements saisonniers (**Ozmen et al., 2006; Güngördü et Ozmen, 2011**). Entre autres, le système cytochrome P450 (CYP) (CYP1A et CYP3A) constitue une superfamille d'hémoprotéines structurellement et fonctionnellement liées qui jouent un rôle important dans la biotransformation des xénobiotiques (**Popovic et al. 2012**). L'augmentation et /ou la diminution de l'expression de ces enzymes au niveau transcriptionnel, au niveau des protéines et le changement de leurs activités enzymatiques ont été reconnues comme biomarqueurs sensibles pour surveiller la qualité de l'environnement aquatique (**Regoli et al., 2011a; Barhomi et al., 2012; Quesada-García et al., 2015; Yilmaz et al., 2016; Zhang et al., 2017**). CYP1A est généralement évaluée par la mesure des ethoxyresorufin-O-deéthylases

(EROD) (Whyte et al., 2000; Chiang et al., 2012; Kammann et al., 2014; Wunderlich et al., 2015) quant au CYP3A, elle est souvent évaluée par la mesure des benzyloxy-4 [trifluorométhyl]-coumarin-Odebenzyloxyases (BFCOD) (Hasselberg et al., 2005; Della Torre et al., 2010; Quesada-García et al., 2013; Creusot et al., 2015; Quesada-García et al., 2015). Les activités de l'acétylcholinestérase (AChE) et des carboxylestérases (CaE) ont aussi prouvé leurs utilités dans l'évaluation de la contamination des écosystèmes aquatiques (Bodin et al., 2004; Stefano et al., 2008; Sáenz et al., 2010; Güngördü et Ozmen, 2011; Koenig et Solé, 2012; Al-Ghais, 2013; Yildirim et al., 2014; Natalotto et al., 2015; Yoluglu et Ozmen, 2015; Solé et al., 2016).

De nombreux contaminants environnementaux et/ou leurs métabolites ont été reconnus par leurs effets toxiques liés au stress oxydatif (Van der Oost et al., 1996). Pour se défendre contre ces effets toxiques, les organismes aquatiques sont dotés d'un système antioxydant enzymatique (composé essentiellement de la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR) et la glutathion-S transférase (GST)) et non enzymatique (représenté par le glutathion réduit (GSH)) qui joue un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres oxygénés (ROS) générés par les polluants (Sureda et al., 2011; Javed et al., 2016a). Lorsque le taux de génération des radicaux libres oxygénés dépasse le rythme des activités antioxydantes, les ROS se trouvent libres et vont donc attaquer les macromolécules notamment les lipides contenant les acides gras polyinsaturés en conduisant à leur oxydation (peroxydation lipidique) (Nogueira et al., 2011). Les mesures des activités anti oxydantes enzymatiques (catalase (CAT), glutathion réductase (GR) et glutathion S transférase (GST)), non enzymatiques (GSH) et de la peroxydation lipidique estimée par le taux du malondialdéhyde (MDA) sont largement utilisées pour évaluer la qualité de l'environnement aquatique (Almroth et al., 2005; Dautremepuits, et al., 2009; Nahrgang et al., 2013; De la Casa-Resino et al., 2014; Colin et al., 2015; Natalotto et al., 2015; Javed et al., 2016b; Cortes-Diaz et al., 2017).

Parmi les organismes aquatiques, les poissons présentent plusieurs caractéristiques qui en font des candidats idéaux pour être utilisés comme espèces sentinelles de la pollution (Maceda-Veiga et al., 2010; Copat et al., 2012; Arockia Vasanthi et al., 2013; Parente et Hauser-davis, 2014; Kostić et al., 2017). Ils sont assez grands pour permettre d'effectuer des observations macroscopiques ou pour obtenir des tissus en quantité suffisantes pour les analyses. Ils ont un grand spectre alimentaire et accumulent les polluants présents dans l'eau et les sédiments. En plus de leur mode de vie sédentaire. Ils peuvent aussi être trouvés pratiquement partout dans les milieux aquatiques et jouent un rôle écologique majeur dans les réseaux alimentaires aquatiques en raison de leur fonction comme transporteurs de l'énergie,

des niveaux trophiques inférieurs aux niveaux supérieurs (**van der Oost et al., 2003; Ben Ameer et al., 2012; Güngördü et al., 2012; Arockia Vasanthi et al., 2013**).

L'induction de certains biomarqueurs par certains polluants présents dans un échantillon environnemental complexe peut également être évaluée au laboratoire en exposant les lignées cellulaires aux différentes concentrations des extraits de cet échantillon. D'un point de vue écotoxicologique, les lignées de cellules des poissons apparaissent particulièrement adéquates à cet effet et ont été déjà utilisées dans plusieurs études (**Boronat et al., 2009; Quesada-García et al., 2015**), car leurs structures (par exemple, la membrane plasmique), les voies métaboliques, les récepteurs ou les enzymes fonctionnent de la même façon que l'organisme entier.

L'objectif principal de cette thèse est d'évaluer la qualité du lac du barrage de Beni Haroun en appliquant une démarche basée sur deux approches, l'approche chimique et l'approche biologique. Il s'agit de l'utilisation intégrée des techniques d'analyse physico-chimiques, des biomarqueurs et des biosessais. Notre travail est essentiellement basé sur la mesure des métaux lourds et des polluants organiques persistants (POPs) dans les eaux, les sédiments et dans les tissus des poissons d'une part et sur l'utilisation des indices biologiques (biométrie) et une batterie des marqueurs biochimiques enzymatiques et non enzymatique dans des espèces de poissons appartenant à la famille des cyprinidés d'autre part. Le choix est porté sur les espèces *Cyprinus Carpio*, *Barbus Callensis* et *Abramis brama* comme espèces sentinelles puisqu'elles répondent à plusieurs critères de sélection, elles sont abondantes, faciles à échantillonner, présentes sur toute l'année, suffisamment grosses, robustes et tolérantes vis-à-vis de la majorité des contaminants. Pour compléter le présent travail, il s'est avéré indispensable d'appliquer la technique des bio-essais qui porte sur le test des extraits des sédiments sur les lignées cellulaires des poissons (PLHC1 et RTG2).

Synthèse bibliographique

I. Pollution de l'eau

L'eau est considérée comme l'un des plus importants et des plus précieux composants de notre planète. Elle a été désignée comme élixir de la vie. C'est l'un des besoins essentiels de la vie (**Curtis, 2014**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) 1,1 milliard de personnes n'ont pas accès à l'eau potable (**WHO et UNICEF, 2006**). Plus de 100000 composés chimiques sont produits par l'industrie chimique et rejetés dans l'environnement par les activités industrielles, agricoles et urbaines durant ces dernières années. Un nombre important de ces substances peut atteindre les ressources en eau dont beaucoup entre elles constituent une grande menace pour la sécurité et l'approvisionnement en eau potable (**Frontmatter et Manahan, 2000; Curtis, 2014; Nikinma, 2014**). Entre autres, les micropolluants organiques persistant (POPs) et les métaux lourds sont persistants et peuvent engendrer des troubles comportementaux, physiopathologiques, de fécondité, congénitaux, des mutations et des effets cancérigènes. Ils peuvent par conséquent menacer la vie aquatique depuis les producteurs primaires, le danger de contamination s'amplifie au fur et à mesure que l'on monte à travers les maillons des chaînes trophiques (**Monjerezi, 2012**).

I.1.Métaux lourds

1.1.1. Définition

L'appellation métaux lourds est attribuée aux éléments métalliques ayant une densité supérieure à 5 g/cm³ et présentent un caractère toxique à des faibles concentrations (**Adriano, 2001 ; Cossio et al., 2002; Bánfalvi, 2011**). Bien qu'elle soit relativement claire et non ambiguë, cette définition peut être une source de confusion, car certains métaux ne sont pas particulièrement lourds comme le zinc, tandis que certains éléments toxiques ne sont pas des métaux comme l'arsenic (**Gérard, 2001 ; Cossio et al., 2002**). Parmi les principales caractéristiques communes entre tous les métaux lourds est leur non biodégradabilité dans l'environnement et leur bioaccumulation (**Zhuang et al., 2016; Xu et al., 2017**). Certains métaux, les oligoéléments essentiels, comme le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le chrome (Cr), nickel (Ni), le cobalt (Co), le molybdène (Mo) et le fer (Fe), sont indispensables à la vie et peuvent être toxiques à des très faibles ou des très fortes concentrations. D'autres comme l'aluminium (Al), l'Arsenic (As), le cadmium (Cd), le mercure (Hg), l'étain (Sn) et le plomb (Pb) (également appelés xénobiotiques) n'ont aucun rôle biologique et sont considérés comme néfastes et peuvent entraîner des effets toxiques à des très faibles concentrations (**Arockia Vasanthi et al., 2014 ; Sfakianakis et al., 2015**).

1.1.2. Sources des métaux lourds

Bien que la présence des métaux lourds dans les milieux aquatiques puisse être d'origine naturelle, l'activité anthropique reste la principale source de ces derniers (**Li et al., 2006; Mackintosh et al., 2016**). Les plus importantes sources naturelles des métaux lourds sont; l'altération des minéraux, l'érosion et l'activité volcanique (**Demirak et al., 2006; Dixit et al., 2015**). Tandis que les sources anthropiques dépendent des activités humaines telles que les activités industrielles (centrales électriques, combustion du charbon, industrie métallurgique, ateliers de réparation des automobiles, usines chimiques, batteries, industries pharmaceutiques et galvanoplastie etc.), le trafic routier (particules d'échappement des véhicules, particules d'usure des pneus, particules de surface de la chaussée endommagée et particules d'usure des garnitures des freins), l'émission domestique et l'activité agricole (utilisation des pesticides, des fertilisants et des biosolides (ex. les boues d'épuration municipales)) (**Wei et Yang, 2010; Tchounwou et al., 2012; Varol et Şen, 2012**).

1.1.3. Comportement des métaux lourds dans le milieu aquatique

Une fois arrivés dans le milieu aquatique, les métaux lourds se répartissent entre plusieurs phases. Ils se trouvent généralement sous forme d'ions dissous, de complexes dissous, de colloïdes et/ou fixés sur les sédiments (**Figure.1**) (**Özmen et al., 2004; Hou et al., 2013**). D'une manière générale, les métaux lourds ont une tendance à s'accumuler dans les sédiments ce qui conduit à une diminution de leur concentration dans l'eau. En fait, ces derniers peuvent se comporter comme une source ou comme un puits pour les métaux traces et ont été reconnus comme un indicateur efficace de la contamination des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds (**Kelderman et Osman, 2007 ; Suthar et al., 2009; Bing et al., 2016**). Par ailleurs, sous la dépendance des paramètres du milieu (pH, concentration en oxygène dissous, potentiel d'oxydoréduction, activité biologique, capacité d'échange cationique), les métaux lourds fixés par les sédiments peuvent être remobilisés et leur concentration peut augmenter dans l'eau (**Davutluoglu et al., 2010**).

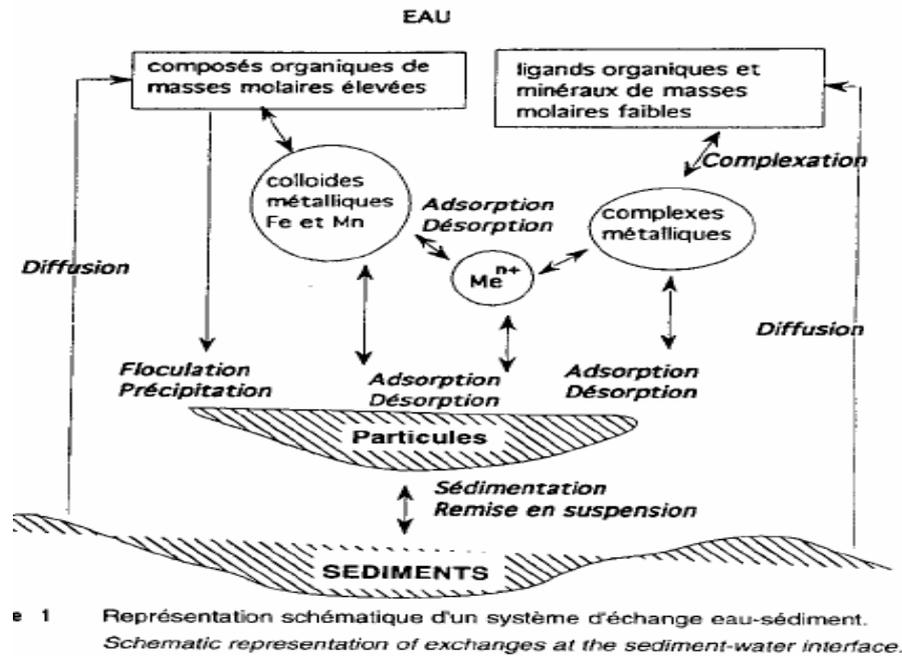


Figure 1. Comportement des métaux lourds dans l'écosystème aquatique (Serpaud et al., 1994).

I.1.4. Toxicité des métaux lourds

Plusieurs auteurs (Rainbow, 1995; Bánfalvi, 2011; Saïdi et al., 2013 ; Sharaf et Shehata, 2015 ; Bing et al., 2016 ; Xu et al., 2017) ont rapporté que la persistance et l'accumulation des métaux lourds dans l'environnement sont à l'origine de leurs effets toxiques inquiétants sur la santé des écosystèmes et leurs populations y compris l'homme.

Le mécanisme de la toxicité des métaux lourds est différent de celui des autres xénobiotiques. En effet, les métaux lourds peuvent causer des dommages considérables aux organismes vivants grâce à leur interaction avec les sites importants des protéines et de systèmes enzymatiques tels que les groupes SH. Ils peuvent également entrer en concurrence avec d'autres métaux essentiels comme les cofacteurs des enzymes régulatrices de nombreuses réactions chimiques et peuvent les empêcher de ce fait de fonctionner normalement et d'assurer leur rôle métabolique (Cossio et al., 2002; Breu et al., 2008; Abouhend et El-moselhy; 2015, Sharaf et Shehata, 2015). D'autre part, ils sont responsables de la production des radicaux libres oxygénés qui peuvent affecter divers processus cellulaires, principalement le fonctionnement du système membranaire (Radwan et al., 2010).

L'homme peut être exposé aux métaux lourds (par inhalation, par contact cutané ou par ingestion) dans les lieux de travail, ou grâce à la consommation de l'eau ou des aliments contaminés par les métaux lourds (Breu et al., 2008; Singh et al., 2011). Les effets toxiques des métaux sur l'homme sont récapitulés dans le **tableau 1**.

Tableau 1. Effets toxiques de quelques métaux lourds sur la santé humaine (**Singh et al., 2011 ; Dixit et al., 2015**)

Le polluant	Effet sur la santé humaine	Concentrations admissible (mg/L)
Arsenic	Affecte les processus cellulaires essentiels comme la phosphorylation et la synthèse de l'ATP, il peut provoquer aussi la bronchite, la dermatite et l'insuffisance rénale.	0.02
Cadmium	Le cadmium est connu par son pouvoir cancérigène, mutagène et perturbateur endocrinien. Il est aussi responsable du dysfonction rénale, des maladies pulmonaires, du cancer du poumon, des défauts osseux (Ostéomalacie et Ostéoporose), de l'augmentation de la tension artérielle, des lésions rénales, de la bronchite, des troubles gastro-intestinaux et des troubles de moelle osseuse.	0.006
Plomb	Il est à l'origine de plusieurs maladies telles que, le retard mental chez l'enfant, le retard du développement, l'encéphalopathie fatale du nourrisson, la paralysie congénitale, la surdité neurale du capteur. Il peut également engendrer des dommages aigus ou chroniques du système nerveux, d'épilepsie, des effets toxiques sur le foie et les reins et des dommages gastro-intestinaux.	0.01
Manganèse	L'inhalation ou le contact cutané provoquent des dommages pour le système nerveux central.	0.26
Mercuré	Il peut être à l'origine des maladies auto-immunes, de dépression, de somnolence, de fatigue, de perte des cheveux, d'insomnie, de perte de la mémoire, d'agitation, des troubles de la vision, des tremblements, des crises d'humeur, des lésions cérébrales, d'insuffisance pulmonaire et rénale et d'avortement spontané.	0.01
Zinc	Les fumées de zinc ont un effet corrosif sur la peau et causent des dommages à la membrane nerveuse.	15
Chrome	Perte des cheveux, dommages au système nerveux, fatigue, irritabilité.	0.05
Cuivre	Des dommages au cerveau et aux reins, des niveaux élevés entraînent une cirrhose du foie, une anémie chronique, des effets sur l'estomac et une irritation intestinale.	0.1

I.1.5. Métaux étudiés

a. Cadmium

Le cadmium est généralement présent dans l'environnement à des faibles concentrations, cependant ses niveaux dans les écosystèmes ne cessent pas d'augmenter au cours de ces dernières années (**OMS, 2017^c**). Actuellement, l'émission anthropologique annuelle du cadmium dans l' cosph re est estimée à environ 30000t (**Ben Youssef et al., 2005**). Sa présence dans l'environnement est due aux différentes activités humaines (**Das et Mukherjee, 2013; Cherif et al., 2015**). Il est utilisé dans beaucoup d'industries, principalement dans la fabrication des batteries, des piles, des pigments, des agents de polymérisation ou de stabilisation des matières plastiques et dans les traitements des surfaces des métaux (**Benamar et al., 2010**). Par ailleurs, l'utilisation des combustibles fossiles, le

lessivage des décharges et l'épandage des engrais phosphatés contribuent à la contamination de l'environnement par cet élément (**Andujar et al., 2010; McGeer et al., 2011**).

Le cadmium est un métal potentiellement toxique pour les organismes aquatiques et l'homme et n'a aucun rôle biologique (**Messaoudi et al., 2009; Das et Mukherjee, 2013; Souid et al., 2013**). Biochimiquement, le cadmium peut entraîner une modification des activités enzymatiques et dans les mécanismes de transport membranaire (**Messaoudi et al., 2009**). Il est aussi responsable de la génération des espèces réactives de l'oxygène et du stress oxydatif (**Legeay et al., 2005; Tchounwou et al., 2012**). Le cadmium peut également affecter le métabolisme des glucides chez les vertébrés et peut entraîner une hyperglycémie et réduire la tolérance au glucose chez les mammifères (**Sastry et Subhadra, 1982**).

Dans les écosystèmes aquatiques, le cadmium peut menacer la vie et la croissance des organismes aquatiques. Il peut en effet inhiber la bioluminescence des bactéries, limiter l'activité des daphnies et causer leur mort. Il peut aussi induire un stress oxydatif chez les poissons (**Qu et al., 2013; Bjerregaard et al., 2014**).

Chez l'homme, une exposition de courte durée à des fortes concentrations des poussières ou des fumées des composés du cadmium est responsable des vomissements souvent sanglants associés à des douleurs abdominales intenses, des diarrhées et des myalgies, de la fièvre des métaux et de la pneumopathie chimique aiguë (**Andujar et al., 2010; McGeer et al., 2011**). L'exposition chronique au cadmium peut être à l'origine de l'ostéoporose et de l'anémie (**Basha et Rani, 2003**). Il est classé comme cancérigène et responsable des atteintes rénales, d'hypertension artérielle et des atteintes testiculaires (**Andujar et al., 2010**).

b. Plomb

Le plomb (Pb) est un métal de classe B, post-transition (numéro atomique 82). Il existe principalement dans son état oxydant divalent. On le trouve principalement dans des minerais comme la galène et les sulfures de plomb (Pb) (**Mager, 2011**). Il est présent en petites quantités dans la croûte terrestre avec une concentration moyenne d'environ 13mg/kg (**Bjerregaard et al., 2014**). C'est l'un des métaux prioritairement toxique, il n'est pas biodégradable et peut s'accumuler dans les chaînes alimentaires. Sa présence dans l'environnement peut être d'origine naturelle ou anthropique (**Bektaş et al., 2004**). En effet, le plomb peut être issu de l'industrie métallurgique (**Stouthart et al., 1994**). Il provient également de la galvanoplastie, de la fabrication des batteries, des industries des pigments et des colorants, de l'emploi du plomb tétraméthyle dans les carburants et de l'utilisation des combustibles fossiles (**Subhashini et al, 2013 ; Ravindra Kumar Gautam, 2014**).

Les effets toxiques du plomb sur la cellule sont attribués à sa capacité de produire les espèces réactives d'oxygène responsables d'un stress oxydatif et à son affinité pour le groupe sulfhydryle dans le glutathion réduit, ce qui peut avoir des implications pour le maintien de l'équilibre des thiol-disulfures dans la cellule, mais aussi à son pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase et de la synthèse d'hémoglobine (Landis, 2005; Massó et al., 2007; Reddy et al., 2007; Dragun et al., 2012; Tchounwou et al., 2012).

À fortes concentrations, le plomb peut affecter la respiration et le pouvoir natatoire chez les poissons et peut même entraîner leur mort (Farrell et al., 2012). Chez l'homme, l'inhalation ou l'absorption du Pb à des fortes concentrations dans des situations accidentelles peut entraîner des troubles digestifs, des maux de tête, des lésions tubulaires, des atteintes hépatiques, des atteintes cardio-vasculaires et des lésions au niveau du système nerveux central se manifestant cliniquement par une encéphalopathie convulsive et un coma pouvant conduire à la mort (Belliles 1994 ; Rhainds et al., 1995 ; Ravindra, 2014).

L'exposition prolongée à des faibles concentrations du plomb peut être à l'origine d'une anémie chez les poissons et peut aussi affecter leur reproduction et leur croissance (Mager, 2011). Chez l'homme, l'exposition chronique au plomb peut affecter le système nerveux en entraînant un retard mental, une perturbation dans le comportement et des maladies neurodégénératives (Mahaffey, 1990; Örnek et al., 2007 ; Eid et Zawia, 2016). Le plomb peut engendrer aussi une diminution de la fertilité, une mortalité chez les fœtus, des avortements spontanés, des atteintes cardiovasculaires, une anémie et peut présenter des pouvoirs mutagènes et cancérigènes (Todd et al., 1996; Millstone, 1997; Örnek et al., 2007; Mager, 2011).

c. Chrome

A l'inverse du plomb et du cadmium, le chrome est un oligoélément essentiel (Palaniappan et Karthikeyan, 2009). Il est relativement abondant dans les écosystèmes aquatiques et terrestres et sa concentration moyenne dans la croûte terrestre est d'environ 100mg/kg (Soudani et al., 2010; Sundaramoorthy et al., 2010). Le chrome peut se rencontrer dans l'environnement aquatique sous deux états d'oxydation stables ; Cr (III) et Cr (VI) (Stouthart et al., 1995). Le chrome trivalent [Cr (III)] est un oligoélément essentiel pour les cellules et est utilisé dans nombreux compléments alimentaires. Par contre, le chrome sous sa forme hexavalente [Cr (VI)] est toxique et considéré comme un polluant environnementale (Sahu et al., 2014). Le chrome se rencontre en petites quantités à l'état naturel dans tous les types des roches et des sols sous forme de Cr (III) solide et relativement inerte et il est entraîné dans le milieu aquatique en quantités limitées par l'altération et l'érosion de ces

matières (**Losi et al., 1994**). Les ateliers de galvanoplastie, les tanneries, les usines de textile, la fabrication d'alliages et d'agents oxydants, les inhibiteurs de la corrosion, la fumée de cigarette, les émissions automobiles, les produits de conservation du bois, les déchets dangereux et la production d'acier sont les principales sources anthropiques du chrome (**Palaniappan et Karthikeyan, 2009; Sundaramoorthy et al., 2010; Sahu et al., 2014**).

La toxicité des composés du chrome dépend principalement de leur valence et de leurs propriétés physico-chimiques, le chrome hexavalent est généralement plus toxique que le chrome trivalent (**Soudani et al., 2010; Uddin et al., 2015**). L'exposition à des fortes concentrations du chrome peut déclencher des troubles gastro-intestinaux, une diathèse hémorragique et des convulsions et peuvent même conduire jusqu'à la mort après un choc cardiovasculaire (**WHO, 2004**). La toxicité chronique du chrome se manifeste généralement par un stress oxydatif, une apoptose, une nécrose, une cancérogénicité, une mutagenèse ou par une génotoxicité des organes vitaux de l'organisme tels que les poumons, le foie et les reins. (**Sahu et al., 2014; Dima et al., 2015; Hernandez-Ruiz et al., 2016**).

I.2. Polluants organiques persistants (POPs)

I.2.1. Définition

Les polluants organiques persistants (POPs) sont des composés organiques de synthèse qui persistent dans l'environnement, s'accumulent dans la chaîne alimentaire et présentent un risque pour la santé humaine et celle de l'environnement (**Harrad, 2009; Deribe et al., 2011; Estellano et al., 2017**)

D'après la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POPs) (**PNUE, Genève 2001**), les polluants organiques persistants en abrégé (POPs) sont des substances chimiques organiques à base de carbone et d'hydrogène qui possèdent des propriétés toxiques, résistent à la dégradation, s'accumulent dans les organismes vivants et sont dispersés par l'air, par l'eau et par les espèces migratrices au delà des frontières internationales et déposés loin de leur site d'émission, où ils s'accumulent dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (**Harrad, 2009; Arslan-Alaton et Olmez-Hanci, 2013; Stockholm convention, 2015**).

I.2.2. Différents types des polluants organiques persistants

Selon le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE), plus de 300 produits chimiques possédant des propriétés qui leurs permettent d'être classés comme des POPs. Ces derniers sont soumis à des interdictions ou à un contrôle dans un ou plusieurs pays dans le monde (**Eduljee, 2001; O'Sullivan et Megson, 2014**). Ils s'agit des pesticides tels

que le DDT, le mirex, l'aldrine et le lindane et des produits chimiques industriels ou des sous-produits tels que les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs), les biphényles polychlorés (PCBs), les dibenzo-phoxines polychlorées (PCDDs), les dibenzofurannes polychlorés (PCDFs) et les retardateurs de flamme bromés (PBDEs) (**Berntssen et al., 2012; Mortimer , 2013) (Tableau.2).**

Tableau 2. Différents polluants organiques persistants (**O’Sullivan et Megson, 2014).**

Classe de composé	Utilisation	Date d’interdiction
Aldrin	synthétisé en 1940 et utilisé comme insecticide en 1948.	1970 : Le département de l'agriculture des États-Unis a interdit toutes les utilisations 1971 : L'EPA instaure des procédures d'annulation. 1972 : La loi fédérale sur les insecticides, les fongicides et les rodenticides interdit son utilisation dans toutes les applications sauf trois. Le dernier (contrôle des termites) a été volontairement annulé en 1987.
Chlordane	synthétisé en 1940, décrit comme insecticide en 1945 et synthétisé commercialement en 1947.	1978 : L'EPA lance des procédures d'annulation. 1988 : Toutes les utilisations sont interdites aux États-Unis.
DDT	Synthétisé la première fois en 1874 et décrit comme un insecticide en 1939. La Première synthèse commerciale était en 1945.	1973 : Toutes les utilisations sont interdites aux États-Unis.
Dieldrin	synthétisé en 1940 et utilisé comme insecticide en 1948.	1970 : Le département de l'agriculture des États-Unis a annulé toutes les utilisations. 1971 : L'EPA instaure des procédures d'annulation. 1972 : La Loi fédérale sur les insecticides, les fongicides et les rodenticides interdit l'utilisation dans toutes les applications sauf trois. Le dernier (contrôle des termites) a été annulé en 1989.
Endrin	Développé pour la fabrication en 1950 et utilisé la première fois comme insecticide en 1951.	1986 : La plupart des utilisations ont été volontairement annulées par les fabricants. 1991 : Dernière inscription comme pesticide est volontairement annulé aux États-Unis.
Heptachlore	Première isolation en 1946. Première synthèse commerciale en 1952	1974 : L'EPA lance des procédures d'annulation. 1988 : Toutes les utilisations sont interdites aux États-Unis.
HCB	Utilisé pour la première fois comme pesticide en 1945.	1984 : Dernier enregistrement en tant que pesticide est volontairement annulé aux États-Unis (Bien qu'il soit encore généré par inadvertance en tant que sous-produit et / ou impureté dans plusieurs procédés chimiques).
Mirex	Synthétisé pour la première fois en 1946 et utilisé comme pesticide en 1955 (en 1959 aux États-Unis).	1971 : l'EPA annule toute utilisation de mirex. 1972 : l'EPA autorise l'utilisation restreinte de mirex par permis seulement. 1978 : Toutes les utilisations sont interdites aux États-Unis.
PCBs	Leur première découverte était à la fin des années 1800 et leur première synthèse commerciale était en 1929.	1976 : L'utilisation des PCBs a été réglementée par l'EPA par le biais de la TSCA. 1979 : les règles de l'EPA ont graduellement mis fin à de nombreuses utilisations industrielles des PCB sur une période de 5 ans, mais ont permis leur utilisation continue dans des équipements électriques fermés existants dans des conditions soigneusement

		contrôlées.
PCDDs/PCDFs	Les PCDDs et les PCDFs sont des sous-produits involontairement produits pendant l'incinération des déchets, la production des composés chlorés, comme le pentachlorophénol et dans le processus de blanchiment du papier.	Contrairement à la plupart des autres POPs, il n'y a pas d'utilisation commerciale pour les PCDDs et PCDFs. Ils sont produits de manière non intentionnelle et ils ne sont que délibérément synthétisés pour la recherche chimique et toxicologique. Par conséquent, la législation s'est concentrée sur la réduction de la libération de ces composés et le nettoyage des matériaux contaminés plutôt que d'interdire ou de restreindre leur utilisation.
Toxophene	synthétisé en 1944 et synthétisé commercialement en 1949.	1982 : L'EPA lance des procédures d'annulation. 1990 : Toutes les utilisations sont interdites aux États-Unis.
HAP	Comme les HAPs peuvent être produits naturellement, ils ont été présents dans l'environnement pendant des millions d'années.	Les HAPs peuvent être produits naturellement et comme sous-produits involontaires des activités humaines. Il n'existe donc pas de législation interdisant les HAP. Au lieu de cela, la législation vise à réduire les niveaux des HAPs dans l'environnement.
Les retardateurs de flamme bromés (PBDE)	La première production commerciale des Biphényles polybromés (PBBs) a commencé aux États-Unis en 1970 La première production commerciale des (PBDE) a coïncidé avec la suppression progressive du (PBBs) à la fin des années 1970.	1973 : mesures prises pour interdire les PBBs aux États-Unis 1979 : la production des PBBs aux États-Unis a cessé par l'interdiction volontaire 2004 : législation de l'UE interdisant les PBBs et les PBDEs (Directive 2002/95 / CE sur la restriction des substances dangereuses). 2004 : Premiers États américains prennent des mesures pour interdire certains homologues PBDE.
Tributyltin (TBT)	Découvert la première fois comme biocide dans les années 1950.	1974 : Les États-Unis fixent une limite professionnelle pour le TBT dans l'air 1979 : Le gouvernement japonais interdit le TBT dans les produits ménagers 1982 : Le gouvernement français introduit une interdiction des peintures antisalissure contenant .3% TBT en poids 2001 : Systèmes antisalissure nuisibles sur les navires interdisant l'utilisation du TBT comme peinture antisalissure sur les navires.

I.2.3. Sources des Polluants organiques persistants

En plus de l'origine naturelle de certains POPs comme des dibenzofurannes polychlorés (PCDFs) et les dibenzodioxines polychlorées (PCDDs) qui peuvent être produits lors des catastrophes naturelles (incendies des forêts, éruptions volcaniques, etc) (**Pronczuk et Damstra, 2008; Johnson et al., 2013**), et les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs) qui peuvent être produits par les processus géothermiques et les incendies des forêts, l'activité humaine représente la principale source de la contamination de l'environnement par les polluants organiques persistants (POPs) (**Pronczuk et Damstra, 2008; Mortimer, 2013**). En effet, l'utilisation des fluides diélectriques, des diluants organiques, des plastifiants, des adhésifs, des ignifugeants (dans les produits ménagers tels que les textiles et les peintures), des équipements électriques et hydrauliques, y compris les transformateurs, des condensateurs et des systèmes hydrauliques est à l'origine de la contamination de l'environnement par

PCBs et les PBDEs (UNEP, 2009; Arslan-Alaton et Olmez-Hanci, 2013). Les PCDDs et les PCDF (dioxines) sont des sous-produits indésirables issues de l'incinération des déchets solides municipaux et industriels et de la synthèse des composés chlorés et certains pesticides (Srogi, 2007; Johnson et al., 2013). L'utilisation des combustibles fossiles et du bois et les procédés industriels contribuent d'environ 90% à la contamination de l'environnement par les HAPs (Sander et al., 2013). Enfin, l'activité agricole est responsable de la pollution par les pesticides organochlorés, tels que le DDT, le mirex, l'aldrin, et le dieldrinetc, qui ont été largement utilisés comme insecticides, herbicides et fongicides (Arslan-Alaton et Olmez-Hanci, 2013; Pariatamby et Kee, 2016).

I.2.4. Comportement des POPs dans l'environnement

Les polluants organiques persistants peuvent entrer dans les écosystèmes aquatiques directement dans le cas des rejets ponctuels ou indirectement à partir de l'atmosphère et des eaux de ruissellement (Pronczuk et Damstra, 2008; Josefsson, 2011; Johnson et al., 2013). Une fois arrivé dans le milieu aquatique, les POPs se répartissent entre la phase aqueuse, les colloïdes et les particules en suspension. Les polluants adsorbés dans les particules vont être déposés avec les sédiments, tandis que les POPs dissous dans l'eau peuvent être volatilisés vers l'atmosphère (Josefsson, 2011). Ils peuvent être aussi absorbés par les organismes vivants, stockés dans les tissus adipeux et s'accumuler dans la chaîne alimentaire (Persson et al., 2008; Richard et Martello, 2014) (Figure. 2).

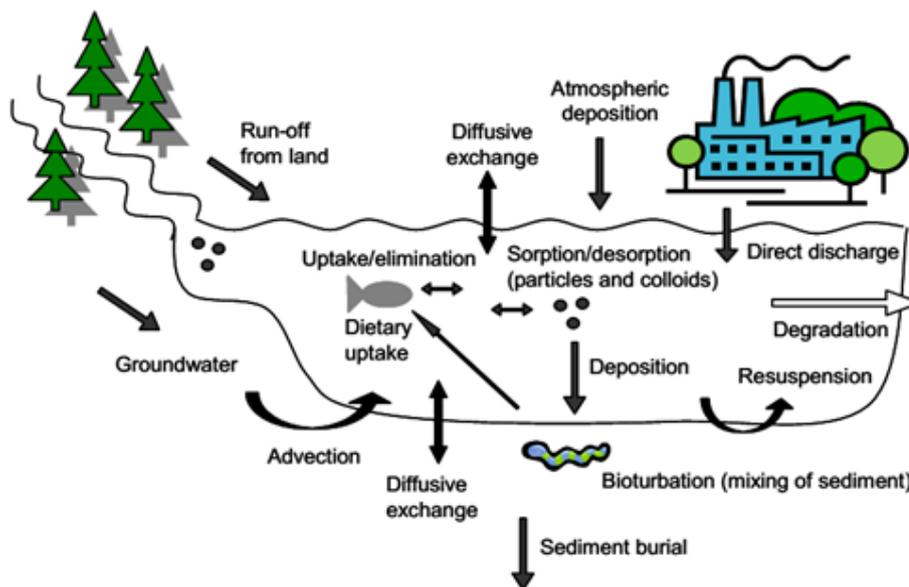


Figure.2. Processus impliqués dans le comportement et le transport des POPs dans le milieu aquatique (Josefsson, 2011).

I.2.5. Toxicité des polluants organiques persistants

À cause de leur persistance dans l'environnement, de leur lipophilité et de leur tendance à s'accumuler dans la chaîne alimentaire, les polluants organiques persistants posent de sérieuses préoccupations pour la santé de l'homme et de la faune (**Harmon, 2015**). En effet, l'exposition permanente à des faibles concentrations des polluants organiques persistants peut entraîner plusieurs effets toxiques chronique tels que la perturbation endocrinienne (**Kim et al., 2008 ; Mortimer, 2013**), le cancer (**Mortimer, 2013; Harmon, 2015**), des troubles dans le système immunitaire et dans le système reproductif (**Deribe et al., 2011**), des effets neurotoxiques (**Tan et Obbard, 2011**), des dommages dans le foie et une perturbation du comportement (**Ling et al., 2015**).

II. Surveillance de la qualité des milieux aquatiques.

La surveillance de la qualité des milieux aquatiques peut se faire par les méthodes d'analyse physicochimiques ou par l'utilisation des biomarqueurs.

II.1. Surveillance chimique

La qualité des milieux aquatiques peut être évaluée par la mesure des niveaux des polluants et/ou de leurs produits de dégradation dans les différents compartiments de l'environnement par les techniques d'analyses physico-chimiques. Ces dernières permettent de suivre la répartition spatiale des polluants afin de déterminer les sites les plus pollués d'une part et examiner les tendances temporelles pour déterminer si la situation s'aggrave ou s'améliore d'autre part. Trois matrice environnementale sont à prendre en considération, il s'agit de l'eau, des sédiments et des organismes vivants (**Dana et al., 2007; Jean-Claude et Amiard-Triquet, 2015**).

Il est convenu que l'utilisation de l'eau seule n'est pas suffisante pour évaluer la contamination des écosystèmes aquatiques et surtout s'il s'agit des micropolluants dont les faibles concentrations sont difficiles à détecter, en outre des risques de contamination secondaire peuvent se produire lors de manipulation des échantillons (**OSPAR , 2008**). Par contre, les sédiments et nombreux organismes vivants sont considérés comme une matrice intégrative pour la plupart des contaminants des milieux aquatiques. Les concentrations élevées des micropolluants réduisent considérablement les risques de contamination des échantillons et permettent une détection facile des micropolluants. Les sédiments représentent un enregistrement de la contamination passée mais à des échelles de temps différentes selon qu'il s'agit d'échantillons de surface ou de sub-surface (**Amiard-Triquet et Rainbow, 2009**). Par ailleurs, les contaminants incorporés dans les tissus des organismes ont une signification

biologique importante et peuvent être exploités pour l'évaluation de la toxicité (**Jean-Claude et Amiard-Triquet, 2015**).

II.2. Surveillance biologique (Biomonitoring)

Malgré leur importance pour évaluer la qualité des milieux aquatiques, les analyses physico-chimiques restent insuffisantes, car elles ne prennent généralement pas en compte les notions de mélanges, des interactions possibles, de spéciation ou de biodisponibilité des polluants et des effets sur les organismes vivants dans un milieu complexe comme l'eau (**Van der Oost et al., 2003 ; Bozcaarmutlu et al, 2009**). Par conséquent, les mesures des effets biologiques des polluants dans les tissus et des fluides de certains organismes peuplant les sites contaminés, appelés bio- indicateurs, pour évaluer la qualité de l'environnement est devenue d'une importance majeure. Cette approche s'appelle biomonitoring ou biosurveillance (**Emons, 2002; Marigómez et al., 2004; Zhou et al., 2008 ; Torres et al., 2008**). En complémentarité avec les techniques des analyses physico-chimiques (**Figure.3**). La biosurveillance permet d'évaluer le potentiel de bioaccumulation des produits chimiques dans les écosystèmes d'une part et d'analyser les effets biologiques à différentes échelles d'observation, allant des effets aux niveaux moléculaires et cellulaires jusqu'aux effets au niveau des populations, des communautés ou des écosystèmes d'autre part (**Zauke et al., 2005; Pignata et al., 2013**).

Différentes approches peuvent être appliquées dans le cadre de la biosurveillance, y compris les bio essais, les biomarqueurs, les bioindicateurs et les indicateurs écologiques (**Marigómez et al., 2004**).

- **Biomarqueurs (au niveau infra individuel)** : se sont des altérations moléculaires, biochimiques, cellulaires ou physiologiques non visibles qui peuvent être mesurées en utilisant des techniques biochimiques.
- **Bio essais (Au niveau des organismes)** : la survie, la croissance et la reproduction des individus sont choisies comme critères d'évaluation d'écotoxicité des substances au laboratoire.
- **Bio indicateurs (Au niveau des populations)** : à ce niveau, les effets se manifestent par des changements dans la structure génétique et l'abondance d'une population.
- **Indicateurs écologiques (Au niveau des écosystèmes)** : à ce niveau, les changements dans la composition, l'abondance et la diversité des espèces peuvent être indicatifs des effets de la pollution sur les communautés (**van der Oost et al., 2003**).

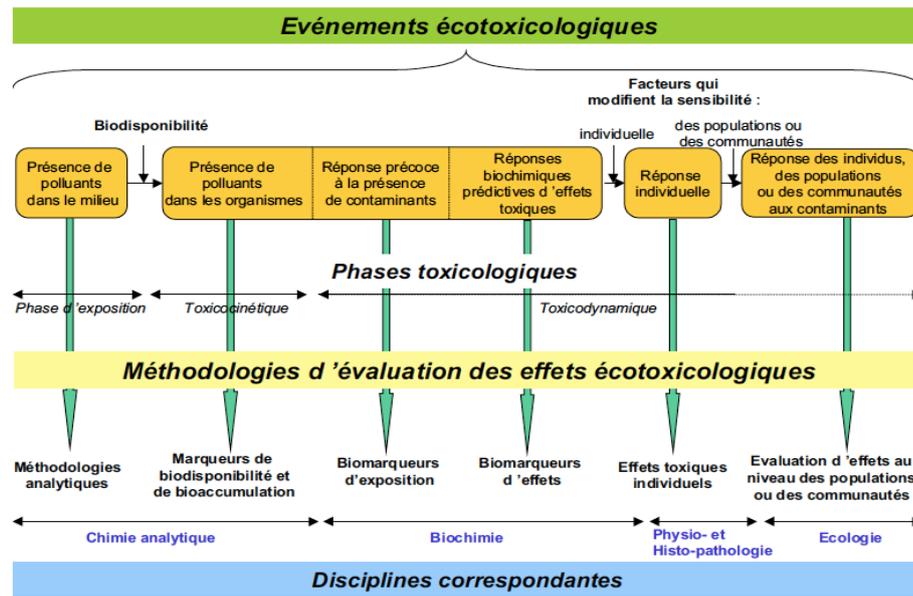


Figure. 03. Représentation des méthodologies permettant de surveiller les milieux aquatiques (Lagadic et al., 1997).

II.2.1. Bio indicateurs

II.2.1. Généralités

Au cours des 20 dernières années, les bio indicateurs se sont révélés d'être des systèmes de mesure particulièrement intéressants et intelligents dans la surveillance de la qualité de l'environnement (Markert et al., 2003; Chapman et al., 2013). Un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est défini comme un organisme ou un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permet, de façon pratique et sûre, de caractériser la qualité de l'environnement (ou une partie de l'environnement) et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications naturelles ou provoquées (Gerhardt, 2002; Bernd et al., 2003; Li et al., 2010; Chapman et al., 2013).

La sélection d'un bio-indicateur pour évaluer la qualité de l'environnement est critique. Idéalement, les bioindicateurs devraient avoir les caractéristiques suivantes (Lagadic et al., 1997; Zhou et al., 2008; Kuklina et al., 2013):

1. avoir une grande pertinence écologique ;
2. sensibles aux facteurs de stress sur le terrain et au laboratoire ;
3. avoir une large répartition géographique ;
4. facile à échantillonner et assez résistants pour être amené au laboratoire afin de réaliser par exemple les études de décontamination ;
5. avoir une vitesse de reproduction relativement élevée ;

6. capable de produire des données reproductibles dans des conditions contrôlées dans le laboratoire.

II.1.2.2. Utilisation des poissons pour la surveillance de la qualité de l'eau

Pour plusieurs raisons, les poissons ont suscité d'un intérêt considérable dans les études évaluant les réponses biologiques et biochimiques aux contaminants des milieux aquatiques. En effet, ils présentent des caractéristiques et des avantages particuliers (**Andreas et al., 2003; Schlenk et al., 2008 ; Zhou et al., 2008 ; Li et al., 2010; Naigaga et al., 2011; Gongurdu et al., 2012 ; Parente et Hauser-davis, 2014 ; Ginebreda et al., 2016**):

1. ils sont sensibles à la pollution ;
2. ils vivent continuellement dans l'eau et par conséquent intègrent l'histoire chimique, physique et biologique de l'eau ;
3. la plupart des espèces des poissons ont une longue durée de vie (environ 2-10 ans) et peuvent donc refléter l'exposition à un contaminant pendant de longues périodes. Ce qui permet par la suite de disposer des preuves expérimentales sur les effets à long terme ;
4. la taxonomie des poissons est bien établie, ce qui permet aux biologistes professionnels de réduire le temps en identifiant la plupart des spécimens sur le terrain ;
5. les poissons ont une distribution biogéographique étendue, ce qui les rend extrêmement utiles pour évaluer les différences régionales ;
6. ils ont une taille relativement grande ce qui permet de fournir des tissus en quantité nécessaire pour l'analyse. Cette caractéristique s'avère encore plus importante pour la dissection quand les études sont faites sur des organes spécifiques ;
7. ils jouent un rôle écologique majeur dans le réseau trophique aquatique suite à leur fonction de transférer l'énergie des niveaux trophiques inférieurs aux niveaux trophiques supérieurs ;
8. ils se situent au sommet de la chaîne alimentaire et peuvent donc affecter directement la santé humaine ;
9. ils ont un mode de vie et d'alimentation variable ce qui les rends exposés aux contaminants chimiques provenant de l'eau, des sédiments et des différentes sources alimentaires.

II.2.2. Biomarqueurs

II.2.2.1. Généralités

Les bio marqueurs sont considérés comme des outils intégrateurs qui peuvent fournir des informations complémentaires aux analyses chimiques et écologiques utilisées pour la surveillance de l'environnement in situ d'une part et d'améliorer le lien entre les effets

biologiques observés au niveau communautaire et les concentrations chimiques mesurées dans le milieu d'autre part (**Sanchez et al., 2010**). Ils sont considérés comme un signe d'alerte précoce qui donne de précieuses informations sur la qualité des milieux et nous permettent de prendre des mesures avant que les effets deviennent irréversibles (**Cajaraville et al., 2000; Martín-Díaz et al., 2004; Roméo et Giambérini, 2015; Hampel et Blasco, 2016; Sanni et al., 2016**).

Plusieurs définitions ont été attribuées au terme biomarqueur qui est utilisé pour décrire n'importe quelle mesure, chimique, physique ou biologique, qui reflète l'interaction entre le système biologique et les substances toxiques (**WHO, 1993**).

Selon **McCarthy et Shugart (1990)**, « Les biomarqueurs sont des mesures au niveau moléculaire, biochimique ou cellulaire dans les populations sauvages provenant d'habitats contaminés ou dans des organismes exposés expérimentalement aux polluants qui indiquent que l'organisme a été exposé à des produits chimiques toxiques ». Le biomarqueur est aussi défini comme « un changement dans la réponse biologique (allant du niveau moléculaire à travers la réponse cellulaire et physiologique jusqu' au changement comportemental) qui peut être dû à l'exposition ou aux effets toxiques des polluants de l'environnement » (**Peakal, 1994**). Ainsi, **Van Gastel et Van Brummelen (1996)** ont redéfinie les biomarqueurs, les bioindicateurs et les indicateurs écologiques en les reliant aux différents niveaux d'organisation biologique. Ils ont considéré comme bio marqueur toute réponse qui ne peut pas être détectée dans l'organisme intact. Le bio-indicateur est définie comme un organisme qui donne des informations sur les conditions de l'environnement par sa présence; son absence et son comportement. L'indicateur écologique est un paramètre de l'écosystème qui décrit le fonctionnement des écosystèmes. Pour compléter ces définitions, plusieurs critères ont été proposés pour évaluer la force et la faiblesse des biomarqueurs. En effet, selon les travaux de (**Stegeman, 199 ; Van der Oost et al., 2003 ; Sanchez et Porcher, 2009**):

- Les analyses des biomarqueurs devraient être fiables, relativement pas cher, faciles à réaliser et non invasives ou non destructives. Les méthodes devraient aussi être choisies pour faciliter la biosurveillance environnementale pour les espèces protégées ou en voie de disparition ;
- La réponse des biomarqueurs doit être sensible à l'exposition aux xénobiotiques et / ou aux effets pour pouvoir être servis comme un signal d'alarme précoce. De plus, les tendances temporelles de la réponse des biomarqueurs après l'exposition aux produits chimiques devraient également être connues pour une meilleure compréhension et interprétation des résultats obtenus.

II.2.2. 2. Type des biomarqueurs

Selon l'organisation mondiale de la santé (**WHO, 1993**), les biomarqueurs peuvent être subdivisés en trois classes : biomarqueurs d'exposition, biomarqueurs d'effet et biomarqueurs de susceptibilité.

a. Biomarqueurs d'exposition

Ils mettent en évidence l'exposition à un xénobiotique, couvrant la mesure et la détection des substances étrangères ou de leurs métabolites, ou de produit de l'interaction entre le xénobiotique et la cible cellulaire ou moléculaire qui peuvent être mesurés dans un compartiment de l'organisme ; comme l'activation ou l'inhibition de certaines protéines comme les métallothionéines ou de certains systèmes enzymatiques comme les monoxygénases (**Amiard-Triquet et al., 2015**). Ces biomarqueurs peuvent être utilisés pour déterminer la biodisponibilité des contaminants, en établissant un lien entre la concentration externe et la dose interne. Ils ne donnent aucun aperçu de la susceptibilité des animaux à un état pathologique spécifique et ne fournissent pas nécessairement une indication du risque accru que l'organisme peut présenter suite à l'exposition aux xénobiotiques (**Chapman et al., 2013**).

b. Biomarqueurs d'effet

C'est un biomarqueur qui, selon son ampleur, peut être reconnu comme étant associé aux altérations biochimiques, physiologiques ou tous autres altérations des tissus ou des fluides de l'organisme qui peuvent être associés à une déficience dans la santé de l'organisme (**Van der Oost et al., 2003; Santonen et al., 2015**).

c. Biomarqueurs de susceptibilité

Incluant les capacités naturelles ou acquises qui permettent à un organisme de s'adapter et répondre à une exposition spécifique à un polluant ; comprenant les facteurs génétiques et moléculaires qui altèrent la susceptibilité d'un organisme à la pollution (**Martín-Díaz et al., 2004**).

Les biomarqueurs peuvent être aussi regroupés selon leur spécificité vis-à-vis une classe particulière des contaminants (**Figure.4**). Il existe des biomarqueurs spécifiques adaptés à la détection d'un polluant donné et des biomarqueurs non spécifiques qui intègrent les effets des différents facteurs de stress (**lagadic et al., 1997**).

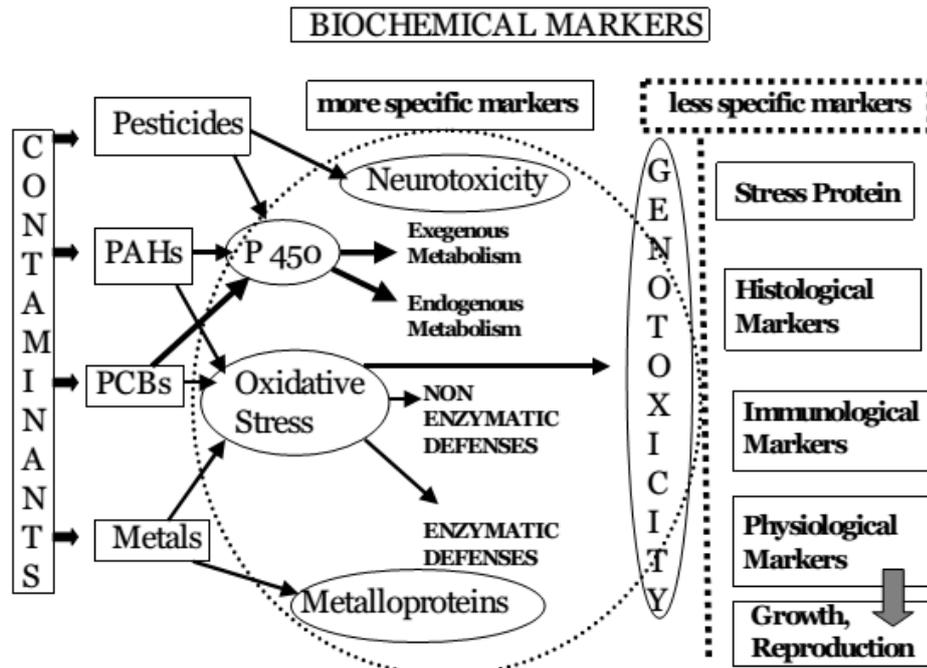


Figure .4. La relation entre les différents contaminants et les biomarqueurs: modifié après Michel (1993) (Markert et al., 2003)

III. Métabolisme des xénobiotiques chez les poissons

Dans l'environnement aquatique, les organismes vivants y compris les poissons sont continuellement exposés (par voie branchiale, par contact cutané ou par ingestion), à une mixture des polluants chimiques potentiellement toxiques. Pour se protéger, ces organismes ont développé des systèmes sophistiqués de détoxification appelés système de biotransformation (Levine et Oris, 1999 ; Xu et al., 2005).

Chez les poissons, le foie, en raison de sa fonction et de sa position, représente le principale organe impliqué dans la biotransformation des composés étrangers (van derOost et al., 2003). Les branchies en tant que site important d'absorption des polluants grâce à leur contact direct et permanent avec les eaux et les sédiments constituent également un site non négligeable du métabolisme des xénobiotiques (Jönsson et al., 2003; Jönsson et a., 2009).

Le métabolisme des xénobiotiques se produit généralement pendant deux phases ; Phase I et Phase II. Les réactions de première phase (phase I), localisées essentiellement au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique, permettent de fixer un groupement fonctionnel à la molécule initiale, le métabolite produit est plus hydrosoluble. Tandis que les réactions de la deuxième phase (phase II) sont responsables de la conjugaison aux molécules endogènes, comme l'acide glucuronique, le glutathion, et les sulfates.etc, les métabolites produits dans la première phase ou également des substances originales (Figure 5). Ces réactions sont également impliquées dans certaines fonctions physiologiques critiques telles

que la biosynthèse et l'inactivation des hormones stéroïdiennes et le métabolisme des acides gras. Généralement, les réactions de biotransformation sont catalysées par des systèmes enzymatiques (**Tableau.3**) conduisant à la transformation des polluants chimiques et en particulier les produits organiques de synthèse lipophiles en métabolites plus hydrophiles et facilement excrétables. Ainsi, ces réactions de biotransformation sont considérées comme des réactions de défense de l'organisme qui conduisent à la détoxification et l'élimination des produits chimiques toxiques, mais aussi dans certains cas à la production des métabolites intermédiaires hautement plus toxiques que les molécules parents (**Behrens et Segner, 2001; Lu et al., 2009; Hampele et Blasco, 2016**).

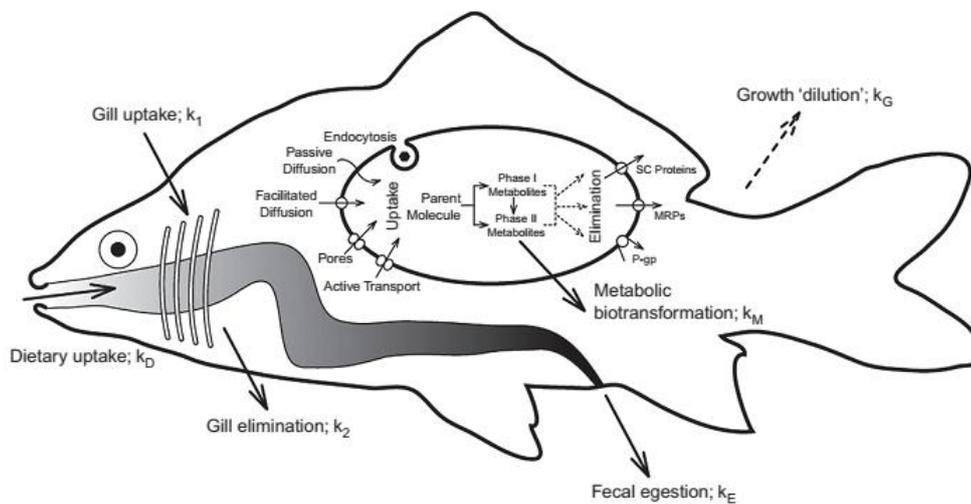


Figure. 5. Différentes étapes de biotransformation des xénobiotiques chez les poissons (**Tierney et al., 2014**).

III.1. Réactions de la phase 1

Dans les réactions de la phase I, des groupes fonctionnels (tels que les groupes OH, NH₂, et SH) sont introduits dans les xénobiotiques lipophiles, absorbés par l'organisme, par des réactions d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse (**Behrens et Segner, 2001; Koenig et al., 2012; Hampele et Blasco, 2016**). Plusieurs enzymes tels que les monooxygénases dépendants du cytochrome P450 (cytochrome P450 [ct P450], cytochrome b5 [ct b5], NADPH cytochrome P450 réductase [P450 RED]) et les carboxylestérases sont impliquées dans ces réactions (**Yildirim et al., 2014; Ribalta et al., 2015**).

Tableau.3. Les différentes enzymes impliquées dans les réactions de biotransformation (Walker et al., 2012)

Enzyme	Principale location	Cofacteur	Substrat
Phase I			
Monooxygénases microsomiales (Fonction mixte Oxydases)	Le réticulum endoplasmique de plusieurs tissus des animaux, en particulier les foies des vertébrés ; les hépatopancréas, les corps gras et les entrailles des invertébrés.	Oxygène, NADPH/ NADH.	La majorité des xénobiotiques lipophiles (poids moléculaire ≤ 800).
réductases	Le réticulum endoplasmique et le cytosol de plusieurs types des cellules animales.	NADH/NADPH	Composés organonitro, certains organohalogènes, par exemple le DDT
A estérases	le réticulum endoplasmique de certains types de cellules des vertébrés, le sérum et le plasma des mammifères.	Ca ²⁺	Esters et organophosphorés.
Carboxylesterase	Le réticulum endoplasmique de plusieurs tissus des animaux ; le cytosol, le sérum et le plasma des vertébrés.	Inconnu.	Esters carboxyliques lipophiles.
Époxyde hydrolase	le réticulum endoplasmique des cellules animales ; et certains cytosols.	Inconnu.	Époxydes organiques.
Phase II			
UDP-glucuronyl transférase.	le réticulum endoplasmique.	UDP/ Acide glucuronique.	Composés organiques avec groupes OH ; certains composés organiques avec des NH ₂ .
Sulfotransférase.	Le cytosol de plusieurs types des cellules animales.	Phosphoadénine et phosphosulfate.	Composés organiques avec groupes OH libres.
Glutathion-S-transférase.	Le cytosol et le réticulum endoplasmique de plusieurs types des cellules animales.	Glutathion	Composés électrophiles étrangers, y compris certains organohalogènes et époxydes organiques.

III.1.1. Système cytochrome P450

Les cytochromes P450 (CYP) constituent une superfamille des protéines hémisphériques, localisées dans le réticulum endoplasmique et les membranes internes des mitochondries, qui catalysent les réactions d'oxydation et de réduction dans les milieux biologiques (Torres et al., 2008; Tierney et al., 2014). Ils ont la capacité d'activer les molécules de dioxygène aux entités hautement réactives et d'insérer ensuite l'oxygène moléculaire dans un nombre important des substrats tant au niveau d'un atome de carbone que d'azote ou de soufre selon la réaction suivante (Franklin et Yos, 2000; Gupta, 2016) :



Les cytochromes P450 existent sous différentes formes dont 70 à 80% de ces enzymes sont impliquées dans le métabolisme des médicaments. Chez toutes les espèces des poissons, 137 gènes codant pour les CYP450 ont été identifiés. Ces gènes sont classés en 18 familles des CYP: CYP1, CYP2, CYP3, CYP4, CYP5, CYP7, CYP8, CYP11, CYP17, CYP19, CYP20, CYP21, CYP24, CYP26, CYP27, CYP39, CYP46 et CYP51 (**Uno et al., 2012**).

Dans les poissons, Le système cytochrome P450 monooxygénase est responsable du métabolisme oxydatif des molécules très diverses, comprenant aussi bien des substances endogènes (hormones stéroïdiennes, acides gras, vitamine D, etc) que des xénobiotiques (médicaments, polluants environnementaux) (**Gundersonet al, 2004; Nikinmaa, 2014**). Les enzymes des familles 1 et 3 sont principalement actives dans la biotransformation des xénobiotiques, alors que les autres familles ont des fonctions endogènes importantes (**Rose et Hodgso, 2004**). Dans la majorité des cas, le métabolisme peut conduire à la détoxification, mais dans certains cas, à des métabolites plus toxiques que les molécules parents. C'est le cas de certains hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs) comme le benzo (a) pyrène, dont l'oxydation conduit à la formation des métabolites réactifs mutagènes voir cancérogènes (génération de ROS et des époxydes qui endommagent l'ADN) (**Van derOost et al., 2003 ; Walker et al., 2012 ; Stagg et al., 2016**).

En raison de leur rôle crucial dans la biotransformation des xénobiotiques, les cytochromes des familles CYP1 et CYP3 et plus spécifiquement CYP1A et CYP3A peuvent augmenter leur activité après l'exposition des organismes à certains xénobiotiques et peuvent être considérés comme d'excellents candidats d'être utilisés comme biomarqueurs dans la surveillance de la qualité du milieu aquatique (**Quesada-Garcia et al., 2013**).

III.1.1.1. CYP1A

Les Cytochromes P450 1A (CYP 1A) est une famille des isozymes cytochrome P450 impliquée dans la biotransformation d'un grand nombre des xénobiotiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les polychlorobiphényles (PCBs), les dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDDs) et les dibenzofuranes polychlorés (PCDFs) (**Monod et al., 1998; Amiard-Triquet et al., 2015**).

Chez les poissons, le CYP1A (exprimé principalement dans le foie, mais aussi dans d'autres tissus comme les branchies) représente le biomarqueur le plus sensible pour évaluer la contamination de l'environnement aquatique à cause de sa production accrue dans les cellules après l'exposition aux polluants chimiques. L'activité du CYP1A est souvent

indélectable dans les organismes aquatiques non exposés au polluants ou le contrôle, mais devient élevée après l'exposition aux polluants organiques en traces tel que les HAPs et les PCBs (**Lagadic et al., 1997 ; van derOost et al., 2003 ; Uno et al., 2012; Gotoh et al., 2015**). Cependant la présence des métaux lourds (Cu, Zn, Cd, Pb et Ni) peut inhiber l'activité du CYP1A et entraîner la suppression de son expression (**Rudneva, 2014; Beyer et al., 2014**).

a. Mécanisme d'induction du CYP1A

L'induction du cytochrome CYP1A par un micropolluant est l'augmentation de sa concentration qui résulte de l'activation de transcription du gène en un ARNm dont la traduction aboutit à la protéine qui est une fois associée au groupement hémique, pourra catalyser d'une façon accrue le métabolisme des substrats correspondants (**Lagadic et al., 1997; Amiard-Triquet et al., 2015**).

Chez les mammifères, l'induction du CYP1A est initiée par la liaison spécifique de l'inducteur avec un complexe protéique qui comprend le récepteur aryle hydrocarbures (AhR) lui-même et la protéine de stress (heat choc protéine 90 (HSP 90)). Cette liaison provoque la dissociation du complexe. Le récepteur lié au xénobiotique s'associe ensuite à une autre protéine qui va le transporter à l'intérieur du noyau, c'est la translocatrice du récepteur d'aryle hydrocarbures (ARNT pour aryle hydrocarbon receptor nuclear translocator). Une fois arrivé dans le noyau, ce nouveau complexe se lie à son tour à une séquence spécifique de l'ADN: le XRE (xenobiotic regularity element), qui stabilise des facteurs de l'activateur de la transcription sur la région promotrice, augmentant de ce fait le taux de transcription du gène CYP1A et de la quantité du ARN messenger correspondant dans la cellule (**Figure.6**) (**Whyte et al., 2000; Kim et al., 2013; Rudneva, 2014**).

L'induction du récepteur AhR a été bien étudiée dans nombreux travaux, l'expression est déclenchée après l'exposition à la 2,3,7,8-tétrachloro dibenzo-p-dioxine(TCDD); aux PCBs et aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) tel que le benzopyrène (**van derOost et al., 2003 ; Roméo et Wirgin, 2011**). Le récepteur AhR est aussi inductible par certains médicaments (**Fernandez-Cruz et al., 2011**), et certains pesticides (**Casado et al., 2006 ; Peck et Eaton, 2010**).

Chez les poissons, l'existence d'un récepteur AhR a été bien démontrée chez la truite arc en ciel, on peut considérer à ce jour la présence de ce récepteur chez des dizaines des espèces des poissons (**Lagadic et al., 1997**). Le fonctionnement de la voie AhR chez les poissons est presque identique à celui des mammifères, sauf que les poissons ont deux formes

en plus de AhR (AhR1 et AhR2) en raison d'événements de duplication du génome (Roméo et Wirgin, 2011; Amiard-Triquet et al., 2015).

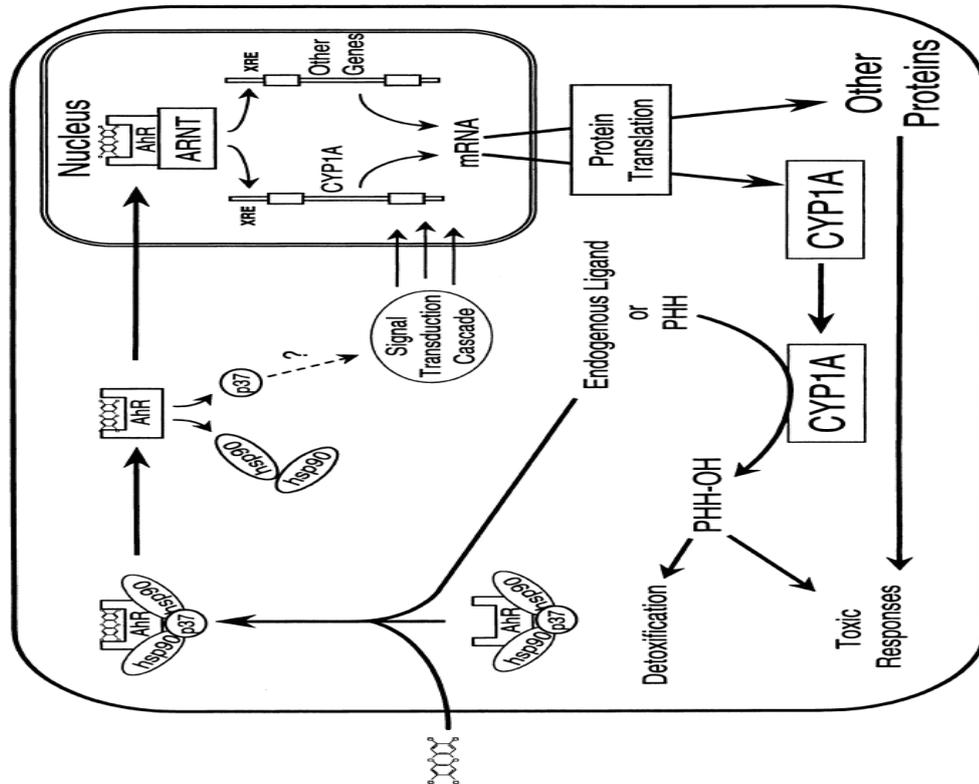


Figure. 6. Induction de l'expression du gène CYP1A1 par la voie du récepteur arylhydrocarbures (AhR) et la production de la protéine P450 suite à la pénétration d'un xénobiotique dans la cellule d'après (Whyte et al., 2000).

b. Utilisation de CYP1 A comme biomarqueur

En raison de son indicibilité par les xénobiotiques, le CYP1A a prouvé son utilité comme biomarqueur sensible dans l'évaluation de l'exposition des populations des poissons aux contaminants des écosystèmes aquatiques ces dernières années (Miller et al., 2004; Van Der Oost et al., 2005; Hernández et al., 2008; Ortiz-Delgado et al., 2008; Quesada-García et al., 2015; Brack et al., 2016). Cette induction se traduit généralement par l'augmentation de l'expression du cytochrome CYP1A et des activités enzymatiques associées (Abrahamson, 2007; Ortiz-Delgado et al., 2008; Parente et Hauser-davis, 2014; Amiard-Triquet et al., 2015) et peut être mesurée par la quantification des protéines (Miller et al., 2004), au niveau transcriptionnel (Delà Torre et al., 2010; Kim et al., 2013; Quesada-García et al., 2013), mais aussi par la mesure des activités enzymatiques associées notamment l'activité EROD (Whyte et al., 2000; Sno, 2006; Abrahamson, 2007; Stagg et al., 2016). Cette dernière est largement employée par les programmes de bio surveillance des milieux aquatiques (Lam et Wu, 2003; Rudneva, 2014; Xiu et al., 2015). Cela est du

essentiellement à l'optimisation des protocoles pour une technique de mesure rapide et relativement peu coûteuse. Les avantages de cette activité c'est qu'elle peut fournir une empreinte digitale indiquant l'exposition des poissons aux AhR-agonistes, mais aussi une évaluation plus directe, globale et toxicologiquement significative de la présence des contaminants à travers une évaluation des changements biologiques qu'ils provoquent chez les poissons. De plus, l'activité EROD reflète l'impact cumulatif, antagoniste ou synergique de tous les produits chimiques inducteurs absorbés par les poissons même s'ils ne sont pas détectables par les techniques d'analyses chimiques (**Whyte et al., 2000**).

III.1.1.2. CYP3A

Les CYP3A représentent la forme des CYPs la plus abondante chez les mammifères et les poissons (**Quesada-García et al., 2015**). Ces enzymes possèdent de larges spécificités des substrats et peuvent métaboliser un grand nombre des produits chimiques lipophiles de structures diverses (**Hagemeyer et al., 2010; Gräns, 2015**) incluant les produits pharmaceutiques y compris 60% des médicaments actuellement prescrits (**Ribalta et Solé, 2014; Creusot et al., 2015**), de nombreuses hormones stéroïdiennes endogènes tels que la testostérone (**Timbrell, 1996**), mais aussi des produits chimiques environnementaux tels que les dérivés des hydrocarbures polycycliques aromatiques (**Chambers, 1987**).

Chez les mammifères, la régulation de la transcription du CYP3A est placée sous le contrôle du récepteur nucléaire PXR. Ainsi, une fois que l'inducteur (ligand) s'est lié au récepteur PXR, il sera transporté au noyau où il forme un complexe hétéro dimère avec le récepteur X du rétinoïde-a (RXR-a). Le complexe se lie à son tour aux éléments de réponse, ER6 (en amont du gène CYP3A4.). Ce qui conduit par la suite à l'augmentation de l'expression du gène CYP3A4 et la production de la protéine enzymatique correspondante (**Figure. 7**) (**Timbrell, 1996; Zhao et al., 2013**).

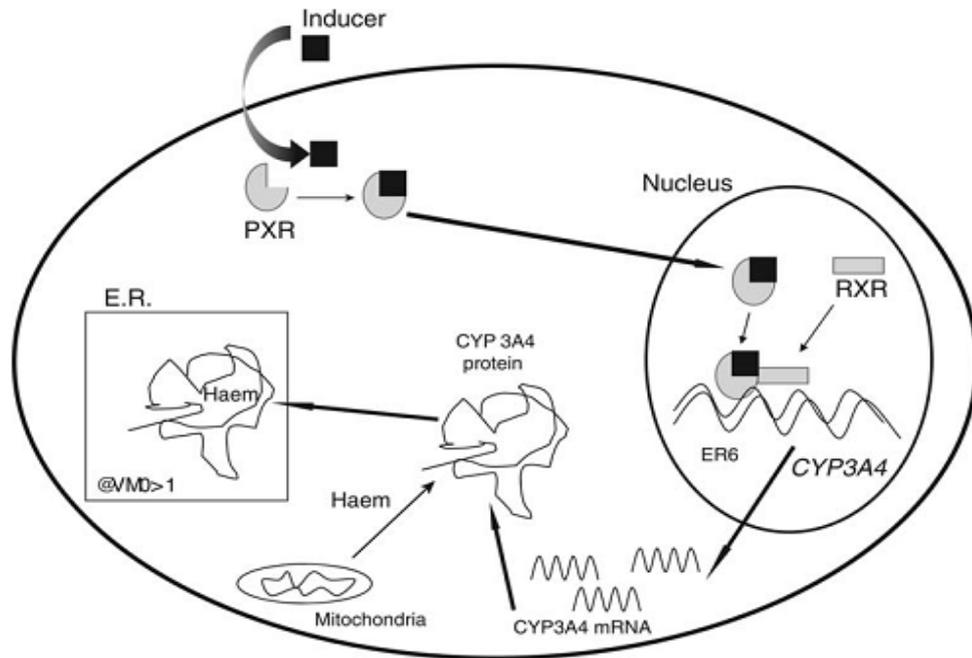


Figure.7. Mécanisme de l'induction du CYP3A4 par un xénobiotique. Chez les mammifères, le récepteur inducteur (PXR) pénètre dans le noyau et se lie à RXR en formant un complexe, ce dernier s'associe à son tour à la région ER6 du gène CYP. Ce qui active la transcription de l'ARNm du CYP3A4, en menant à la production de la protéine CYP3A4. Abréviations : RXR, rétinol X récepteur- α ; PXR, récepteur X du pregnane (Timbrell, 1996).

III.1.1.3. Utilisation de CYP3A comme bio marqueur

A cause de son rôle important dans le métabolisme d'un grand nombre des xénobiotiques, l'activité du cytochrome P450 CYP3A a été récemment proposée comme bio marqueur d'exposition des organismes aquatiques aux polluants organiques tels que les produits pharmaceutiques, les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques hydroxylés, les pesticides et les polychlorobiphényles (PCBs) (Hernández-Moreno et al., 2008; Gagné, 2014; Creusot et al., 2015). En effet, certaines études antérieures ont montré une augmentation de l'expression du CYP3A (van der Oost et al., 2003; Sanchez et al., 2010) ou une induction son activité catalytique benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarine-O-debenzyloxyase (BFCOD) chez certaines espèces de poissons exposés aux différents xénobiotiques (Della Torre et al., 2010; Quesada-Garcia et al., 2013 ; Quesada-García et al., 2015).

III.1.2. Carboxylesterase (CaE)

Les carboxylesterases (CaE) comprennent un groupe d'enzymes de la phase 1 qui hydrolysent une variété des esters (Barron et al., 1999; Ribalta et al., 2015). Ces enzymes

sont généralement localisées dans les fractions microsomales et cytoplasmiques de nombreux tissus, y compris le foie, les tissus respiratoires, l'intestin grêle, le cœur, les reins, les muscles et le cerveau, ainsi que dans les tissus adipeux et les leucocytes sanguins (**De Lima et al., 2013**).

Chez les poissons, les carboxylesterases (CaE) jouent un rôle important dans le métabolisme de certaines substances endogènes et dans la détoxification de nombreux xénobiotiques (**Güngördü et Ozmen, 2012**) tels que les pesticides (**Chanda et al., 1997; Guerrero, et al., 2016**), certains hydrocarbures (**Swall et Tjeerdema, 1991**), certains produits pharmaceutiques (**Williams et al., 2010; Solé et Sanchez-Hernandez, 2015**), les plastifiants (les phtalates) (**Lin et al., 2017**), mais aussi d'autres polluants chimiques environnementaux (**Al-Ghais, et al 2000**). A cause de leur sensibilité et leur inhibition par plusieurs polluants chimiques, les carboxylesterase (CaE) sont largement utilisés comme biomarqueurs d'exposition des poissons aux polluants chimiques (**Wheelock et al., 2008**) tels que les pesticides (**Küster, 2005; Bianco et al., 2013**) et les métaux lourds (**De Lima et al., 2013**).

III.2. Réactions de la phase II.

La phase II, ou phase de conjugaison, conduit à la liaison des ligands hydrophiles endogènes à des composés polaires étrangers. Elle a lieu soit à la suite de la phase I, soit directement sur les molécules parents à groupements polaires. En effet, le groupe introduit dans la phase initiale n'est pas toujours nécessaire aux réactions de biotransformation (**David et al., 2002 ; Landis, 2005; Rudneva, 2014**). La plupart des substances conjuguées ont une solubilité considérable dans l'eau et peuvent être facilement excrétées par la bile et/ou les urines (**Landis, 2005**).

Les réactions de conjugaison sont généralement catalysées par des enzymes membranaires ou cytosoliques (les glutathion S-transférases (GST), les UDP-glucuronosyl-transférases (UDPGT) et les sulfo-transférases) qui fonctionnant avec différents cofacteurs (glutathion, sulfates, acide glucuronique) (**Tierney et al., 2014; Roméo et Giambérini, 2015**). Ces enzymes peuvent jouer un rôle important dans l'homéostasie ainsi que dans la détoxification de nombreux composés xénobiotiques. La voie principale pour la détoxification des composés et des métabolites électrophiles est la conjugaison avec le GSH, alors que pour les composés nucléophiles, la conjugaison avec l'acide glucuronique est la voie principale de détoxification. Les autres voies jouent un rôle mineur chez les poissons (**Van Der Oost et al., 2003**).

Les glutathion-S-transférases. sont des enzymes de la phase II catalysant nombreuses réactions dont la plus connue est la conjugaison avec un tri peptide (gamma-glutamyl-

cysteinyl-glycine) le GSH réduit à des substrats endogènes et aux xénobiotiques électrophiles ayant des propriétés toxiques, mutagènes et cancérigènes afin de neutraliser et éliminer des produits chimiques capables d'engendrer des effets toxiques (**Adamis et al., 2004; Sno, 2006; Yildirim et al., 2014; Hampel et Blasco, 2016**).

En raison de leur rôle crucial dans la détoxification d'un grand nombre des substances telles que les HAPs (**Xiu et al., 2015**) les PCBs et les dichlorées (**Lu et al., 2009**) ainsi que les pesticides (Par exemple, alachlore, atrazine, DDT, lindane, méthylparathion) chez les poissons (**Di Giulio et Meyer, 2008**), les glutathion S-transférases (GST) sont devenus un outil promoteur dans la surveillance des milieux aquatiques (**Van der Oost et al., 2003 ; Napierska et al, 2006**).

IV. Stress oxydant

Les organismes aérobies produisent continuellement des espèces réactives d'oxygène (ROS) comme conséquence inévitable de leur métabolisme (**Rudneva, 2014**). Ce processus est réglé par la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries et les microsomes dans lesquelles les quatre électrons de O₂ sont réduits en eau. La réduction partielle par divers processus endogènes entraîne la production constante des petites quantités des espèces hautement réactives d'oxygène (ROS, les oxyradicals) (**Figure. 8**).(**Regoli et al., 2011; Hampel et al., 2016**). Les ROS les plus couramment générés sont; l' anion superoxyde (O₂⁻), le radical hydroxyle(·OH), ainsi que certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui peut être combiner rapidement avec d'autres molécules pour former d'autres espèces réactives de l'oxygène comme le peroxyde d'azote (HOONO), l'acide hypochlorique (HOCl), les radicaux pyroxylés (ROO[·]) et les radicaux alcoxylés (RO[·]) (**Tableau 4**) (**Regoli et al., 2011 ; Rudneva, 2014**).

Les radicaux libres (ROS) sont définis comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) sur leur orbitale externe (**Di Giulio et Meyer, 2008**). Ce sont des oxydants extrêmement puissants capables de réagir avec les macromolécules cellulaires critiques et peuvent entraîner une inactivation enzymatique, une peroxydation lipidique (LPOX), des dommages à l'ADN et /ou une mort cellulaire (**van derOost et al., 2003**).

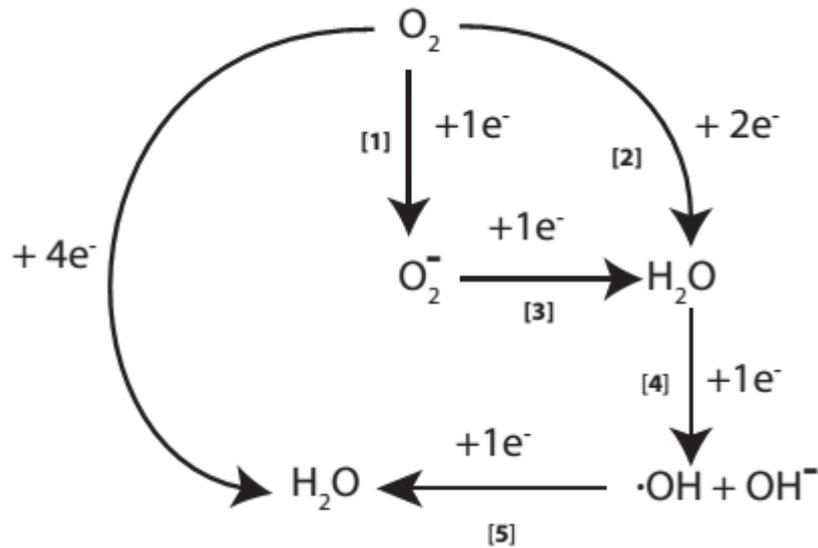


Figure.8. Les réactions impliquées dans la réduction de l'oxygène pendant le métabolisme: (1) production de l'anion superoxyde, (2) Formation du peroxyde d'hydrogène par réduction (2^e) de l'oxygène moléculaire, (3) formation du peroxyde d'hydrogène par réduction (1^e) de l'anion superoxyde, (4) formation du radical hydroxyle par réduction (1^e) du peroxyde d'hydrogène, (5) réduction(1^e) du radical hydroxyle en l'eau (**Hampel et al., 2016**).

IV.1. Sources des espèces réactives de l'oxygène

IV.1.1. Sources endogènes

Les ROS endogènes produits *in vivo* ont une demi-vie extrêmement courte et ils sont présents généralement à des très faibles concentrations (généralement supérieures à 10 nM) (**Halliwell et Gutteridge, 1991**). Il existe de nombreuses sources endogènes des ROS dont la plus importante est la mitochondrie qui est responsable de la production de 90% des ROS cellulaires (**Assis de Silva et Mela, 2014**). Au niveau de la mitochondrie, La phosphorylation oxydative représente la principale voie métabolique énergétique assurant une production importante et permanente d'ATP. Cette dernière nécessite l'énergie résultant du transfert des électrons des substrats réduits (NADH et FADH₂) à l'oxygène par l'intermédiaire d'un groupe des transporteurs d'électrons appelés collectivement la chaîne de transport des électrons (**Fleury et al., 2002; DiGiulio et Meyer, 2008**). Cependant, une partie des électrons peut fuir (en particulier des complexes I et III) et réagir avec l'oxygène en produisant l'anion superoxyde (**Figure 9**). Ce dernier est un médiateur significatif dans de nombreuses réactions en chaîne oxydante (**Assis de Silva et Mela, 2014**).

Tableau .4. Les principales espèces réactives de l'oxygène (Nikinmaa, 2014).

Le composé chimique	Symbole chimique	Remarques
anion superoxyde.	$O_2^{\bullet -}$	La production du composé s'effectue dans la chaîne de transport des électrons des mitochondries. La demi-vie de la molécule est de l'ordre de la microseconde. Il est sélectif dans sa réactivité. C'est le substrat du superoxyde dismutase (SOD).
radical hydroperoxyde.	H_2O^{\bullet}	Se forme pendant la dismutation du superoxyde, la réaction est souvent continue pour former des molécules de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène.
radical hydroxyle.	$\bullet OH$	Le radical est très réactif, mais sa courte demi-vie qui est d'environ 1 nanoseconde limite son mouvement à quelques nanomètres, de sorte que l'hétérogénéité spatiale dans les cellules peut être générée. Le composé peut prendre part à la signalisation cellulaire. Il est formé dans les réactions de Fenton ou Haber-Weiss, qui impliquent des ions de fer et de cuivre.
radical Peroxyle.	ROO^{\bullet}	Sa demi-vie est de quelques millisecondes. Il joue un rôle important dans la peroxydation lipidique.
radical alcoxyle.	RO^{\bullet}	Joue un rôle important dans la peroxydation lipidique.
Radical carbonate.	$CO_3^{\bullet -}$	C'est un oxydant puissant qui peut être formé pendant la réaction du radical hydroxyle avec les ions carbonates ou bicarbonates.
peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	C'est une molécule très stable et possède une grande capacité à traverser les membranes biologiques, elle est faiblement réactive, mais ses réactions avec le fer et le cuivre conduit à la production du radical hydroxyle hautement réactif. A des concentrations supérieures à 10 μM , le peroxyde d'hydrogène peut provoquer la mort cellulaire programmée (l'apoptose). A des faibles concentrations, la molécule peut être impliquée dans la signalisation cellulaire.
peroxynitrite.	$ONOO^-$	Il attaque en particulier les tyrosines des protéines en inactivant de ce fait plusieurs enzymes y compris la SOD.
acide hypochlorique	$HOCl$	C'est un composé contenant un halogène réactif.

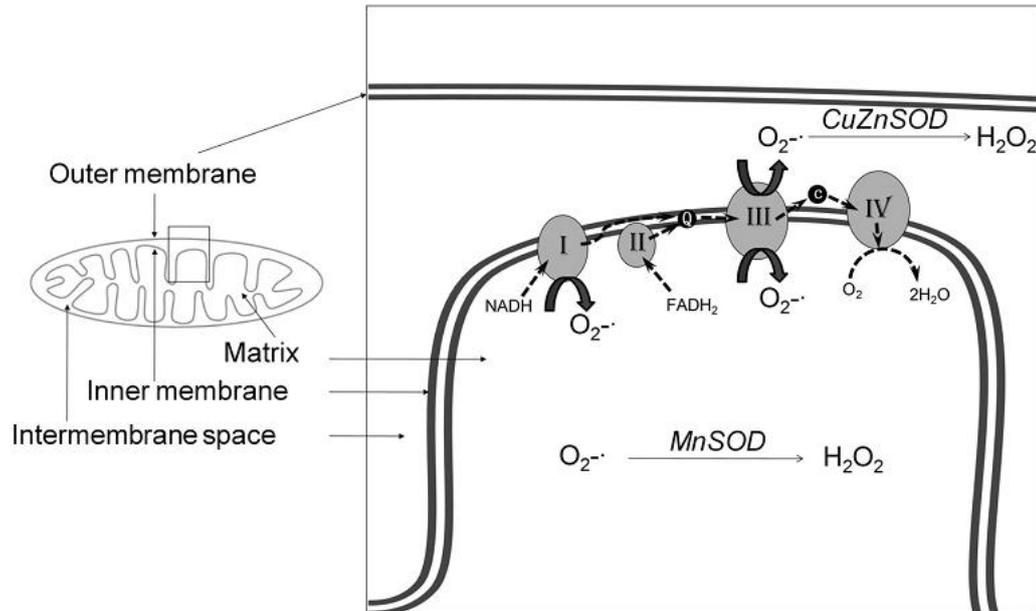


Figure. 9. Génération des ROS par voie mitochondriale. Les électrons du NADH ou du FADH_2 sont transportés par la chaîne de transport des électrons (Complexe I / Complexe II \rightarrow Ubiquinone (Q) \rightarrow Complexe III \rightarrow Cytochrome C (C) \rightarrow Complexe IV) jusqu'à la réaction avec l'oxygène et les protons pour produire de l'eau. (Les flèches pointillées indiquent cette voie). Cependant, un petit pourcentage d'électrons peut être détourné de la voie de transport normale et réagir avec l'oxygène avant d'atteindre le complexe IV, produisant ainsi du superoxyde. La superoxyde dismutase convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Assis de Silva et Mela, 2014).

Le réticulum endoplasmique est considéré aussi comme une autre importante source de la production des ROS. En effet, le métabolisme oxydatif des molécules liposolubles est catalysé par le système cytochrome P450 responsable de l'oxydation des composés endogènes et des xénobiotiques contribuent donc à l'augmentation de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (Figure. 10) (Zangar et al., 2004).

Certaines quantités des ROS peuvent être produites dans la membrane plasmique par les différentes enzymes oxydatives tels que la xanthine oxydase, le tryptophane dioxygénase, la diamine oxydase, la guanylcyclase, NADPH oxydases et le glucose oxydase (Halliwell et Gutteridge, 1999). En outre, certaines molécules ayant des rôles clés dans la fonction cellulaire peuvent subir une autoxydation en présence d' O_2 et conduire à la formation de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet -}$). Il s'agit notamment du glycéraldéhyde, de la flavine mononucléotide FMNH₂, de la Flavine adénine dinucléotide FADH₂, de l'épinéphrine, de la néphrine, de la dopamine, des tétrahydroptéridines et des thiols tels que la cystéine. Ces auto-

oxydations sont souvent fortement accélérées en présence d'ions métalliques de transition tels que le fer et le cuivre (Assis de Silva et Mela, 2014).

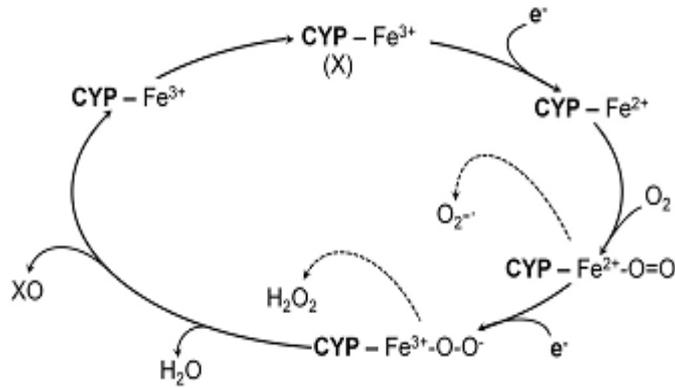


Figure.10. Génération des ROS par le Cytochrome P450 (CYP) ; les électrons du NADPH sont transférés au CYP activant ainsi l'oxygène moléculaire, qui est inséré dans le substrat(X). Toutefois, l'oxygène activé peut fuir de la voie normale et génère l'anion superoxyde ou le peroxyde d'hydrogène (Boelsterli, 2007).

IV.1.2. Sources exogènes

En plus de nombreux systèmes endogènes responsables de la production des espèces réactives d'oxygène (ROS), il existe de nombreuses sources exogènes contribuant à cette production. Il s'agit principalement des rayonnements électromagnétiques (radiations ionisantes, rayons ultraviolets) (Krumova et Cosa, 2016), mais aussi des composés xénobiotiques environnementaux tels que les dérivés aromatiques et les PCBs (Van der Oost et al., 2003), les HAPs (Nogueira et al., 2011), les pesticides (Stara et al., 2012) et certains métaux de transitions (Peña-Llopis et al., 2003; Radwan et al., 2010).

IV.2. Espèces réactives de l'oxygène et pollution

Les effets toxiques de nombreux contaminants environnementaux (ou leurs métabolites) sur les organismes aquatiques sont souvent associés à une production accrue des espèces réactives d'oxygène (ROS) conduisant à un dommage oxydatif (Van derOost et al., 2003; Ferreira et al., 2005; Viarengo et al., 2007).

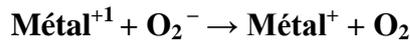
IV.2.1. Génération des ROS par les éléments traces métalliques

Les éléments traces métalliques sont considérés parmi les différentes classes des polluants de l'environnement responsables des effets nocifs sur les organismes à travers la génération des espèces réactives de l'oxygène, à cause de leur capacité à perdre des électrons (Figure. 11) (Radwan et al., 2010; Oliva et al., 2012b). En effet, les métaux de transition

tels que le Fe, le Cu, le Cr, le Cd et le Pb peuvent catalyser la réaction Fenton (**Jomova et Valko, 2011**), dans laquelle un ion métallique peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ selon la réaction suivante (**Lackner, 1998.**) :



Les m\u00e9taux lourds peuvent aussi g\u00e9n\u00e9rer les esp\u00e8ces r\u00e9actives de l'oxyg\u00e8ne par le biais de la r\u00e9action d'Haber-Weiss. Ainsi, un m\u00e9tal oxyd\u00e9 est r\u00e9duit par l'O₂ puis r\u00e9agit avec H₂O₂ pour produire le radical \u00b0OH selon les r\u00e9actions suivantes :



En plus des r\u00e9actions de fenton et de Haber-Weiss, certains m\u00e9taux lourds comme le Cadmium (Cd), l'arsenic (As) et le plomb (Pb) peuvent contribuer indirectement \u00e0 la production des ROS en r\u00e9agissant avec les groupes SH du glutathion et les d\u00e9fenses antioxydantes enzymatiques (**Gavri\u00e7 et al., 2017**).

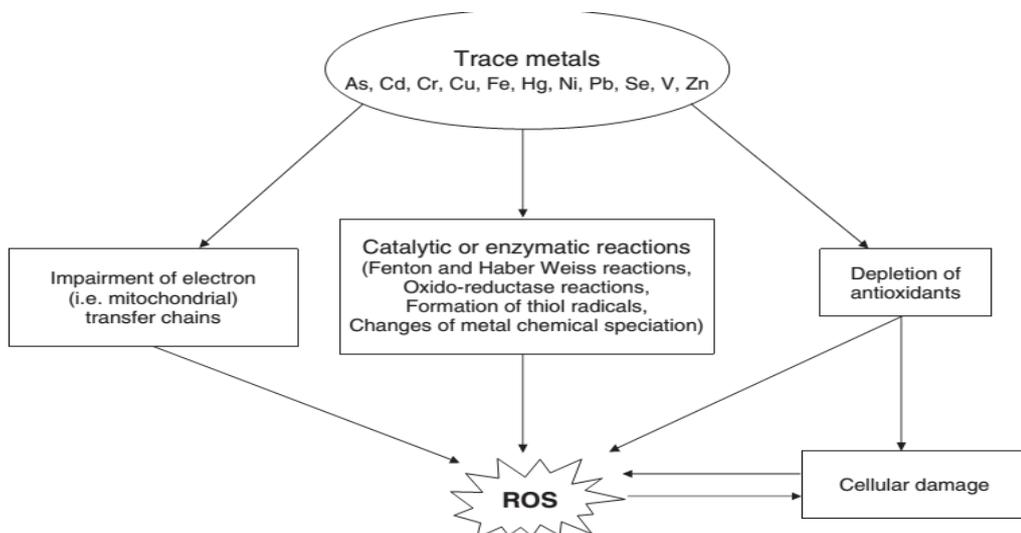


Figure.11. G\u00e9n\u00e9ration des esp\u00e8ces r\u00e9actives de l'oxyg\u00e8ne par les \u00e9l\u00e9ments traces m\u00e9talliques

IV.2.2. G\u00e9n\u00e9ration des ROS par les polluants organiques persistants

Les contaminants organiques persistants tels que les PCBs (**van derOost**), les HAPs (**Nogueira et al., 2011**), les pesticides (**Stara et al., 2012**) et les dioxines (**Jin et al., 2008**) sont responsables de la production des ROS. Plusieurs m\u00e9canismes incluant l'induction du Cytochrome P450 sont impliqu\u00e9s dans cette production (**Figure.12**) (**Stegeman et Lech,**

1991; Hampel et al., 2016). En effet, les xénobiotiques peuvent se lier au cytochrome P450 et favoriser la réduction du fer du groupe hème par une chaîne de transport d'électrons se terminant par le NADPH-cytochrome P450 réductase. La réaction avec l'oxygène donne un second électron au complexe cytochrome P450-substrat en produisant donc l'anion superoxyde. Ce processus est généralement très rapide, mais certains produits chimiques, en raison d'une oxydation lente, peuvent entraîner une fuite des électrons et peuvent augmenter considérablement la production des ROS (**Schlezingner et al., 2006**). Pour certains produits chimiques, comme le benzo [a] pyrène, les espèces réactives sont le produit final du processus de biotransformation (**Regoli et al., 2011**).

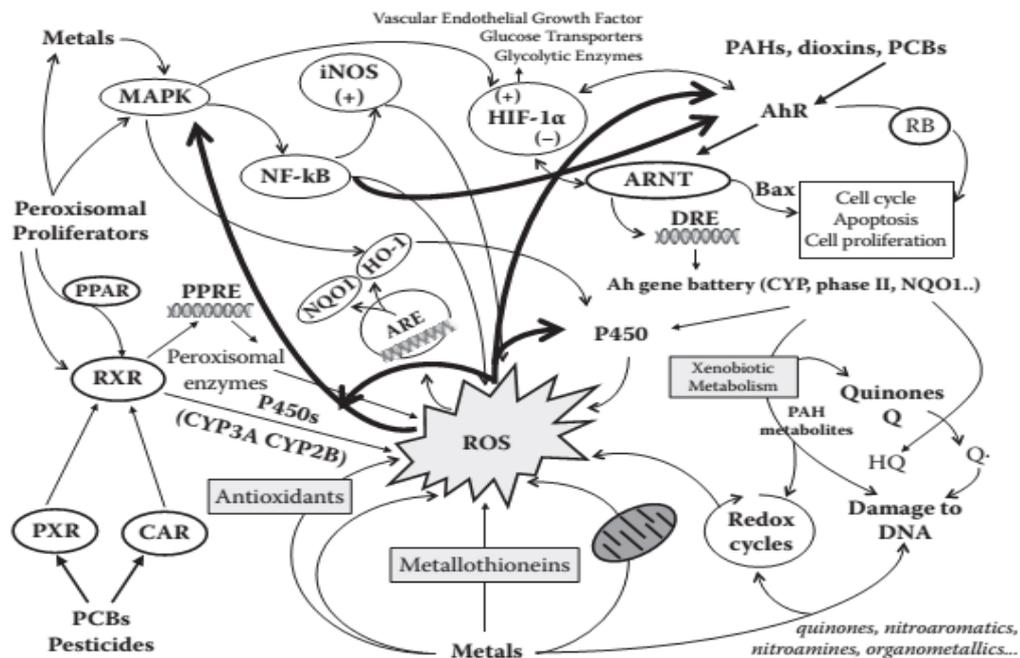


Figure.12. les principales interactions oxydatives entre différentes classes des polluants chimiques. ROS: espèces réactives d'oxygène; HAPs; Hydrocarbures aromatiques polycycliques; PCB: biphényles polychlorés; AhR: le récepteur aryle des hydrocarbures ; ARNT: translocateur nucléaire du récepteur aryle hydrocarbures; DRE: élément sensible au dioxines; NQO1: NADPH-quinone réductase1; P450: cytochrome P450; RB: protéine de rétinoblastome; HIF^{1α}: facteur inductible par l'hypoxie 1α; SON: élément anti-oxydant-sensible; HO⁻¹: hème oxygénase 1; PPAR: récepteur activé par le proliférateur peroxysomal; PPRE: élément sensible aux proliférateurs peroxysomaux; RXR: récepteur rétinoïde X; PXR: récepteur de la pregnane X; CAR: récepteur constitutivement actif; MAPK: protéines kinases activées par des mitogènes; NF-kB: facteur nucléaire-kB; INOS: synthèse d'oxyde nitrique inducible hydrocarbures (**Regoli et al., 2011**).

La production des espèces réactives de l'oxygène peut aussi augmenté pendant le cycle redox. En effet, les xénobiotiques tels que les métabolites des HAPs, les quinones, les nitroaromatiques, les nitrosamines peuvent être réduits par une réductase ou un réducteur tel que le NADPH. Les radicaux intermédiaires formés peuvent provoquer une toxicité en réagissant avec l'oxygène pour produire l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) et régénérer les composés parents. Ces dernier peuvent alors passer par un autre cycle des réactions cycliques qui conduisent à la génération d'une grande quantité des ROS et à la consommation de NADPH (**Lackner, 1998**).

IV.3. Système antioxydant

Pour prévenir les effets indésirables des espèces réactives de l'oxygènes (ROS) (P. Ex., changements dans l'équilibre redox, l'inactivation enzymatique et la peroxydation lipidique...etc.), les organismes aquatiques ont développé des mécanismes de défense en activant leur système antioxydant enzymatique (tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) et non enzymatique (tels que les composés de faible poids moléculaire comme le glutathion, les vitamines A, C et E et l'acide urique) (**Figure. 12**). Ces derniers jouent un rôle important dans la neutralisation des ROS et peuvent être utilisés comme de très sensibles biomarqueurs de la pollution de l'eau (**Van der Oost et al., 2003; Regoli et al., 2011; Stepi et al., 2012; Rudneva, 2014; Hampel et al., 2016**).

Dans les écosystèmes aquatiques, le système antioxydant des poissons est influencé par plusieurs facteurs abiotiques (comme l'oxygène dissous, la température et la salinité) (**Van der Oost et al., 2003**) et biotiques tels que les conditions d'alimentation, le régime alimentaire et la période de reproduction (**Martinez-Alvarez et al., 2005**), mais aussi par des facteurs génétiques (**Regoli et al., 2011**).

IV.3.1. Système antioxydant non enzymatique

Plusieurs molécules sont impliquées dans la défense antioxydante. Certains d'entre elles comme le glutathion sont des composés endogènes. D'autres sont des dérivées des aliments, il s'agit notamment des oligoéléments et des vitamines tels que la b-carotène, la vitamine B, la vitamine C (ascorbate), la vitamine E (a-tocopherol) et l'ubiquinol 10 (**Viarengo et al., 2007; Ruas et al., 2008 ; Nikinmaa, 2014**).

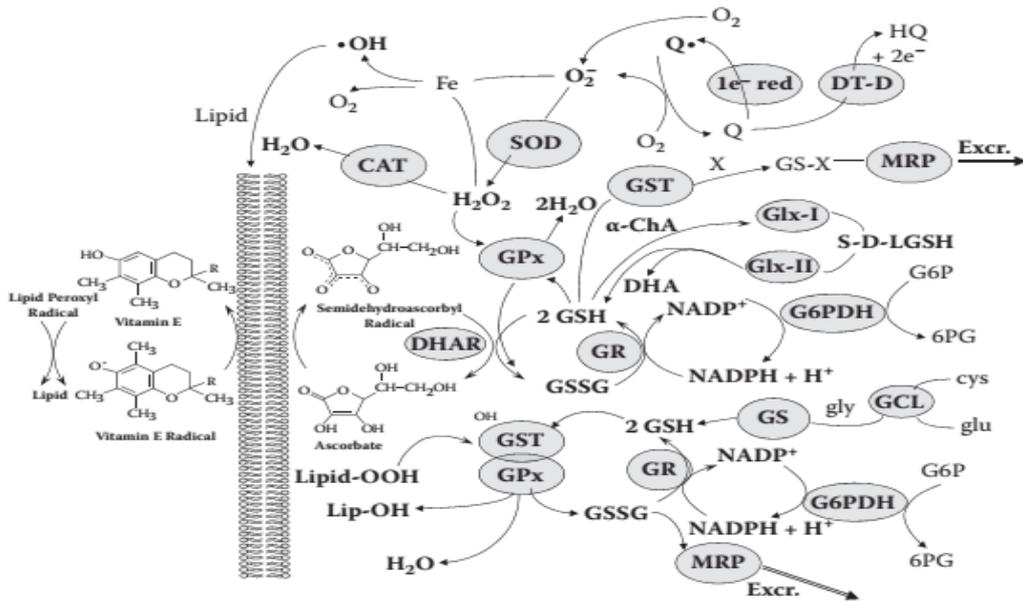


Figure 13. Principales voies enzymatique et non enzymatique de défense antioxydante cellulaire. CAT: catalase; SOD: superoxyde dismutase; GPx: glutathion peroxydases; GR: glutathion réductase; GSH: glutathion réduit; GSSG: glutathion oxydé; GST: la glutathion S-transférase; X: xénobiotiques; Q: quinone; MRP: la protéine apparentée à-multi résistance; DHAR: réductase déshydroascorbate; G6PDH: glucose 6-phosphate déshydrogénase; G6P: glucose-6-phosphate; 6PG: 6-phosphogluconate; GCL: γ -glutamylcystéine synthétase; GS: glutathion synthétase; GLX-I: glyoxalase I; GLX-II: Gly- oxalase II; α -cha: aldéhydes alpha-céto; S-D-LGSH: S-D-lactoylglutathione; DHA: d-hydroxy acide (Regoli et al., 2011).

Le glutathion réduit (GSH) est un tri peptide constitué de (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine). Sa concentration intracellulaire est importante, elle est de l'ordre de millimolaire (Van der Oost et al., 2003 ; Di Giulio et Meyer, 2008). Il est considéré comme l'un des plus importants agents antioxydants impliqué dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène (Van der Oost et al., 2003), soit directement en agissant comme un piègeur des ROS tels que l'anion super oxyde, le radical hydroxyle et les espèces réactives d'azote, soit indirectement en agissant comme un cofacteur de nombreuses enzymes et principalement la GST et la GPX catalysant la détoxification et l'excrétion d'un grand nombre des composés toxiques (Nordberg et Arnér, 2001; Elia et al., 2006). Le glutathion se trouve généralement en grandes quantités dans les organes exposés aux xénobiotiques particulièrement dans le rein, le foie, les poumons (ou les branchies chez les organismes aquatiques) et l'intestin. Un faible niveau du stress oxydatif peut induire une augmentation de la synthèse de GSH (mécanisme adaptatif), tandis qu'un stress oxydatif sévère peut provoquer

l'oxydation du glutathion réduit (GSH) au glutathion oxydé GSSG et réduit sa concentration dans la cellule (Elia et al., 2006 ; Stoliar et Lushchak, 2012).

IV.3.2. Système antioxydant enzymatique

En plus du système antioxydant non enzymatique, les cellules sont disposées d'un système antioxydant enzymatique qui joue un rôle important dans l'inactivation des espèces réactives de l'oxygène et le contrôle du stress oxydatif (Rudneva, 2014). Ce système fait intervenir plusieurs enzymes dont les plus importantes sont : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx), mais aussi la glutathion réductase (GR) (Van der Oost et al., 2003 ; Nikinmaa, 2014).

a. Superoxyde dismutases (SOD)

Les superoxyde -dismutases (SOD) constituent un groupe de métalloenzymes jouant un rôle antioxydant important dans les cellules. Elles catalysent les réactions de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène en évitant la formation des dérivés plus toxiques comme la peroxynitrite (ONOO⁻) ou le radical hydroxyle (HO[•]) (Figure. 13) (Nordberget Arnér, 2001; Afonso et al., 2007 ; Miyamoto et al., 2010).

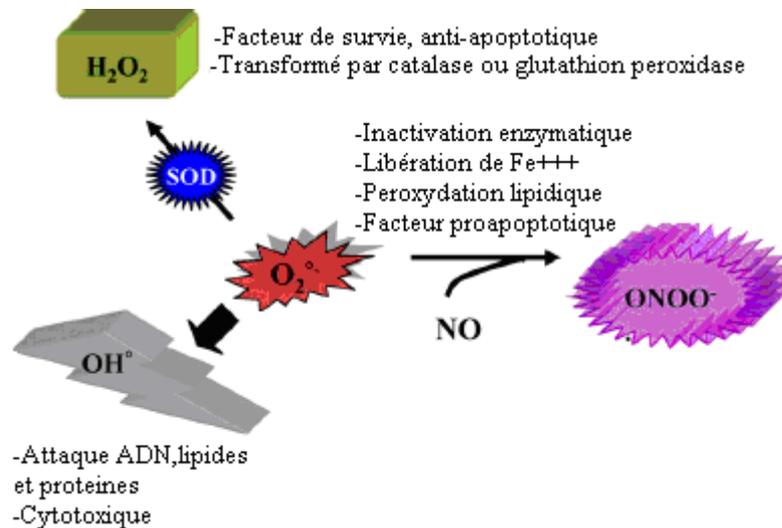


Figure .14. Dismutation de l'anion superoxyde par les SODs (Afonso et al., 2007)

Les SODs se trouvent dans les cellules sous quatre isoformes selon le cofacteur métallique et la localisation cellulaire. Il s'agit de la SOD de cuivre/zinc (Cu/ZnSOD), la SOD de manganèse (MnSOD), la SOD de fer (FeSOD) et de la SOD du nickel (Zeinali et al., 2015). D'une manière générale, la Cu/ZnSOD et la MnSOD sont localisés respectivement dans le cytoplasme et la matrice mitochondriale. La Cu/ZnSOD sert à neutraliser les radicaux

dans l'environnement intracellulaire tandis que MnSOD joue un rôle antioxydant important dans les mitochondries (Wang et al., 2016).

b. Catalase (CAT)

La catalase, située dans les peroxysomes, est un antioxydant intracellulaire impliqué dans le système de défense contre les effets potentiellement nocifs des ROS générés par une grande variété des réactions biologiques ou par la pollution environnementale. Elle catalyse l'élimination du peroxyde d'hydrogène (Dellali et al., 2001; Van der Oost et al., 2003; David et al., 2008). Ainsi, l'augmentation de l'activité de la catalase a été observée chez les poissons exposés aux polluants organiques comme les HAPs et les PCBs (van der Oost et al., 2003). Toutefois, les travaux effectués sur les biomarqueurs du stress oxydant au laboratoire et surtout *in situ* montrent que le caractère aspécifique de leurs réponses constitue un avantage comme un indicateur de pollution mixte (Dellali et al., 2001).

c. Glutathion peroxydase (GPX)

Les glutathion-peroxydases sont des enzymes antioxydantes qui jouent un rôle central, non seulement dans le mécanisme d'élimination de l' H_2O_2 et des lipides peroxydés, mais aussi en protégeant les membranes contre les dommages causés par les LPOX (Van der Oost et al., 2003; Di Giulio et Meyer, 2008). Les glutathion-peroxydases (GPx) utilisent le GSH comme source d'électrons pour catalyser la réduction de H_2O_2 en H_2O et la réduction des hydroperoxydes lipidiques en alcools, avec l'oxydation du GSH en GSSG (Regoli et al., 2011; Hampel et al., 2016).

d. Glutathion réductase

La glutathion réductase (GR) est une flavoenzyme répandue dans les tissus, C'est une enzyme dépendante du NADPH et catalyse la réduction de GSSG au GSH (Eriyamremu et al., 2008; Regoli et al., 2011; Couto et al., 2016). Bien que la Glutathion réductase (GR) ne puisse être impliquée directement dans la défense antioxydante enzymatique décrite précédemment, elle mérite néanmoins une attention particulière à cause de son importance dans le maintien de l'homéostasie GSH/GSSG dans des conditions de stress oxydatif dans les organismes aquatiques (Winston et Di Giulio, 1991; Regoli et al., 2011).

Dans les poissons, les réponses de l'activité du glutathion réductase aux polluants ont reçu peu d'attention. En effet, une augmentation de l'activité GR a été observée chez les poissons exposés aux PCBs, aux HAPs, aux DDEs et aux aliments contaminés par l'HCB mais aussi chez les poissons provenant des sites contaminés par une mixture des polluants (VanderOost et al., 2003).

IV.4. Dommages oxydatifs

Dans les organismes aquatiques, à cause de la production excessive des ROS (dû aux phénomènes naturels comme l'augmentation brusque du taux de l'oxygène dissous, mais surtout aux phénomènes anthropiques tel que la présence des xénobiotiques), la capacité antioxydante cellulaire peut être dépassée et les ROS peuvent ensuite réagir avec les composants cellulaires tels que les lipides, les protéines et l'ADN et peuvent déclencher leur oxydation (**Figure. 15**) (**Di Giulio et Meyer, 2008; Nikinmaa, 2014**). Les conséquences biologiques de cette oxydation peuvent varier d'une modification modérée du statut redox, une peroxydation des lipides et des dégâts génétiques jusqu'à la perte de l'intégrité de la fonction de la cellule voir la mort cellulaire programmée (**Oliveira et al., 2010; Rudneva, 2014, Nikinmaa, 2014**).

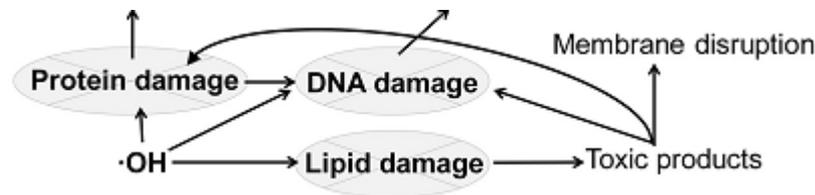


Figure 15. Les dégâts oxydatifs (**Regoli et al., 2011**).

Dans la présente thèse nous nous sommes intéressés à la peroxydation lipidique ou l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Cette dernière est considérée comme une conséquence très importante du stress oxydant (**Huang et al., 2007; Al-Ghanim, 2014**). En effet, les espèces réactives de l'oxygène générées dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAP, PCB, HCB, pesticides) et inorganiques (métaux lourds) attaquent des lipides polyinsaturés, qui sont considérés comme d'excellentes cibles des ROS en raison de leurs multiples doubles liaisons, en produisant ainsi un produit intermédiaire le Malon dialdéhyde (MDA) un métabolite réactif toxique (**Nordberg et Arnér, 2001; Ferreira et al., 2005; Solé et al., 2006; Montserrat Solé et al., 2008**). Ce produit peut affecter la fluidité des membranes et l'intégrité des autres biomolécules associées tels que les protéines et les acide nucléiques (**Lackner, 1998; DiGiulio et Meyer, 2008; Hampel et al., 2016**).

La peroxydation lipidique est considérée comme un puissant biomarqueur de stress oxydatif pour évaluer l'exposition des poissons aux contaminants de l'environnement. En effet, les poissons contiennent des quantités élevées d'acides gras polyinsaturés qui sont considérées comme des cibles privilégiées de l'oxydation (**Assis de Silva et Mela, 2014**).

V. Acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine en acétate et en choline (**Menéndez-Helman et al., 2015**). L'acétylcholine est l'un des plus importants des neurotransmetteurs dans le système nerveux central ou périphérique (**Parente et Hauser-davis, 2014**). En effet, au niveau des jonctions neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique l'acétylcholine qui permet la transmission de l'influx nerveux. Ensuite l'acétylcholinestérase intervient en inactivant l'acétylcholine ce qui permet au système de revenir immédiatement à son état de repos (**Figure 16**) (**Burgeot et Bessinetton, 1999 ; York, 2011**).

L'inhibition de l'acétylcholinestérase par de nombreuses substances neurotoxiques conduit à une accumulation dans l'espace synaptique de l'acétylcholine qui reste fixée au récepteur (**Figure.16**) et de ce fait, maintient la dépolarisation de la membrane et par conséquent l'ensemble de la membrane post-synaptique se dépolarise et la synapse s'en trouve bloquée. Ce qui peut entraîner des tremblements rapides des muscles, une paralysie, une insuffisance respiratoire voir la mort (**Press, 2002; Menezes et al., 2010; Walker et al., 2012; Tierney et al., 2014**).

Dans les poissons, l'activité de l'acétylcholinestérase a été largement utilisée comme biomarqueur d'exposition au pesticides notamment aux carbamates et aux organophosphorés (**Payne et al., 1996; De la Torre et al., 2002; Lionetto et al., 2003; Golombieski et al., 2008; Chiang et al., 2012; Silva et al., 2013; Yildirim et al., 2014; Menéndez-Helman et al., 2015**). Cependant nombreuses études ont montré que cette activité peut être affectée par une large gamme de contaminants autres que les pesticides, y compris les métaux lourds, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les détergents et les produits pharmaceutiques (**Garrigues, 2001; Lionetto et al., 2004; Wan et al., 2015**).

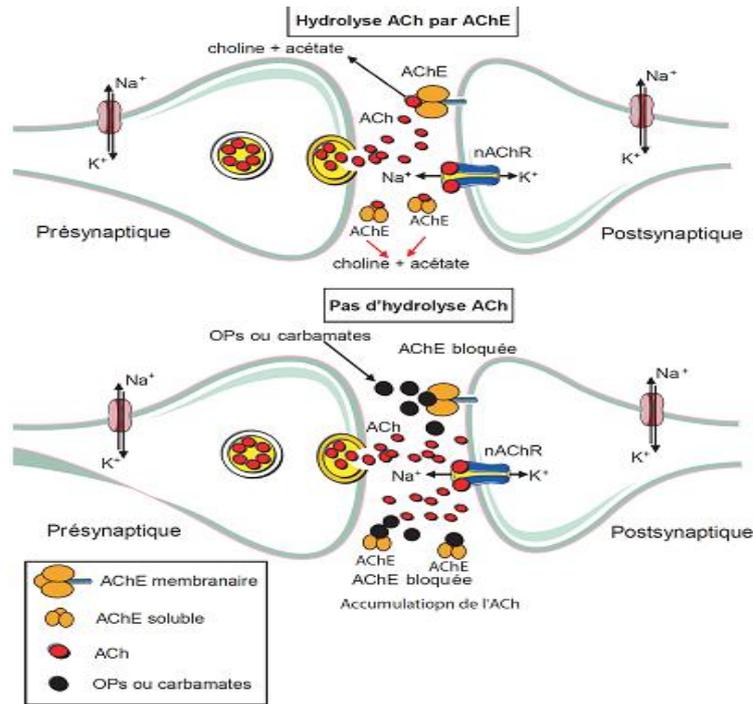


Figure.16. Inhibition de l'acétylcholinestérase (Mohamed, 2011)

VI. Présentation du barrage de Beni Haroun.

VI.1. Situation géographique et intérêt socio-économique du barrage

Cette étude a été réalisée dans le barrage de Beni Haroun, construit sur Oued Elkebir confluence entre oued Rhumel et Oued Endja, est situé au nord-ouest de la région d'Elgragem wilaya de Mila ($36^{\circ} 33' 18.55'' N$; $6^{\circ} 16' 10.93'' E$) à une quarantaine de kilomètres au nord de Constantine et une distance équivalente par rapport à l'embouchure de Oued Kebir (Mer Méditerranée) (Figure. 17). Il est considéré comme le plus grand barrage réalisé en Algérie avec une surface du lac estimée par $5,328\text{km}^2$ et une capacité de stockage d'environ $960 \cdot 10^6\text{m}^3$. En plus de son utilisation pour alimenter plus de quatre millions habitants réparties sur 6 wilayas de l'Est Algérien (Mila, Constantine, Oum Elbouaghi, Jijel, Batena et Khenchela), et l'irrigation de $40,000$ hectares des terres agricoles, le barrage de Beni Haroun est considéré comme une source importante des poissons d'eaux douces. Le bassin versant du barrage qui est estimé à 7725 Km^2 , est caractérisé par une forte activité agricole telles que la culture des céréales, des fourrages et des cultures maraîchères (ANBT, 2014).



Figure 17 : image en 3D du barrage Beni Haroun

VI.2. Hydrographie de la région d'étude

La région de Beni Haroun se trouve au sein du bassin versant Rhumel-Kebir qui se caractérise par un réseau hydrographique assez dense formé essentiellement de deux grandes sous bassin.

Le sous bassin de Rhumel (170 km), drainant une superficie de **5315** Km², prend sa source vers 1160 m dans les marges méridionales du tell, au nord-ouest de Blaa, il traverse les hautes plaines constantinoises, avec une orientation sud-ouest, nord est jusqu'à Constantine. Là il change sa direction et tourne presque à un angle droit pour couler en oblique vers le nord-ouest et rejoindre Oued Endja aux environs de Sidi-Marouane. Le long de son chemin, Oued Rhumel collecte quelques affluents entre autres : Oued Derki, Oued Athménia, Oued Seguin, Oued Bou-Merzoug, Oued Smendou et Oued El-Ktone.

Le sous bassin d'Oued Endja (140 Km) drainant une superficie de **2160** Km² a sa source à proximité de Douar Tassadane situé au nord-ouest de Ferdjioua. Il suit une direction sud-ouest à travers les reliefs montagneux du Tell. Cet Oued voit grossir son débit régulièrement par l'intermédiaire des affluents de Oued Bouslah, Oued Rama et Oueds (Redjas, Melah et Kebir) (**Mebarki, 1984**).

VI.3.Contexte géologique :

Le bassin versant Kebir-Rhumel est composé de domaines géologiques très différents (**Figure 18**): le domaine des plaines plio-quaternaires et des horsts calcaires (Hautes Plaines), le bassin néogène à dominance argileuse de Constantine-Mila, le domaine des nappes« Tectoniques » de Djemila (marnes et calcaires-marneux), la dorsale kabyle (calcaires Jurassiques) et les massifs gréseux numidiens et enfin le domaine du socle granitique et Cristalloyllien de la petite Kabylie d'El Milia (**Mebarki, 2005**).

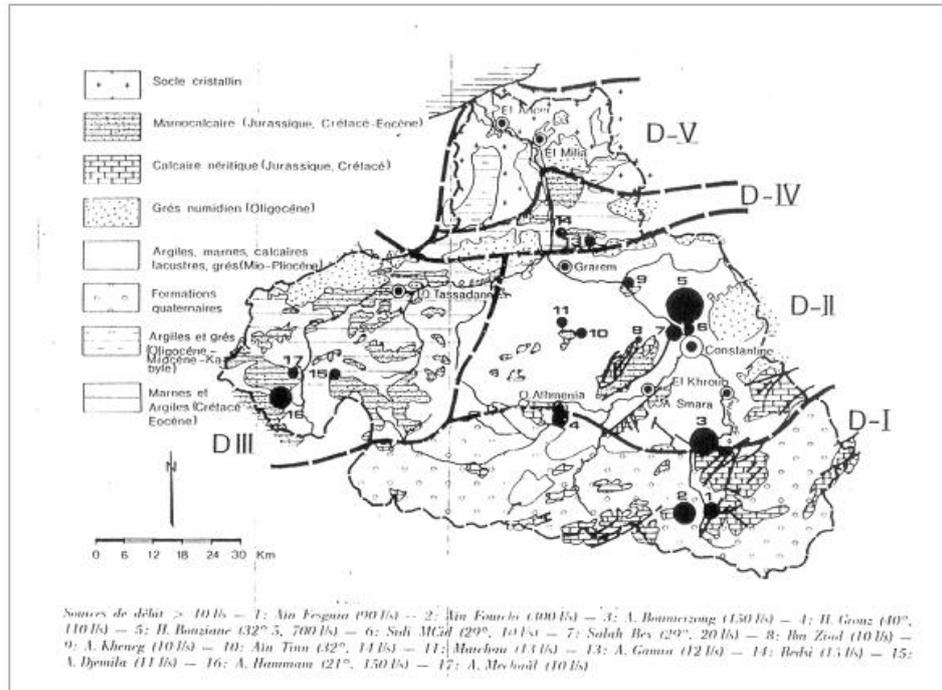


Figure.18. Les grands domaines hydrogéologiques du Kébir-Rhumel (Mebarki et Thomas, 1988).

VI.4. Climatologie

La connaissance des conditions climatiques de notre zone d'étude et de ses caractéristiques va nous permettre de mieux comprendre l'évolution des polluants et leur comportement dans les eaux de surface et les sédiments.

VI.4.1. Température

La température est un facteur écologique de première importance qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques (Ramade, 1993).

Dans notre zone d'étude, les moyennes mensuelles les plus élevées de la température sont observées particulièrement durant la période d'été (Juin –Septembre) avec des valeurs variant de 22,31 à 26,38 °C avec un maximum observé au mois de Juillet. Par contre les températures les plus basses, de 7,71 à 12,21 °C, sont observées pendant la période d'hiver (Novembre à Mars) avec un minimum signalé pendant le mois de Février 7,71 °C. Les autres mois présentent des températures intermédiaires (13,52 à 17,92 °C) (Tableau.5).

Tableau 5. Les températures moyennes mensuelles du bassin du barrage de Beni Haroun (2007-2016) (Station météorologique AN BT. BH, 2017).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec
T moy(C)	7.9	7.7	9.8	13.5	17.28	22.3	26.3	26.2	22.2	17.9	12.3	8.6

VI.4.2.Précipitations

La pluie est un facteur climatique très important qui conditionne l'écoulement saisonnier et influence directement le régime des cours d'eau. La région d'étude est considérée parmi les régions arrosées dans l'Algérie avec une moyenne de l'ordre de **503.29 mm/an**. Les précipitations sont également variables et irrégulières d'une année à l'autre. Les précipitations maximales sont marquées au mois de Décembre avec 101,51 mm, alors que le mois le plus sec est celui de Juillet avec un taux de précipitations de l'ordre de 1.00 mm (**Tableau. 06**).

Tableau 6. Les Valeurs moyennes mensuelles des pluviométries du bassin de Beni Haroun (2007-2016) (station météorologique ANBT.BH,2017)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec
P(mm)	84.7	65.4	80.9	44.6	30.1	6.9	1.0	5.5	37.9	39.1	78.4	101,51

IVI.4.3. Diagramme Ombro-thermique

L'analyse des deux paramètres climatique (P et T) permet de tracer le courbe ombro-thermique de Gausсен, selon l'échelle ($P=2T$) qui met en évidence deux périodes : l'une sèche de 120 jours, elle s'étale de début du mois de Mai jusqu'au début de mois d'Octobre et l'autre humide de 240 jours, s'étale du mois d'Octobre au mois de Mai (**Figure. 19**).

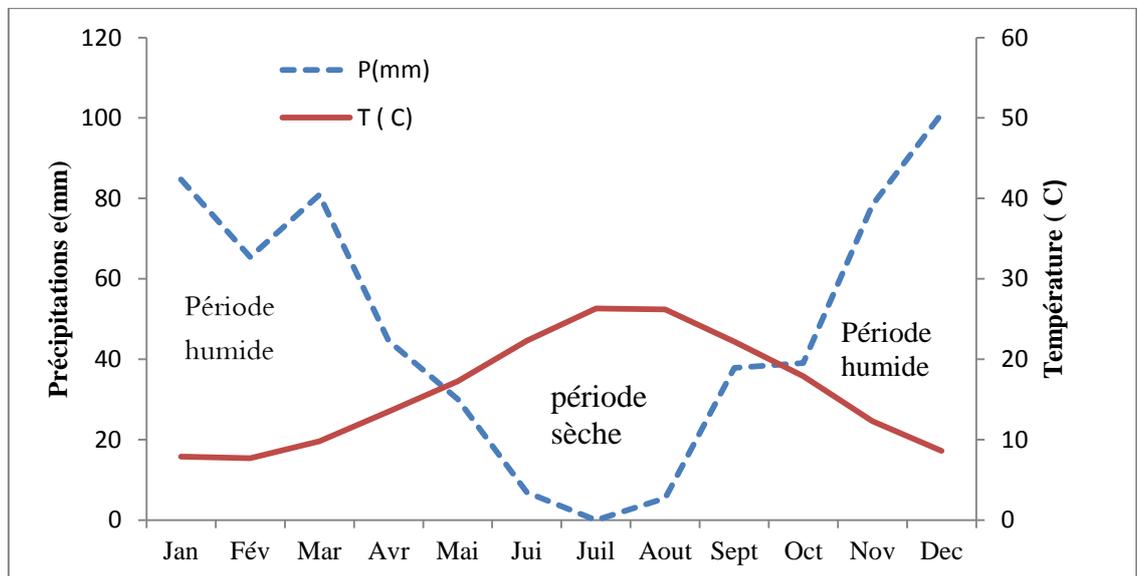


Figure. 19. Diagramme Ombrothermique de Beni Haroun (2003-2016).

VI 1.5. Sources de pollutions

VI.5.1. Décharges publiques

Les décharges sauvages qui se trouvent dans la quasi-totalité des communes, dont les plus importantes sont celle de Ferdjioua, de Chelghoum Laïd et de Mila. Elles reçoivent respectivement en moyenne 10, 30 et 40 t de déchets domestiques par jour. Étant donné que tous les déchets urbains de toutes les villes et agglomérations sont rejetés dans des décharges non contrôlées situées dans le bassin versant du barrage de Beni Haroun. Durant la période hivernale caractérisée par des fortes précipitations des lexiviats peuvent être formés et véhiculés vers le lac du barrage via les ruissellements et contribuent donc à sa contamination par les différentes substances toxiques existantes dans les décharges.

VI.5.2. Eaux usées domestiques

La totalité des eaux usées des agglomérations longeant le bassin versant Kebir Rhumel sont rejetées dans Oued Rhumel et Oued Kébir, les deux principaux Oueds alimentant le barrage de Beni Haroun.

De Belaâ (dans la région de Bir El Arch) où il prend naissance, en passant par Tadjenanet, Oued Seguène, Constantine, Mila et Grarem, Oued Rhumel transporte dans son passage des eaux usées qu'il achemine vers le lac du barrage de Beni Haroun. Les eaux usées de Constantine sont canalisées vers la station d'épuration (STEP) située à Ibn Ziad. Cette dernière a une capacité de fonction de 50 à 60%.

Le second Oued alimentant le lac du barrage, soit Oued Kébir, traverse toutes les communes de Ferdjioua, Ahmed Rachedi, Redjas, Zeghaïa et Sidi Merouane pour transporter les eaux usées vers le lac du barrage en affectant de ce fait la qualité de ses eaux (**Mebarki, 2005**).

VI.5.3. Eaux usées industrielles

Les effluents les plus importants sont localisés dans la ville de Constantine. Il s'agit des rejets (en partie traités) des industries de construction mécanique de Oued Hamimime et d'Ain Smara ainsi que ceux produits par les unités de textiles et de produits laitiers de Constantine, par le complexe tabagique et le dépôt d'hydrocarbures d'El Khroub, par la cimenterie du Hamma, par les unités de matériaux de construction et autres P.M.I. Ils ont été rejetés dans Oued Rhumel et son principal affluent, Oued Bou Merzoug.

Les industries localisées autour des agglomérations d'Ain El Kébir (cimenterie, unité boulonnerie), de Mila (briqueterie, vaissellerie) de Ferdjioua (matériel électroménager, minoterie) et de Chelghoum Laid (détergents) produisent également des rejets non négligeables (**Mebarki, 2005**).

En plus de sources industrielles de pollution du lac du barrage évoqués ci-dessus. Il est important de souligner la présence de plusieurs unités de transformations de plastique, mais surtout les unités clandestines de recyclage des batteries des automobiles qui se trouvent un peu partout dans le bassin versant du barrage de Beni Haroun. Ces dernières peuvent présenter une source non négligeable de la pollution du barrage par les différentes substances chimiques toxiques notamment les métaux lourds et certains polluants organiques persistants.

VI.5.4. Agriculture

La forte activité agricole qui se développe dans le bassin versant du barrage de Beni Haroun (la superficie agricole représente 68 % de la surface totale) est susceptible d'entraîner de nombreux polluants (métaux lourds, éléments nutritifs et pesticides...etc.) vers la retenue du barrage Beni Haroun à cause de l'utilisation intensive des engrais chimiques et des pesticides.

Matériel et méthodes

I. Prélèvement des échantillons.

I.1. Stations de prélèvement

Pour réaliser cette étude, trois stations ont été choisies en fonction des sources de pollution possibles et de l'accessibilité (**Figure. 23**). La première station est située au niveau de l'estuaire de Oued Rhumel (**RH**), cette station reçoit les eaux usées domestiques et industrielles (textile, les industries mécaniques, l'industrie du tabac, les dépôts des hydrocarbures et la cimenterie) de la ville de Constantine (avec une population totale d'environ 938475 habitants). La deuxième station est située au niveau de l'estuaire de Oued Endja (**EN**) elle sert d'exutoire aux eaux usées domestiques des communes de la partie ouest de la wilaya de Mila (avec une population de 766886 habitants). La troisième station (**BH**) est située au niveau de la cuvette du barrage à côté de la digue au-dessous du pont utilisé par des centaines des véhicules cette station recueille les eaux des deux stations précédentes.

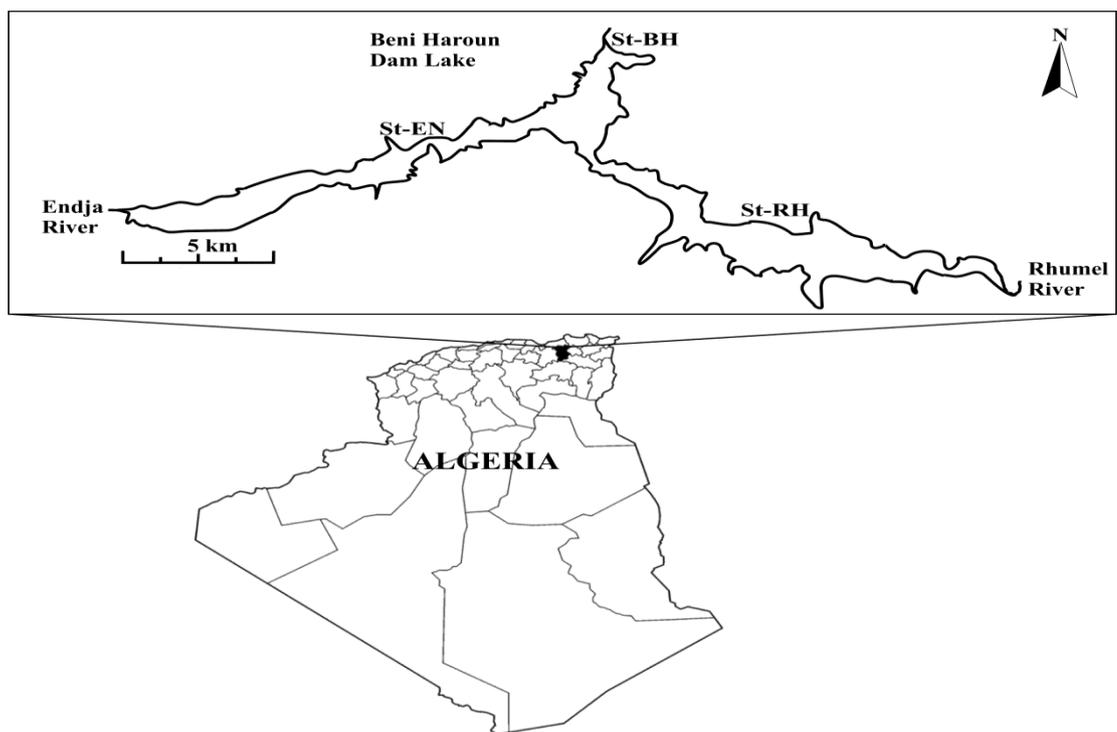


Figure. 23. Sites d'échantillonnage.

I.2. Prélèvement des eaux et des sédiments

Au niveau de chaque station (à raison de 3 échantillons par station), les échantillons des eaux et des sédiments superficiels destinés au dosage des métaux lourds et des polluants organiques persistants ont été collectés saisonnièrement durant la période allant du mois d'Avril 2011 jusqu'au mois d'Octobre 2014.

Les échantillons des sédiments utilisés dans les bio-essais (Au total 45 échantillons des sédiments à raison de trois échantillons par station et par campagne d'échantillonnage) ont été

prélevés saisonnièrement durant cinq campagnes d'échantillonnage (Mars 2015, Mai 2015, Août 2015, Octobre 2015 et Janvier 2016),

Après les prélèvements, les échantillons ont été stockés dans des flacons en verre, ou en polyéthylène (préalablement nettoyés comme était décrit dans l'annexe I) et transportés au laboratoire à une température de 4 °C et conservés dans un congélateur à -25 °C.

I.3.Prélèvement des poissons

Tous les poissons ont été prélevés par des pêcheurs en utilisant un filet de pêche. Ainsi, les spécimens de l'espèce *cyprinus carpio* (79 individus matures) ont été prélevés entre Mars et Octobre 2014 (Mars, Mai, Juin et Octobre). Par raiilleur, les espèces *Abramis brama* (60 spécimen) et *Barbus Callensis* (87 spécimens) ont été capturés respectivement entre Mars et Octobre 2015 (Mars, Mai, Août et Octobre) et entre Mars 2015 et Janvier 2016 (Mars, Mai, Août 2015, Octobre 2015 et Janvier 2016).

Tous les poissons utilisés dans cette étude appartiennent à la famille des cyprinidés, la plus grande famille des poissons téléostéens des eaux douces dans le monde. Cette famille regroupe au moins 1700 espèces et plus de 200 genres (**Dajet, 1994; Garner, 1997, Chen et Mayden, 2009**). Les populations naturelles des cyprinidés sont largement distribuées dans la plupart des rivières, des lacs et des étangs d'eau douce en Eurasie, en Afrique et en Amérique du nord sous climats tempérés et subtropicales (**Mills, 1991; Blázquez et al., 1998; Cunha et al., 2002**). Il peuvent tolérer les grandes variations des facteurs environnementaux comme la température, le pH, la salinité et l'oxygène dissous (**Hoole et al., 2001; Hampel et al., 2016**). Les Cyprinidés sont considérées comme proie d'autres animaux et sont largement connus dans l'aquaculture et dans les laboratoires de recherche (**Mills, 1991**).

Dans cette étude, le choix est porté sur les espèces *Abramis brama*, *Barbus callensis* et *Cyrinus carpio* comme espèces sentinelles puisque elles répondent à plusieurs critères de sélection, elles sont abondantes, faciles à échantillonner, présentes toute l'année, suffisamment grosses, robustes et tolérantes contre la majorité des contaminants. Ces caractéristiques en font des excellentes espèces sentinelles pour évaluer la qualité de l'environnement aquatique.

I.3.1. Brème commune (*Abramis brama* Linnaeus, 1758)

La brème (**Figure.20**) est une espèce d'origine Européenne qui a été introduite dans le barrage en 2006. C'est un poisson de couleur grise foncée, brune foncée à brune selon la clarté de l'eau. La brème est caractérisée par un corps très haut et latéralement comprimé avec un dos busqué, surtout chez les individus plus âgés, le corps est très visqueux et couvert par des grandes écailles cycliques fortes qui peuvent être utilisées pour la détermination de l'âge. La bouche est de petite taille et ne porte aucun barbillion mais s'avère utilement protractile

pour fouiller la vase. La nageoire anale est très longue et comporte 23-30 rayons mous. La nageoire dorsale est courte et insérée en arrière des nageoires pelviennes. La nageoire caudale est très échancrée et le lobe inférieur est plus long que le lobe supérieure (**Bruslé et Quignard, 2013; Gardner, 2013**).

La brème est une espèce omnivore, le régime alimentaire des adultes repose généralement sur la consommation des larves d'insectes (surtout des chironomies), des petits crustacés, des mollusques et des débris végétaux. Ils utilisent leur bouche protractile pour rechercher leur nourriture sur le fond et pour filtrer les aliments. Les alevins se nourrissent de zooplancton jusqu'à la taille de 7,5 cm (**Giles et al., 1990; Mills, 1991**).

La brème préfère les eaux chaudes, calmes et tranquilles des étangs, des lacs, des réservoirs, des canaux ou des rivières lentes. C'est un poisson grégaire qui peut former des bancs impressionnants (**Gardner, 2013**).

La maturité sexuelle est tardive en raison d'une croissance lente (5 à 7 ans). La ponte se déroule entre Avril et Juin, quand la température de l'eau atteint 15°C. La ponte est déposée en 2 ou 3 fois au cours de la saison en eau peu profonde (souvent le long des rives) sur des végétaux ou des racines. Pendant la période de reproduction, les mâles se caractérisent par un corps couvert de tubercules nuptiaux. Ils deviennent agressifs pour défendre leurs petits territoires fertiles (**Mills, 1991; Fredrich et al., , 2003; Bruslé et Quignard, 2013**).



Figure .20. La brème commune (*Abramis brama*).

I.3.2. Barbeau Algérien (*Barbus callensis* Valenciennes, 1842)

Le barbeau (*Barbus callensis*) (**Figure.21**) est le poisson le plus commun et le plus abondant des eaux continentales nord-africaines de l'Algérie, du Maroc et de la Tunisie (**Kadji et al., 2012**). C'est une espèce endémique à la partie nord du continent africain. Elle a été décrite la première fois dans le lac Calle (Eltaraf Algérie) dans la partie algérienne du bassin d'El Kebir, à la frontière avec la Tunisie (**Berrebi et al., 1995; Morsi et al., 2011**). Elle est caractérisée par un corps moins aplati ventralement, brun-jaunâtre à éclat métallique,

ventre argenté, museau allongé, lèvres charnues, 2 paires de barbillons, dents pharyngiennes réparties sur trois rangées: 4(5) +3+2. La nageoire pectorale est pointue, la ventrale est arrondie, la dorsale a un gros rayon dentelé, son bord est coupé carrément, la caudale est fourchue, l'anale est longue et grêle, sans atteindre cependant la base de la nageoire de la queue. Les écailles, à stries concentriques, sont au nombre de 40-46 sur la longueur et de 13 sur la hauteur. Les dents pharyngiennes sont courtes et grosses. La dorsale porte 4 rayons branchus, dont le dernier est épineux et denticulé, et 8 rayons mous. L'anale porte 3 rayons branchus et 5 mous. Sa taille varie entre 25-30 cm et peut atteindre 70-80 cm (**Chouachi et BenHassine, 1998; Cherghou et al., 2002**).

Le barbeau Algérien vie généralement dans les rivières, les lacs et les réservoirs (**Crivelli, 2004**). Il est omnivore, les adultes ont un spectre alimentaire qui est composé essentiellement des larves de diptères, d'éphéméroptères, de gamma rides et des matières végétales. Ce régime omnivore est caractérisé par une tendance zoophage (dominée par les insectes) chez les jeunes de moins de 13 cm de longueur et par une tendance phytophage chez les individus dépassant cette taille (**Azeroual, 2003; Cherghou et al., 2012**). Les femelles atteignent la maturité entre 5 et 6 ans. Les mâles entre 2 et 3ans (**Chouachi et BenHassine, 1998**). La fraie est printanière (Mai- Juin). Généralement, elle se produit quand la température de l'eau dépasse 15°C. Le taux de fécondité est très élevé chez cette espèce. Sa croissance est intimement liée aux conditions du milieu notamment la température (**Azeroual, 2003; Ould Rouis et al., 2012; Mimeche et al., 2013**).



Figure .21. Le barbeau Algérien (*Barbus callensis*)

I.3.3. Carpe commune (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)

L'espèce *Cyprinus carpio* (**Figure.22**) est introduite dans le barrage de Beni Haroun en 2003. Originnaire d'Asie (de la mer caspienne jusqu'au Danube), cette espèce fréquente deux biotopes; les milieux calmes peu profond et riche en végétation pour la croissance et le frais, et les eaux profondes pour l'hivernation (**Bruslé et Quignard, 2013**). Sur le plan morphologique, la carpe commune est caractérisée par une couleur brune sur le dos, dorée sur les flancs et jaune sur l'abdomen. Son corps est allongé un peu comprimé latéralement. La tête est nue, avec de tous petits yeux. La bouche est protractile et menue de 4 barbillons

(Azeroual, 2003). La nageoire dorsale est de forme concave antérieurement, sa base est longue avec 17-22 rayons ramifiés et solides et des épines dentées en avant. Nageoires anales avec 6-7 rayons mous; bord postérieur de la 3^{ème} épine des nageoires dorsale et anale avec des spinules. Ligne latérale avec 32 à 38 écailles (FAO, 2017).

Généralement, la taille de la carpe atteint 35 cm à l'âge de 4 ans pour 1 kg en poids, 60 cm et une dizaine de kilos à 15 ans, au maximum 1 m et 25 kg pour une longévité moyenne de 20 à 30 ans (Azeroual, 2003; Bruslé et Quignard, 2013).

La carpe commune peuple les cours moyens et inférieurs des rivières et des eaux peu profondes confinées, dans les bras morts des lacs et dans les eaux des réservoirs. La meilleure croissance est obtenue à la température de l'eau de 23 à 30°C (García-Berthou, 2001; Bruslé et Quignard, 2013). Cette espèce est grégaire, sédentaire, de mœurs plutôt nocturnes et benthique mais cherche sa nourriture dans les couches intermédiaires et supérieures de la colonne d'eau (FAO, 2017). Elle est photophobe sélectionnant les habitats à faible intensité lumineuse, avec des variations saisonnières. Elle recherche les habitats riches en végétation, conformément à un comportement phytophile (Attal et Arab, 2013).

La carpe commune est un poisson omnivore, à tendance carnée, Elle possède un large spectre alimentaire avec préférence de la nourriture benthique la plus disponible au moins effort. Elle s'alimente souvent des proies animales et végétales benthiques, mais aussi pélagique. Elle consomme généralement les insectes d'eau, les larves d'insectes, les vers, les mollusques et les zooplanctons. Elle est aussi planctophage: Elle consomme les tiges et les graines de plantes aquatiques et terrestres et les plantes aquatiques décomposées (García-Berthou, 2001; Bruslé et Quignard, 2013). Elle prélève sa nourriture en fouillant et aspirant le fond, mais aussi en gobant en surface et en broutant les végétaux (Azeroual, 2003; Flajshans et Hulata, 2006).

La reproduction se déroule dans une eau tranquille et peu profonde entre Mai et Juillet lorsque la température est supérieure à 15°C. La maturité sexuelle est atteinte au cours de la première année pour les mâles et la deuxième année pour les femelles dans les régions tropicales et au cours de 2ans pour les mâles et trois ans pour la femelle dans les régions tempérées chaudes (Bruslé et Quignard, 2013). La fécondité moyenne est de 100.000 œufs/Kg, les œufs sont collés grâce à leur mucus sur la végétation aquatique. La ponte a lieu vers le mois de mai, la femelle pond entre 50 000 et 100 000 œufs par livre de son poids, les œufs s'attachent aux plantes pour éclore 3 à 8 jours plus tard (Attal et Arab, 2013).



Figure.22. La carpe commune (*Cyprinus Carpio*)

II. Préparation des échantillons

II.1. Eau

Au laboratoire les échantillons de l'eau destinés au dosage des POPS ont été filtrés à 0,45 μm et stockés dans des flacons en verre dans un congélateur à -25, Tandis que les échantillons destinés au dosage des éléments traces métalliques ont été acidifiés, filtrés à 0.45 μm puis stockés dans un réfrigérateur à 4°C dans des flacons en polyéthylène.

II.2.Sédiments

Les échantillons destinés au dosage des POPS et des métaux lourds ont été séchés dans une étuve à 40 °C. Par ailleurs, ceux destinés aux bio-essais ont été séchés à -80 °C en utilisant un lyophilisateur. Après séchage tous les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier et tamisés à 2 mm pour obtenir un échantillon homogène, puis stockés à -25°C dans des boîtes en verre et/ou en polyéthylène ayant préalablement subit le schéma classique de conditionnement avant l'utilisation (annexe I).

II.3. Poissons

Les poissons ont été anesthésiés en utilisant du méthanesulfonate d'éthyl aminobenzoate (MS222) leurs poids et leurs longueurs sont mesurées. Après sacrifice, les tissus branchiaux, hépatiques et du cerveau ont été enlevés et soumis à un examen macroscopique pour détecter toute anomalie. Le poids du foie a été enregistré. Les tissus sont ensuite déposés dans la glace, transférés au laboratoire dans des boîtes à glace et conservés à -80 °C.

III Méthodes de mesure et d'analyse.

III.1. Approche physico-chimique

III.1.2. Caractérisation physico-chimiques des eaux et des sédiments

III.1.2.1.Eau.

Le suivi des paramètres physico-chimiques des eaux a été effectué selon les techniques décrites par **Rodier et al. (2005)**; la température, le pH, la conductivité électrique, et l'oxygène dissous ont été mesurés *in situ* immédiatement à la fin de chaque prélèvement à l'aide d'un multi paramètre portatif (consort C561).

III.1.2.2. Sédiments

Les caractéristiques physico-chimiques des sédiments ont été déterminées en se référant à **Mathieu et Pielain (1998; 2003)**. La texture a été déterminée selon la méthode internationale à la pipette de Robinson. Le pH et la conductivité électrique ont été mesurés selon la technique d'extrait aqueux. Le dosage de la matière organique a été réalisé par la méthode de Walkly et Blak modifiée. Enfin le calcaire total a été mesuré par la méthode volumétrique utilisant le calcimètre de Bernard.

II.1.2. Extraction et analyse des polluants organiques persistant

Le dosage des polluants organiques persistants a été effectué seulement dans les échantillons prélevés pendant la période humide 2011.

II.1.2. 1. Eau

Les échantillons de l'eau ont subis une extraction liquide-liquide. En bref, un échantillon de 500 ml d'eau a été extrait trois fois en utilisant une ampoule à décanter de 1L, à chaque fois 100 ml de dichlorométhane a été ajouté et le mélange a été agité durant 10 minutes. Après décantation, la phase organique a été récupérée. Les trois phases organiques obtenues sont ensuite réunies puis filtrées à travers un filtre contenant 30 g de sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau. L'extrait est enfin concentré par évaporation en utilisant un évaporateur rotatif (rotavap) puis l'extrait sec est dissout à nouveau dans 1 ml d'hexane de qualité CPG (**Kennedy et al., 1998**)

II.1.2. 2. Sédiments

Les résidus des polluants organiques dans les sédiments ont été extraits en utilisant le soxhlet selon la méthode décrite par (**Darko et al., 2008**). Ainsi, un poids de 15g des sédiments est mis dans une cartouche de soxhlet et un mélange d'acétone et de dichlorométhane (50/50) a été choisi pour l'extraction. L'échantillon des sédiments est extrait au Soxhlet pendant 08 heures. Afin de concentrer les polluants organiques, l'extrait est évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif (rotavap). Les résidus ont été repris dans 1,5 ml d'hexane et gardés dans de petits flacons en verre pour l'analyse par GC/MS.

II.1.2. 2. Analyse des polluants organiques persistant

L'analyse des composés organiques dans les extraits des eaux et des sédiments a été effectué par un chromatographe en phase gazeuse de type QP 2010 SHIMADZU, équipé d'une colonne capillaire apolaire SE 30 (25mm, 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium N55 dont le débit a été fixé à ml/min, cette analyse est qualitative. La technique d'identification des composés repose notamment sur l'interprétation des spectres de masse. Cette identification est faite par comparaison avec la bibliothèque de spectres de masse NIST «the national Institute of standards and technologie » comportant des références

pour 147198 molécules différentes. Cette banque de données fournit pour chaque spectre une liste de substances avec leur poids moléculaire, leur pic de base, leur pureté et leur fit (ajustement) pour le spectre, nous choisissons les fites les plus élevés révélateurs que la substance correspond le mieux au spectre de masse.

II.1.3. Dosage des éléments trace métalliques (plomb, cadmium et chrome)

Le dosage des éléments traces métalliques a été effectuée par spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA) de type Shimatzu 6200 sur des échantillons préparés comme suit :

- Les échantillons de l'eau ont été acidifiés et filtrés (**Rodier et al., 2005**).
- Les échantillons des sédiments ont été tamisés à 50µm et soumis à l'action d'un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique (1V/3V); pendant 12 heures à une température ambiante, puis à 180°C pendant 30 min. L'extrait est ensuite filtré et ajusté au volume avec l'eau déminéralisé (**Mathieu et Pieltain,2003**).
- Les échantillons des poissons ont été préparés selon la technique établie par **FAO (1983)**. Ainsi, 1g des muscles frais a été minéralisé en utilisant 3 volumes d'une mixture de HNO₃/H₂O₂ (1V/1V). Le mélange est mis dans une plaque chauffante à 160°C pendant 30min, après refroidissement le contenu a été filtré par des papiers filtres, et dilué dans 25ml d'eau distillée.

III. 2. Approche biologique.

III.2.1. Paramètres biologiques :

Les indices morphométriques (CF et HSI) ont été déterminés pour chaque spécimen, des poissons. Le facteur de condition(CF), qui es un indicateur de la croissance et de l'état nutritionnel et énergétique, est calculé à selon **Janssen et al. (1995)** en appliquant la formule suivante :

$$CF=100\times\text{poids/ la longueur} \times 1000$$

L'indice hépatosomatique (HSI) est calculé à partir du poids du foie du poisson par rapport à son poids corporel total (**Sloof et al., 1983**) ;

$$HSI = [\text{Poids humide du foie (g) / poids corporel total (g)}] \times 100$$

III.2.2. biomarqueurs

III.2.2.1. Les biomarqueurs dans l'espèce *Cyprinus capio*

III.2.2.1 .1. Préparation de la fraction cytosolique

a. Foie et branchies

La préparation de la fraction cytosolique a été réalisée selon la technique décrite par **Güngördü et Ozmen (2011)**. Après décongélation, 1V de chaque tissu (foie et branchies) maintenus à 4°C pendant toute la durée de préparation a été broyé à 18,000 rpm avec 7 V du tampon phosphate (0.1 M, pH=7.4 contenant 0,15 M KCl, 1mM EDTA et 1mM DTT) en utilisant un homogénéisateur polithron (Ika Instruments, Germany). L'homogénat obtenu a été ensuite centrifugé dans une centrifugeuse à 4°C à 16000g pendant 20 min. Le surnageant obtenu est utilisé pour les différentes analyses. Les activités enzymatiques ont été déterminées immédiatement sans aucune congélation.

b. Cerveau

Pour le cerveau nous avons suivi la technique décrite par **Ozmen et al. (2008)**. Les tissus du cerveau ont été broyés dans le tampon tris pH (7,4. 0,1M) en utilisant un homogénéisateur de type glass-teflon. L'homogénat obtenu a été ensuite centrifugé dans une centrifugeuse à 4°C à 16000 g pendant 20 min. le surnageant est conservé à -80°C.

III. 2.2.1.2. La détermination des activités enzymatiques

Les activités de la catalase, du glutathion -S-transférase, du glutathion réductase, de l'acétylcholinestérase et du carboxylestérase, les taux du GSH et du MDA et la quantité des protéines ont été déterminées spectrophotométriquement à 25°C en utilisant un spectrophotomètre pour la catalase et un spectrophotomètre pour microplaques (VersaMax, Molecular Devices Corp., USA) pour les autres mesures. Tous les essais ont été répétés 3 fois et les résultats sont exprimés par rapport aux quantités des protéines.

a. Catalase (CAT)

L'activité de la CAT a été déterminée par la méthode de **Claiborne (1985)**, en faisant réagir 1,990 ml du tampon phosphate (0.05 M à pH 7.0) contenant H₂O₂ 12 mM avec 10 µl de la source enzymatique. Le changement de l'absorbance est suivi à 240 nm pendant 65 secondes. L'activité de la CAT est exprimée en µ mol de H₂O₂ consommé/mn/mg de protéines en utilisant le coefficient d'extinction molaire 40M⁻¹Cm de H₂O₂ pour les calculs.

b. Glutathion-s-transférase (GST)

L'activité de la GST a été déterminée selon la méthode décrite par **Habig et al. (1974)**. Le mélange réactionnel contient le tampon phosphate (0.1 M, pH 6.5), 1Mm de GSH, 1Mm de CDNB et 10µl de l'échantillon, La variation de la densité optique est lue chaque minute

pendant 5 min à 344 nm. L'activité est calculée en utilisant le coefficient d'extinctions molaire de CDNB ($\epsilon = 9600\text{M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$).

c. Carboxyle estérase(CaE)

L'activité de CaE a été mesurée en utilisant le PNPA comme substrat d'après la technique de **Santhoshkumar et Shivanandappa (1999)** modifiée pour un spectrophotomètre à microplaques. Le mélange réactionnel contenant 5 μl de l'échantillon et 250 μl du tampon tris (0,1M pH=7,4) a été incubé pendant 3mn à 25°C. La réaction est démarrée par l'ajout de 5 μl du substrat (0,5mM), la libération de p nitrophenol est suivie à 405nm pendant 2mn. L'activité est calculée en utilisant le coefficient d'extinctions molaire de p-nitrophenol ($\epsilon= 1830\text{M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$).

d. Glutathion réductase (GR)

L'activité de GR a été mesurée selon la technique de **Stephensen et al. (2002)** modifié par **Güngördü et Ozmen (2011)**. Un volume de 20 μl de l'échantillon a été ajouté au mélange réactionnel contenant 0.075mM du DTNB et 1.2mM de NADPH dans un volume total de 190 μl . La réaction est démarrée par l'ajout de 20 μl de GSSG (3.25mM). La réduction de DTNB est suivi à 405nm et l'activité du GR a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire de DTNB ($\epsilon = 14,151\text{M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$).

e. Acétylcholinestérase

La mesure de l'activité de l'ACHé dans le cerveau et les branchies a été réalisée selon la méthode établie par **Ellman et al. (1961)** et modifié par **Ozmen et al. (2006)** pour un spectrophotomètre à microplaque. Ainsi, 10 μl de l'échantillon a été mis dans des puits de microplaque. La réaction est démarrée par l'ajout du mélange réactionnel contenant (100 μl Tris8 + 1.866 μl ACTI (0 ,7mM)+ 3.73 μl DTNB(0,14mm). L'activité enzymatique est suivie à 412 nm pendant 3 min à 25°C.

f. Peroxydation lipidique (MDA)

La peroxydation lipidique au niveau cytosolique est estimée par la mesure du Taux de MDA. Ce dernier est mesuré selon la méthode d'**Ohkawa et al. (1979)** avec quelques modifications pour le spectrophotomètre à microplaque. Pour ce dosage, nous avons ajouté à 0.5 ml de l'extrait enzymatique, 1,5 ml du milieu réactionnel contenant 5% de l'acide trichloracétique (TCA), 0,125% d'acide thiobarbiturique (TBA) et 0,52% de HCl. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 30 min. Après refroidissement, ce mélange a été ensuite soumis à une centrifugation de 10 min à 16000g et la densité optique a été mesurée dans le surnageant à 530 nm. Le taux du MDA est calculé en utilisant le coefficient d'extinction molaire du MDA $15,6 \times 10^7\text{M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$.

g. Glutathion (GSH),

Pour le dosage du glutathion (GSH), nous avons utilisé la méthode colorimétrique **d'Ellman (1959)** cité par **Dautremepuits et al. (2009)** en utilisant le réactif acide 5.5-Dithiobis2-nitrobenzoïque (DTNB). Pour cela, 20µl de l'extrait enzymatique a été ajouté à 480µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.8 contenant 1mM de DTNB). Après 15 min d'incubation, la lecture de la densité optique a été effectuée à 412nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate. Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon du glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en micromoles du glutathion par milligramme de protéines.

h. Protéines

La quantité des protéines présentes dans le surnageant des différents tissus (le foie, les branchies et le cerveau) a été déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** avec quelques modifications pour un spectrophotomètre à microplaque. Ainsi, 5 µl d'échantillon dilué (1/10) et 250 µl de réactif de Bradford sont ajoutés à chaque puits dans des microplaques, après agitation, la lecture des absorbances a été effectuée à 595 nm. La quantité des protéines a été calculée en utilisant une courbe d'étalonnage de BSA.

i. EROD

L'activité EROD a été mesurée dans la fraction S9 des tissus hépatiques en utilisant un spectrofluoromètre pour microplaque à 96 puits à une température de 25°C selon la technique de **Flammarion et al. (1998)**. La mesure de l'activité enzymatique a été effectuée sur un volume finale de 270µl contenant 0,1 M du tampon phosphate pH(7,7), 3.7µl d'Eethoxyresorufin 5mM, et 20µl de l'échantillon. La réaction est démarrée par l'addition de 0,037mM du NADPH. L'activité enzymatique est suivie pendant 10mn en lisant la fluorescence chaque minute à une longueur 530nm excitation avec 25nm bandwidth et une longueur de 585nm d'émission avec 35nm bandwidth. Les valeurs de Resorufin ont été calculées en utilisant une courbe d'étalonnage préparée à partir d'une solution mère étalon contenant 20mM resorufin. Les résultats sont exprimés en pmol de resorufin formé par min par mg des protéines.

III.2.2.3. Les biomarqueurs dans les espèces *Abramis brama* et *Barbus callensis*

III.2.2.3. 1. Préparation de la fraction microsomale

La fraction microsomale a été préparée en utilisant la technique décrite par **Valdehita et al. (2012)**. En bref, 10 mg des tissus branchiaux ou hépatiques ont été homogénéisés pendant 5 secondes à 6 KH en utilisant l'ultra son de type (Vibra Cell) dans 1 ml de tampon d'homogénéisation (tampon tris 100 mM pH = 7,8 contenant 20% de glycerol, 0,25 mM du

saccharose, 150 mM du KCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,25 mM du fluorure de phénylméthylsulfonyle (PMSF) et 10 µg/ml des inhibiteurs des protéases leupeptine, l'aprotinine et la pepstatine). L'homogénat a été centrifugé pendant 10 min à 6000 g, le culot a été éliminé et le surnageant a subi une deuxième centrifugation à 16000 g pendant 60 min. Le culot a été ensuite recueilli et dilué dans le tampon utilisé dans l'homogénéisation et utilisé pour la mesure des activités EROD et BFCOD. Ces dernières ont été déterminées immédiatement sans aucune congélation.

III.2.2.3.2. Mesure des activités EROD et PFCOD

L'activité EROD a été mesurée à la température ambiante en utilisant la méthode établie par **Burke et Mayer (1974)** et modifiée par **Valdehita et al., (2012)**. Toutes les mesures ont été répétées trois fois en utilisant une microplaque à 96 puits (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Allemagne). Le mélange réactionnel contenant 5 µl de la fraction microsomale (originale et diluée ½ et ¼) et 75 µl du tampon phosphate de potassium (pH = 7,4 contenant 6 µM d'éthoxyresorufin). La réaction est commencée en ajoutant 12,5 µl de NADPH (210 µM). La fluorescence est enregistrée toutes les 10 min pendant 30 min à l'aide d'un spectrofluoromètre à microplaque de type Tecan Genios (Tecan, Maennendorf, Suisse) à une longueur d'onde 532 nm d'excitation et 590 nm d'émission. La courbe d'étalonnage de résorufine a été utilisée pour quantifier la quantité de résorufine formée au cours de l'analyse. L'activité finale de l'EROD est exprimée comme une moyenne des activités obtenues pour chacune des dilutions microsomales.

L'activité de BFCOD a été mesurée à 30 ° C, selon la méthode établie par **Thibaut et al. (2006)**. Les mesures ont été effectuées trois fois en utilisant des microplaques à 96 puits (Greiner Bio-One). Chaque puits reçoit 5 µl des fractions microsomales (originales et diluées ½ ou ¼) des tissus de foie et des branchies et 75 µl de tampon phosphate de potassium (0,2 M, pH = 7,5) contenant 1,7 mg/ml de BSA et 250 µM de BFC. La réaction a été démarrée en ajoutant 12,5 µl de NADPH (200 µM). La fluorescence correspondante aux longueurs d'onde de 409 d'excitation et 530 nm d'émission est enregistrée toutes les 10 minutes (pendant 30 minutes) à l'aide d'un spectrofluoromètre de type Tecan Genios. La courbe d'étalonnage générée avec HFC a été utilisée pour quantifier la quantité de HFC produite pendant l'essai.

La quantité des protéines totales dans chaque puits a été mesurée par le dosage de la fluorescamine selon la technique décrite par **Valdehita et al. (2012)**. En utilisant une courbe d'étalonnage de BSA.

III.2.3. Bio-essai

III.2.3.1. Préparation des extraits des sédiments

Afin de évaluer l'effet sur les activités EROD et BFCOD; les sédiments sont soumis à une extraction. Pour cela, 2 g de chaque échantillon des sédiments secs a été immergé dans 20 ml de méthanol et homogénéisé 3 fois à 18 kHz pendant 60 s dans la glace en utilisant une sonde d'ultrason Vibra Cell TM (Sonic & Materials Inc., Newton, CT, USA). Les échantillons ont été ensuite centrifugés à 17000 g pendant 10 minutes. Le surnageant a été recueilli, filtré à 45 µm, puis évaporé à sec en utilisant un concentrateur de type (miVac Duo concentrator, Genevac Ltd., Suffolk, UK) et en fin récupéré dans 0,5 ml de méthanol. Les extraits finaux ont été stockés à -20 °C jusqu'à leur utilisation.

III.2.3.2. Lignées cellulaires et conditions de culture cellulaire

La capacité des extraits des sédiments à induire les activités EROD et BFCOD a été évaluée en exposant les cellules à ces extraits. L'activité EROD a été mesurée dans la lignée cellulaire de type RTG-2. Ces cellules proviennent des tissus des gonades de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) montrent une morphologie fibroblaste. L'activité BFCOD a été déterminée dans des cellules PLHC-1, dérivées du foie de Topminnow (*Peociliopsis lucida*). Les deux lignées cellulaires ont été obtenues auprès de l'ATCC (*American type Culture Collection*). Ils sont cultivés dans des flacons de 75 cm² contenant le milieu essentiel minimum d'Eagle (Eagle's minimum essential medium: EMEM) complété par 10% de FBS, 1% de pénicilline/streptomycine, 1% de L-glutamine et 1% de NEAA. Les cellules RTG-2 ont été cultivées à 20°C tandis que les cellules PLHC-1 ont été cultivées à 30°C.

III.2.3.3. Traitement des cellules et mesure des activités EROD et BFCOD.

Afin d'évaluer la présence des polluants dans les sédiments, l'activité EROD a été mesurée dans les cellules RTG-2 selon la même méthode décrite précédemment (**Valdehita et al, 2012**). Pour cela, les cellules RTG-2(100 µl) ont étéensemencées à raison de 2,5x10⁵ cellules/ml du milieu de culture dans des plaques transparentes de 96 puits (Greiner Bio-One). Après 24 heures d'incubation, le milieu de culture a été remplacé par un nouveau milieu de culture contenant des extraits des sédiments à une concentration maximale de 1%. (Équivalent à 2.5-40 mg de sédiments/ml du milieu). β-naphthoflavone (βNF), a été utilisé comme control positif et les réponses obtenues pour une gamme de doses (1,6-272 ng / ml de milieu) ont été utilisé pour établir la courbe dose-réponse qui a permis, pour chaque essai, de calculer des équivalents βNF (βNF-Eq) présents dans les sédiments (**voir la section Analyse**

statistique ci-dessous). Ils représentent la quantité équivalente de β NF qui peut induire une réponse similaire à celle provoquée par l'extrait du sédiment correspondant. Le méthanol (utilisé pour récupérer l'extrait des sédiments) et le DMSO (utilisé comme support de β NF) (1% de méthanol, 0,1% de DMSO) ont été appliqués à un ensemble de cellules et ont été utilisés comme témoins de transport. Aucun effet sur la viabilité cellulaire n'a été observé à ces concentrations. Après 24 h d'incubation, le milieu de culture a été éliminé, les cellules ont été lavées avec du PBS (pH = 7,5) et lysées dans de l'azote liquide. Après décongélation, l'activité EROD et la teneur en protéines ont été mesurées suivant la même méthodologie utilisée pour les tissus. Chaque échantillon des sédiments a été mesuré deux fois dans cinq indépendantes expériences.

Pour la mesure de l'activité BFCOD, les cellules PLHC1 (150 μ l) ont étéensemencées dans des plaques transparentes de 96 puits (Greiner Bio-One) à raison 10×10^5 cellules / ml de milieu. Après 24 heures d'incubation, le milieu de culture a été retiré et remplacé par un nouveau milieu contenant des extraits des sédiments en appliquant le même protocole et les mêmes concentrations utilisées pour l'activité EROD. Comme auparavant, 1% de méthanol et 0,1% de DMSO ont été utilisés comme témoins de transport. Benzo [K] fluoranthene (β KF) a été utilisé comme contrôle positif et la réponse générée par une gamme de concentrations de β KF (3,9-504,5 ng / ml de milieu) a servi au calcul des équivalents de β KF présents dans les sédiments (voir la section Analyse statistique ci-dessous). Après 24 heures d'incubation, le milieu de culture a été éliminé, les cellules ont été lavées avec du PBS (pH = 7,5) et l'activité BFCOD est mesurée selon la méthode décrites par **Creusot et al. (2015)**. En bref, 100 μ l de PBS contenant 50 μ M du BFC ont été ajoutés à chaque puits. L'activité du CYP3A (BFCOD) est suivie pendant 30 min à des longueurs d'onde de 409 nm excitation et 530 nm d'émission en utilisant un spectrofluoromètre de type Tecan Genios distance. Après la mesure de BFCOD, le PBS a été éliminé, les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS (pH = 7,5), congelées dans de l'azote liquide et la quantité des protéines totales a été déterminée par un essai de fluorescamine comme décrit précédemment. Chaque échantillon de sédiments a été analysé deux fois dans cinq indépendantes expériences.

IV. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Sigma Plot 12.5 (Systat Software Inc., Chicago, IL, USA). La normalité des données a été vérifiée par le test de Kolmogorov-Smirnov. Dans tous les cas, les données n'étaient pas normalement distribuées et par conséquent, elles ont été comparées en utilisant un test non paramétrique Kruskal-Wallis

suivi par le test de comparaison multiple post hoc de Dunn. Le niveau de signification a été fixé à $p < 0,05$.

Les EC50 (concentration effective 50, définie comme la concentration provoquant une réponse de 50% des activités) pour les activités EROD et BFCOD dans les cellules RTG 2 et PLHC1 traitées par les extraits des sédiments ont été calculées en ajustant les résultats de l'activité enzymatique à une Équation d' une courbe sigmoïde: $y = \text{max} / [1 + (x / \text{EC50})^b] + \text{min}$, (où max est la réponse maximale observée, b est la pente de la courbe, et min est la réponse minimale). $\beta\text{NF-Eq}$ ou $\beta\text{KF-Eqs}$ pour chaque extrait d'échantillon ont été calculés en interpolant les valeurs d'activité enzymatique pour chaque dilution de l'extrait des sédiments dans la courbe appropriée (celle de βNF ou βKF). Les équivalents finaux étaient la moyenne de ceux obtenus pour les différentes dilutions.

Résultats

I. Approche physico-chimique

I.1. Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux et des sédiments du barrage.

I.1.1. Paramètres physico-chimiques

Tableau.7. Valeurs (moyennes \pm SEM) des différents paramètres physicochimiques et des concentrations des métaux lourds dans les eaux du barrage de Béni Haroun wilaya de Mila Algérie (2011-2014).

Site	année	Période	Temp (°C)	pH	CE(μ s/cm)	OD(mg/L)	Pb(μ g/L)	Cd (μ g/L)	Cr (μ g/L)
BH	2011	PH	17,5 \pm 1,0	8,45 \pm 0,20	1363,3 \pm 47,4	7 \pm 0,12	26,69 \pm 1 ^{Aac}	6.6 \pm 0.25 ^{Aa}	8.6 \pm 0.5 ^{Aa}
	2012	PH	23,26 \pm 0,5	8,58 \pm 0,08	979,6 \pm 20	5,2 \pm 0,2	21,4 \pm 0,7 ^{Aab}	15,6 \pm 1.3 ^{Ab}	23.4 \pm 1.9 ^{Ab}
		PS	26,3 \pm 0,8	8.1 \pm 0.16	798.3 \pm 7,6	6,9 \pm 0,3	33,7 \pm 0,2 ^{Ac}	21.25 \pm 0.75 ^{Ac}	26 \pm 0.7 ^{Ab}
	2013	PH	16 ,2 \pm 0.3	7,4 \pm 0 ,20	1288, \pm 10	6,2 \pm 0,5	16,61 \pm 2 ^{Ab}	5.2 \pm 0,39 ^{Aa}	48.2 \pm 0.65 ^{Ac}
		PS	25 \pm 0.2	7,8 \pm 0,45	1382 \pm 45	4,8 \pm 0,23	23,4 \pm 0,2 ^{Aa}	6.75 \pm 1 ^{Aa}	42.8 \pm 1.4 ^{Ac}
	2014	PH	16 \pm 1,4	7,96 \pm 0 ,70	1848 \pm 19	6,3 \pm 0,45	11 ,11 \pm 0,2 ^{Ab}	5.16 \pm 0.89 ^{Aa}	23 \pm 1.3 ^{Ad}
		PS	23 \pm 0,7	8 \pm 0,25	1302 \pm 20	5,5 \pm 23	24,86 \pm 0,1 ^{ABa}	12,45 \pm 0.8 ^{Ab}	41.2 \pm 0.6 ^{Ac}
	RH	2011	PH	17,9 \pm 0,78	8,45 \pm 0,19	1433,3 \pm 48,1	5,5 \pm 0,51	13,73 \pm 0,4 ^{Ba}	4 \pm 0.5 ^{Aa}
2012		PH	23,4 \pm 0,1	8,59 \pm 0.05	1115,3 \pm 5	5,45 \pm 0,3	21,1 \pm 1 ^{Ab}	7.25 \pm 1 ^{Bab}	46.5 \pm 1 ^{Bb}
		PS	23,53 \pm 0,6	7,69 \pm 0,01	1035 \pm 10	5,67 \pm 0 ,56	38,8 \pm 0,7 ^{Bc}	12.25 \pm 1 ^{Bc}	43.6 \pm 1.2 ^{Bc}
2013		PH	13 \pm 0 ,7	7,5 \pm 0,02	1110 \pm 11	6, 34 \pm 0,45	10,5 \pm 0,4 ^{Ba}	4.5 \pm 0.4 ^{Aa}	24.5 \pm 1.6
		PS	26,5 \pm 0 ,5	8,40 \pm 0,04	1378 \pm 7	5,65 \pm 0 ,15	27,2 \pm 0,7 ^A	13.5 \pm 0.75 ^{Bc}	38.5 \pm 0.75 ^{Ab}
2014		PH	13 ,5 \pm 2	8 \pm 0,06	1520 \pm 12	6,25 \pm 0,6	13,8 \pm 0,8 ^{Aa}	8.75 \pm 0.9 ^{Bb}	13.1 \pm 1,01 ^{Bc}
		PS	21 \pm 3	8,16 \pm 0,34	1232 \pm 14	5,38 \pm 0,3	25,2 \pm 2,1 ^{Abc}	19 \pm 1,2 ^{Bd}	21.6 \pm 1.76 ^{Ba}
EN		2011	PH	18.33 \pm 1,15	8,49 \pm 0,19	1316,6 \pm 35,9	5,87 \pm 0 ,32	8,8 \pm 0,5 ^{Ca}	2.5 \pm 0.37 ^{Aa}
	2012	PH	23,4 \pm 0,2	8,55 \pm 0.07	1106,6 \pm 6	5, 22 \pm 0,6	13,2 \pm 0,7 ^{Ba}	10.75 \pm 0,6 ^{Cbd}	33.4 \pm 0.85 ^{Bab}
		PS	25,66 \pm 0,1	8,28 \pm 0,1	1141 \pm 7,63	5,76 \pm 0,8	16,2 \pm 0,4 ^{Cbc}	17.25 \pm 2,33 ^{Cd}	37.2 \pm 6 ^{Cb}
	2013	PH	15 \pm 0,5	7,3 \pm 0,9	1011 \pm 1	6,05 \pm 0 ,5	12,8 \pm 1,2 ^{Cab}	8.25 \pm 0,5 ^{Bb}	15.03 \pm 2,02 ^{Cb}
		PS	27 \pm 0,9	8,32 \pm 1,2	1350	5,2 \pm 0,6	19,8 \pm 0,5 ^{Bc}	14.25 \pm 1 ^{Bcd}	24.2 \pm 0.8 ^{Baa}
	2014	PH	14,8 \pm 2	8,45 \pm 0,8	1420	6, 32 \pm 0,89	12,03 \pm 1,4 ^{Aab}	9 \pm 1.1 ^{Bb}	13,36 \pm 1.2 ^{Bb}
		PS	23 \pm 3,2	7,5 \pm 1	1394 \pm 23	5,17 \pm 0,31	30,1 \pm 0,44 ^{Bd}	13 \pm 0,9 ^{Ac}	24 \pm 2,27 ^{Ba}

PH = période humide ; PS= période sèche ; CE= conductivité électrique ; OD=oxygène dissous ; Pb=plomb ; Cd =cadmium ; Cr= chrome. Les différences entre les stations pendant la même campagne de prélèvement sont représentées par des lettres majuscules Les différences entre saison dans les mêmes stations sont représentées par des lettres minuscules ($p \leq 0.05$).

I.1.1. Eau

Les paramètres physico-chimiques des eaux du barrage de Beni Haroun sont regroupés dans le **tableau (7)**. La température suit un rythme saisonnier elle varie de 13,0 \pm 0.7°C (observée au Oued Rhumel(RH) pendant la période humide 2013) à 27 \pm 0.9 °C (enregistrée à Oued Endja (EN) pendant la période sèche 2013). Le pH est légèrement alcalin, il s'échelonne entre 7.3 \pm 0.9 (Oued Endja(EN) PH 2013) et 8.59 \pm 0.8 (Oued Rhumel(RH) PH 2012). En ce qui concerne la CE, les valeurs moyennes sont relativement fortes. Elles s'étendent de

798.3±7,6 µS/Cm (Beni Haroun(BH)/ PS 2012) à 1848±19 µS/Cm (Beni Haroun (BH) PH 2014). Les valeurs de l'oxygène dissous se situent entre 5,2±0,2mg/L (Beni Haroun(BH)/ PS 2012) et 7±0,12 mg/L (Beni Haroun(BH) PH 2011). Elles suivent un rythme saisonnier, elles sont généralement faibles dans les périodes sèches et élevées durant les périodes humides (Tableau.7).

Tableau.8. Valeurs (moyennes± SEM) des différents paramètres physico-chimiques et des concentrations des métaux lourds dans les sédiments du barrage de Béni Haroun wilaya de Mila Algérie (2011-2014).

Site	année	Période	pH	TEXTURE	MO (%)	CaCO ₃ (%)	Pb (µg/g)	Cd (µg/g)	Cr (µg/g)
BH	2011	PH	7,85±0,1	sableuse	0,97±0,03	22,33±1.2	64±3 ^{Aa}	0,23±0,02 ^{Aa}	47±1.73 ^{Aab}
	2012	PH	8,27±0.4		0,82	58±2.5	32,67±1.56 ^{Ab}	4,23±0.53 ^{Ab}	52±4.04 ^{Aab}
		PS	8,29±0,1		0,53±0,01	26,03±0,49	80,66±1.45 ^{Aa}	3,68±0.13 ^{Ab}	74±1.15 ^{Abc}
	2013	PH	8,2±0,06		0,52±0,01	47,34±0,76	50,16±5,50 ^{Aab}	1,15±0,12 ^{Aa}	72±8.69 ^{Ac}
		PS	8,7±0.7		0,95±0.02	55,43±6.4	78,55±1.45 ^{Aa}	5±0.57 ^{Ab}	80.33±2.02 ^{Ac}
	2014	PH	8,25±0,4	sableuse	0,92±0.01	65,34±3,3	41,33±1,28 ^{Ab}	1,67±0,57 ^{Aa}	55,2±1,26 ^{Ab}
PS		7,6±0.5		1,11±0.05	60,34±5.9	61,5±3.69 ^{Aa}	3,91±0.42 ^{Ab}	75±2.89 ^{Ac}	
RH	2011	PH	8,02±0,29	Limono sableuse	1,35±0,06	37,36±3.8	42±2.31 ^{Ba}	0,12±0,014 ^{Aa}	34,±4,58 ^{Ba}
	2012	PH	8,36±0.4		1,09±0.03	43±2.9	51±2.33 ^{Ba}	1,75±0,4 ^{Bab}	44.66±2.6 ^{Aab}
		PS	8,29±0,03		0,69±0,01	22,57±0,8	60,56±2.60 ^{Bb}	5,1±0.49 ^{Bc}	69±1.73 ^{Ac}
	2013	PH	8,07±0,08		0,75±0,01	29,37±0,55	40,16±4,69 ^{ABa}	1,64±0.71 ^{Aab}	48±3.54 ^{Bb}
		PS	8,17±0.3		1,19±0.04	26,45±1.7	57.33±5.70 ^{Bab}	6±0.57 ^{Ac}	73±2.31 ^{Ac}
	2014	PH	7,98±0,29	Limono sableuse	1,2±0.05	37,3±0,41	39,13 ±5,33 ^{Aa}	2,66±0,45 ^{Ab}	23,83±2.89 ^{Ba}
PS		8,34±0,4		1,12±0.08	35,23±2.7	70,66±4,08 ^{Ab}	5,16±0.60 ^{Ac}	57,33±2.29 ^{Bb}	
EN	2011	PH	8,05±0,19	Argileux limoneuse	1,14±0,07	43,48±3.5	40±2,89 ^{Ba}	1.04±0.07 ^{Ba}	28±2.31 ^{Ba}
	2012	PH	8,10±0.8		2,45±0.07	28±1.7	65,33±4.33 ^{Bb}	1,93±0.23 ^{Ba}	30±1.56 ^{Ba}
		PS	8,22±0,01		0,48±0,01	20,66±0,76	118,33±4.35 ^{Cc}	3,16±0.32 ^{Aab}	34±2.27 ^{Ba}
	2013	PH	8,57 ±0,1		0,85 ±0,01	32,85±1,11	28,5±4.68 ^{Ba}	2,21±0,374 ^{Aa}	30±1.93 ^{Ca}
		PS	7,9±2±0.3		1,02±0.03	28,4±3.1	75 ±2.83 ^{Ab}	6,16±0.66 ^{Ab}	46.33±0.37 ^{Bb}
	2014	PH	8,62±0,28	Argileux limoneuse	1,09±0.05	31,05±0,20	39,45±4,19 ^{Aa}	1,85±0,11 ^{Aa}	34,83±4,56 ^{Aa}
PS		8.2±0,8		1,38±0.08	31,1±2.4	55.83±3.35 ^{Aab}	4,57±0.84 ^{Ab}	47,5±4,41 ^{Cb}	

PH = période humide ; PS= période sèche ; MO= matière organique ; CaCO₃=taux du calcaire total ; Pb=plomb ; Cd =cadmium ; Cr=Chrome. Les différences entre les stations pendant la même campagne de prélèvement sont représentées par les lettres en majuscule. Les différences entre les saisons dans les mêmes sites sont représentées par des lettres minuscules (p≤0.05).

I.1.1.2. Sédiments

Les résultats des analyses physico-chimiques des sédiments sont représentés dans le **tableau 8**. Les sédiments du barrage de Beni Haroun présentent une texture sableuse pour la station BH, limono sableuse pour la station RH et Argileux- limoneuse pour la station EN. Le pH est neutre à légèrement basique, les valeurs sont comprises entre $7,6\pm 0,5$ et $8,7\pm 0,7$, observées respectivement durant les périodes sèches 2014 et 2013 au niveau de la station BH. Le taux de calcaire est compris entre **20.66** (EN/PS2012) et **65,34±3,3%** (BH/PH2014) indiquant ainsi le caractère calcaire des sédiments étudiés. En ce qui concerne la matière organique, les valeurs oscillent entre $0,48\pm 0,01$ et $1,245\pm 0,07\%$, signalées au niveau de la station EN en 2012, durant PS et PH respectivement.

I.1.2. Polluants organiques

L'analyse complète des spectres, obtenus après l'analyse par CPG, dévoile l'existence d'une ressemblance des composés décelés avec néanmoins des pics d'intensité variable d'un échantillon à l'autre. Les pics obtenus comprennent plusieurs composés chimiques similaires et autres spécifiques de chaque chromatogramme (**annexe II**).

En général, nous avons obtenu dans les eaux :

Des esters tels que Sulfurous acid, nonyl pentyl ester : pic 2, station BH (**Figure.1**). et Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester : pic 11, station RH (**Figure.2**).

- Des alcools: Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl : pic 12. stations RH et EN (**Figures. 2 et 3**).
- Des phtalates tels que phthalic acid, heptyl 4-nitrophenyl ester : pic4 au niveau de la station BH (**Figure.1**), phthalic acid, 6-ethyl-3-octyl butyl ester pic7, station RH (**Figure.2**), 2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester :pic 4,6,7,station EN (**Figure. 3**) et 1,2-benzenedicarboxylic acid mono (2-ethylhexyl): pic5, station BH (**Figure.1**) et pic13, station RH.
- Des composés naturels (nonacosane :pic 9, station EN (**Figure.3**), pic 14,15,18 et 19 station RH (**Figure.2**), heptacosane, 1-chloro- : pic 11 station EN (**Figure. 3**) et heneicosane: pic16, station RH (**Figure. 2**) (**annexe II**).

Plusieurs substances organiques ont été détectées dans les échantillons des sédiments. Il s'agit notamment (**annexe II**) :

- Des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) tels que les dérivés du naphthalène pic 33 ;39 ;40, 49; 58 et 60 dans BH (**Figure. 4**) pic 27, 36, 41 à RH (**Figure. 5**) et pic 39,

46 et 51 station EN (**Figure. 6**); les dérivés du benzopyrène pic 67 , 68 et 76 BH (**Figure. 4**) et les dérivés d'indène pic 24 RH pic 38 EN (respectivement **Figures. 5 et 6**).

- Des composés organophosphorés : phosphite, tris (2,4-diméthylpentylpent-3-yl) pic 45, bis (2 ethylhexyl) methylphosphonates pic 48, bis (2-ethylhexyl) methylphosphonates pic 70 station BH (**Figure.4**).
- Des organochlorés : methyl 3-(dichloromethyl) 4-4-dichloro-2-butanoate pic 6 RH (**Figure. 5**).
- Des phtalates : 1,2-benzendicarboxylic acid, bis (2-méthylpropyl) ester, dibutyl phtalates, diethylphtalates correspondent respectivement les pics 23,25 et 60 à BH (**Figure. 4**); 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-méthylpropyl)ester pic 14, dibutyl phtalates pic 16, benzenedicarboxylic acid, ditridecyl ester pic 43 RH (**Figure. 5**); 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-méthylpropyl)ester pic 27, phtalic acid, methyl octyl ester pic 30 et 1,2-benzendicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl ester) pic 52 EN (**Figure. 6**).
- Des dérivés de benzène (2,3diméthylbenzene, 1,2,3-triméthylbenzene et benzaldhyde, 2-hydroxy-4-méthyl et a.7.7.10 a-tetraméthyl-dodecahydro-benzo (1) chromen-3-one, correspondent respectivement les pic 1,6 , 25 et 41 station EN (**Figure.6**); 1,2-bis(hexyloxy)-4-nitrobenzene pic 8 et 2-hydroxy-4-méthyl, benzaldhyde pic 10 RH (**Figure.5**).
- Des phénols (Phenol ,3-pentadecyl pic 66 BH (**Figure. 4**) (**AnnexeII**).

I.1.2. Métaux lourds.

I.1.2.1. Métaux lourds dans les eaux

Les concentrations des métaux lourds (Cd, Cr et Pb) dans les eaux sont rassemblées dans le **Tableau 7**. Le chrome (Cr) présente les concentrations les plus élevées avec des valeurs qui s'échelonnent entre $8.6 \pm 0.5 \mu\text{g/L}$ (Beni Haroun(BH) PH 2011) et $48.2 \pm 0.65 \mu\text{g/L}$ (Beni Haroun(BH) PH 2013), suivi par le plomb (Pb) avec des teneurs qui s'étendent de $8.8 \pm 0.5 \mu\text{g/L}$ (Oued Endja(EN) PH 2011) à $38.8 \pm 0.7 \mu\text{g/L}$ (Oued Rhumel(RH) PS 2012). Enfin, le cadmium (Cd) présente les concentrations les plus faibles. Ces dernières sont comprises entre $2.5 \pm 0.37 \mu\text{g/L}$ (Oued Endja(EN) PH 2011) et $21.25 \pm 0.75 \mu\text{g/L}$ (Beni Haroun (BH) PS 2012). D'une manière générale les valeurs des métaux lourds enregistrées pendant les périodes sèches sont plus élevées par rapport à celles observées pendant les périodes humides (**Tableau 7**).

I.1.2.2. Métaux lourds dans les sédiments

Les concentrations des métaux lourds dans les sédiments du barrage de Beni Haroun sont récapitulées dans le **tableau 8**. Ces valeurs sont comprises entre **0.12 ±0.01 µg/g** et **6.16±0.2 µg/g** pour le Cd, entre **28,5±4.68 µg/g** et **118,33±4.35 µg/g** pour le Pb et entre **23,83±2.89 µg/g** et **80.33±2.02 µg/g** pour le Cr. D'une façon générale, les valeurs enregistrées pendant les périodes sèches sont plus élevées que celles notées pendant les périodes humides. Les valeurs maximales du Cd et du Cr sont enregistrées pendant la période sèche 2013. Celles du Pb sont obtenues pendant la période sèche 2012. En ce qui concerne la distribution spatiale, les valeurs les plus élevées varient selon la saison et l'année pour le Cd et le Pb. [BH(PH2012), EN (PH 2012 et PH 2013) et RH (PH, 2011, PS2012, PH et PS 2014)] pour le Cd et [BH (PH 2013 et 2014), EN (PH2011, PH et PS 2012) et RH (PS 2014)] pour le Pb. Quant au Cr, les valeurs maximales sont enregistrées au niveau de la station BH pendant toutes les campagnes de prélèvement (**Tableau. 8**).

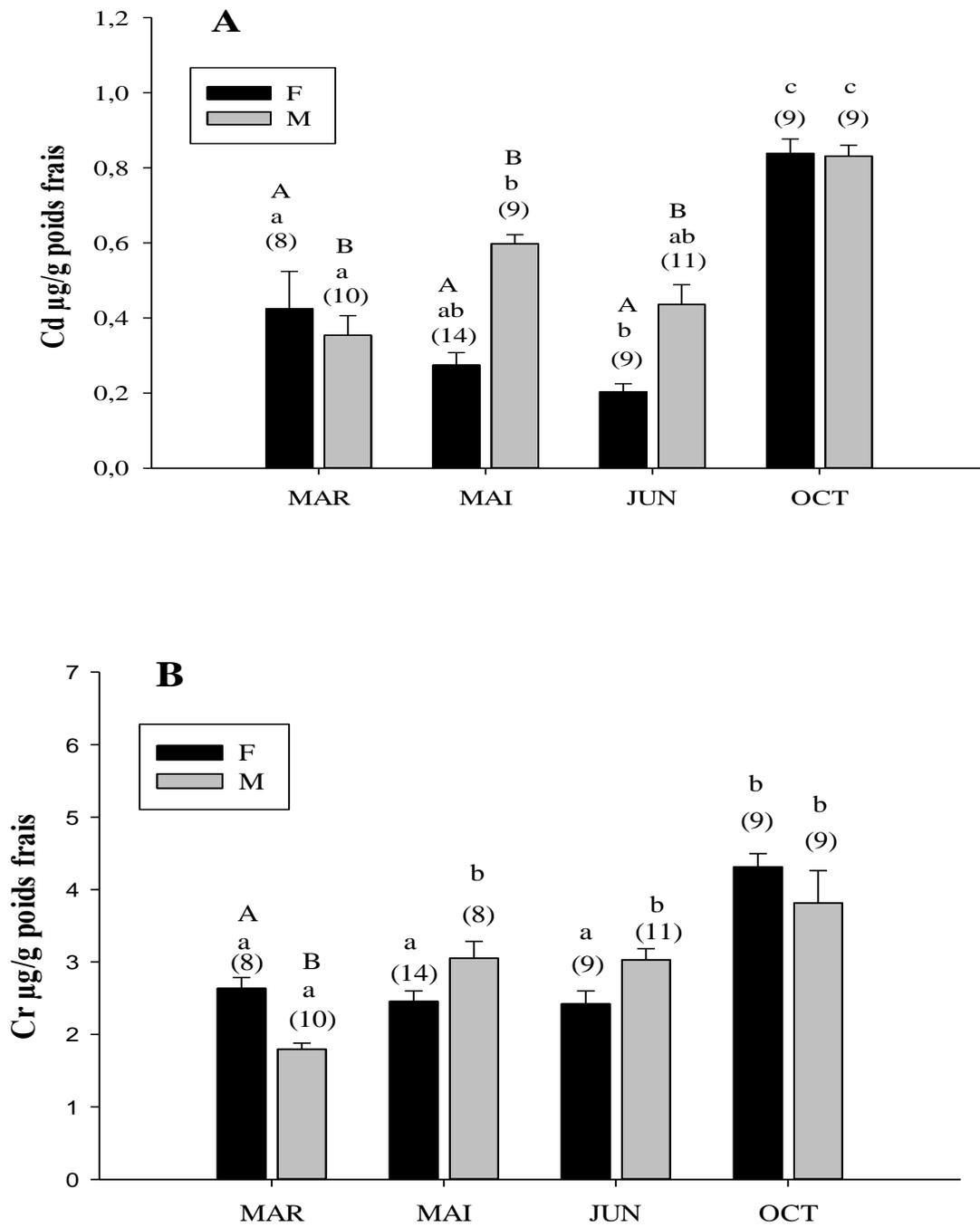
I.1.2.3. Métaux lourds dans les poissons

Les teneurs en métaux lourds observées au niveau des muscles de l'espèce *Cyprinus carpio* présentent un gradient de concentration Cd<Cr<Pb. Ces dernières varient respectivement du **0,17±0,034µg/g** au **0,50±0,027µg/g** pour le Cd, du **1,08±0,14µg/g** au **2,59±0,13µg/g** pour le Cr et du **2,58 ±0,43µg/g** au **5,43± 0,41µg/g** pour le Pb (**Figure. 23**). Les concentrations maximales des trois métaux (Cd, Cr, Pb) sont observées pendant le mois d'Octobre tandis que les concentrations minimales sont observées durant le mois de Juin pour le Cd et pendant mois de Mars pour le Pb et le Cr (**Figure 24**).

D'un point de vue saisonnier, l'analyse statistique a montré des différences significatives ($p \leq 0.05$) entre le mois de Mars et de Juin chez les mâles et entre les mois de Mai et de Juin chez les femelles pour le Cd (**Figure 24 A**). Des différences importantes dans les concentrations de Cr sont aussi notées entre le mois de Mars et les autres mois chez les femelles et entre le mois d'Octobre et les autres mois chez les mâles ($p \leq 0.05$) (**Figure 24B**). En ce qui concerne le Pb, l'analyse statistique a dévoilé une différence significative ($p \leq 0.05$) entre le mois d'Octobre et les mois de Mars et de Juin pour les femelles et entre le mois d'Octobre et les mois de Mars et de Mai pour les mâles (**Figure 24C**).

Concernant les différences entre les deux sexes, notre étude a montré une grande différence entre les mâles et les femelles pendant les mois de Mars et de Mai pour le Cd, et durant le mois de Mars pour le Cr ($P \leq 0.05$). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été signalée pour le Pb ($p \geq 0.05$). Les concentrations du Cd, du Cr et du Pb sont plus élevées chez les femelles par rapport aux mâles pendant Mars et Octobre., Ces concentrations sont par

contre plus élevées chez les mâles par rapport aux femelles pendant les mois de Mai et de Juin (Figure. 24).



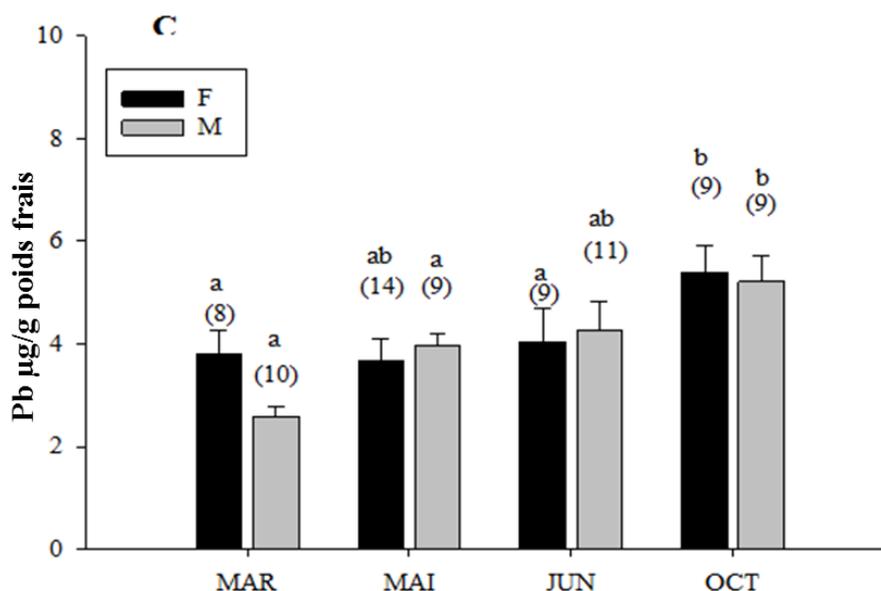


Figure.24.Concentrations des métaux lourds dans les muscles de l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars et Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm barre d'erreur (M \pm SEM). A : le cadmium(Cd), B : le Chrome(Cr). C : le plomb (Pb). M= mâles, F = Femelles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les lettres en majuscule indiquent les différences entre les mâles et les femelles. Les lettres minuscules indiquent les différences entre les différents mois ($p \leq 0.05$).

II. Approche biologique

II.1. Utilisation d'une batterie des biomarqueurs chez l'espèce *Cyprinus carpio* pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds

II. 1.1.Paramètres biométriques :

Les valeurs du facteur de condition (CF) et de l'index hépatosomatique HSI s'étendent respectivement de 0.96 ± 0.06 (observée chez les mâles au mois de Juin) à 1.36 ± 0.05 (signalée chez les femelles au mois de Mai) et de 1.89 ± 1.14 (notée chez les femelles au mois de Juin) et 3.37 ± 0.39 (enregistrée chez les mâles au mois de Mars) (**Tableau. 9**).

Tableau.9. Valeurs (moyennes± SEM) des paramètres biométriques des spécimens de l'espèce *Cyprinus carpio* utilisée dans cette étude (Mars – Octobre 2014).

Mois	sexe	n	Poids	Longueur	CF	HSI
Mars	F	8	196±14.51	19.3±0.65	1.00±0.04 ^a	2.74±0.28 ^{Aa}
	M	10	204±25.75	19.75±1.08	1.02±0.07 ^{ab}	3.37±0.39 ^{Ba}
Mai	F	14	303±17.15	22.2±0.62	1.36±0.05 ^b	1.98±0.10 ^{Ab}
	M	9	243±20.79	19.9±0.52	1.21±0.77 ^a	2.59±0.21 ^{Bab}
Juin	F	9	268±19.64	22.73±1.01	1.16±0.5 ^{Ab}	1.89±1.14 ^b
	M	11	203±24.34	20.15±1.05	0.96±0.06 ^{Bb}	2.02±0.08 ^b
Octobre	F	9	235±24	20±0.65	1.17±0.11 ^{ab}	2.08±0.12 ^{ab}
	M	9	220±18.61	21.1±0.95	1.03±0.05 ^{ab}	2.01±0.10 ^b

n. représente le nombre des poissons, F : Femelles, M : Mâles. Les différences entre les mâles et les femelles sont représentées par les lettres majuscules. Les différences entre les mois sont représentées par les lettres minuscules ($p \leq 0.05$).

II.1.3. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)

L'activité EROD observée durant notre étude s'échelonne entre un minimum de $0,85 \pm 0,15$ pmol/mg/min observé chez les femelles durant le mois de Juin et un maximum de $2,86 \pm 0,16$ pmol/mg/min enregistré pendant le mois de Mars chez le même sexe (**Figure.25**). Cette activité semble présenter des variations saisonnières importantes chez les deux sexes. Dans le mois de Mars l'activité EROD est relativement élevée ($2,86 \pm 0,156$ et $2,29 \pm 0,14$ pmol/mg/min). Cette activité diminue significativement ($p \leq 0.05$) durant les mois de Mai et de Juin en atteignant son minimum durant le mois de Juin. Après trois mois, exactement en Octobre, l'activité EROD a augmenté d'une manière significative pour les femelles et d'une manière importante mais non significative pour les mâles, les valeurs sont respectivement ($1,85 \pm 0,16$ et $1,51 \pm 0,156$ pmol/mg/min) (**Figure.25**).

L'analyse statistique n'a pas mis en évidence une différence significative entre les mâles et les femelles. Toutefois, nous avons observé une augmentation des valeurs de l'activité EROD chez les femelles par rapport aux mâles pendant les mois d'Octobre et de Mars et chez les mâles par rapport aux femelles pendant les mois de Mai et de Juin (**Figure.25**).

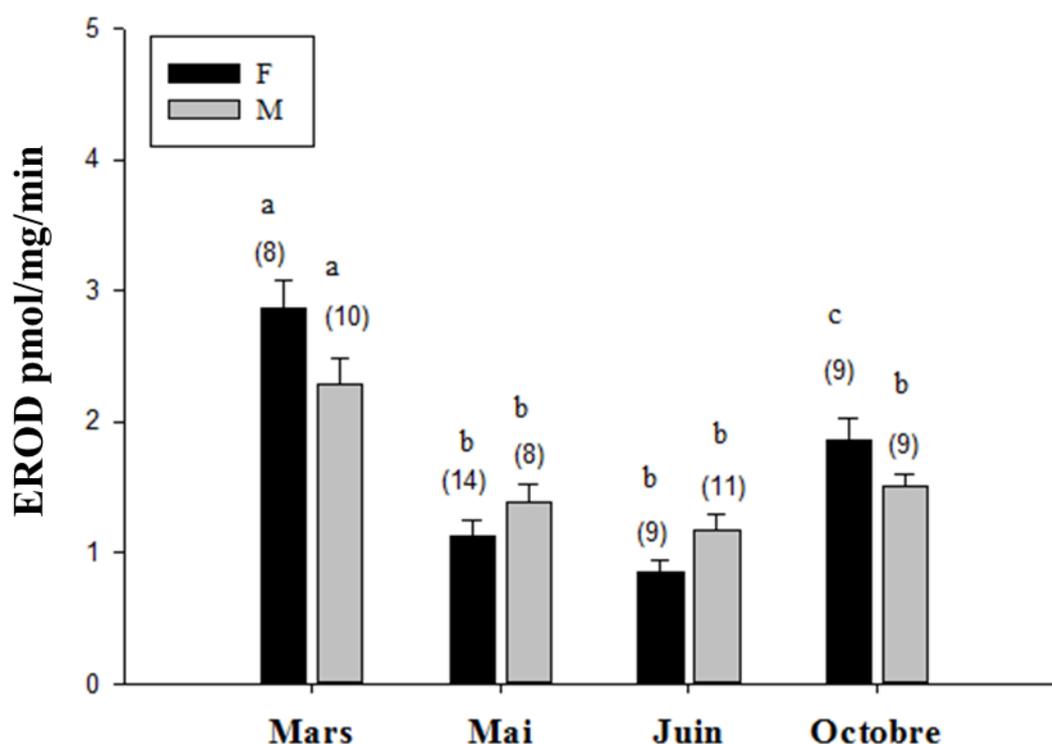


Figure.25. Activité EROD dans le foie de l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

II.1.4. Acétylcholinestérase (AChE)

L'activité de l'AChE est représentée dans la **Figure.26**. Dans le cerveau, les valeurs de l'AChE sont comprises entre $165,35 \pm 20,24$ nmol/mg/min et $433,02 \pm 86,85$ nmol/mg/min chez les femelles et entre $192,31 \pm 26$ nmol/mg/min et $349,83 \pm 111$ nmol/mg/min chez les mâles. Les valeurs minimales sont observées pendant le mois de Mars chez les deux sexes, tandis que les valeurs maximales sont notées au mois d'Octobre chez les mâles et au mois de Mai chez les femelles (**Figure. 26A**).

L'analyse statistique a indiqué des fluctuations saisonnières importantes dans l'activité AChE chez les femelles. En effet, les valeurs obtenues au mois de Mars sont significativement ($p \leq 0.05$) inférieures à celles observées durant les autres mois. Contrairement aux femelles, aucune différence significative entre les différents mois n'a été détectée chez les mâles. Cependant, l'activité de l'AChE tend à augmenter en allant du mois de Mars vers le mois d'Octobre (**Figure. 26A**).

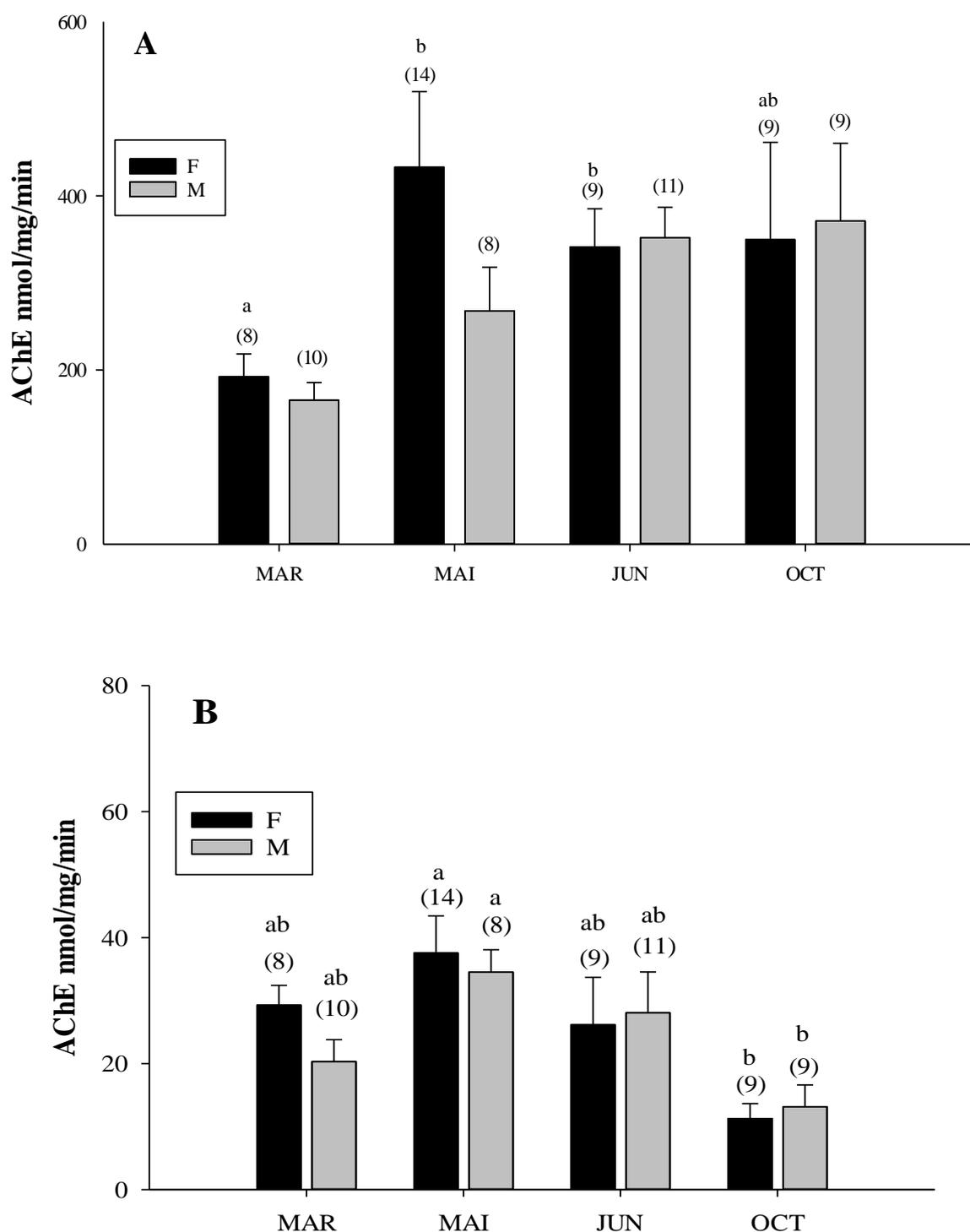


Figure.26. Activité de l'acétylcholinestérase (AChE) chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). A= cerveau, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

L'activité de l'AChE observée dans les branchies est très faible par rapport à celle détectée dans le cerveau, elle représente environ 1/10 de cette dernière. Les valeurs s'étendent de $11,27 \pm 5,86$ nmol/mg/min à $37,56 \pm 5,07$ nmol/mg/min chez les femelles et de $13,14 \pm 5,86$ nmol/mg/min à $33,68 \pm 5,86$ nmol/mg/min chez les mâles. Les maximas sont observés pendant le mois de Mai, alors que les minimas sont enregistrés au mois d'Octobre pour les deux sexes. La comparaison des valeurs de l'activité de l'AChE observée dans les différents mois montre des différences significatives entre le mois de Mai et le mois d'Octobre chez les deux sexes (**Figure.26B**).

II.1. 5. Carboxyle estérase (CaE)

L'activité de CaE est illustrée dans la **Figure 27**. Au niveau du foie, l'activité de CaE observée chez les femelles et les mâles varie respectivement de 235 ± 124 et 297 ± 164 nmol/mg/min (observée pendant le mois d'Octobre) à 1309 ± 155 et 954 ± 140 nmol/mg/min (enregistrée au mois de Juin) (**Figure.27A**). D'après les analyses statistiques, les valeurs de CaE observées aux mois de Mars et Juin sont plus élevées ($p \leq 0.05$) à celles détectées au mois d'Octobre et Mai pour les femelles. D'autre part, celles enregistrées chez les mâles aux mois de Juin sont significativement plus élevées par rapport à celles notées aux mois d'Octobre et Mars ($p \leq 0.05$). L'étude statistique a également montré une grande différence entre les deux sexes pendant le mois de Mars. Les valeurs observées chez les femelles sont supérieures à celles enregistrées chez les mâles ($p \leq 0.05$) (**Figure .27.A**).

L'activité du CaE branchiale beaucoup plus faible que l'activité hépatique (**Figure 27B**). Les valeurs minimales sont observées pendant le mois de Mars, elles sont de l'ordre de $93,34 \pm 14,01$ nmol/mg/min chez les femelles et de $107,04 \pm 14,01$ nmol/mg/min chez les mâles. Tandis que les valeurs maximales sont enregistrées au mois de Juin, elles sont de l'ordre de $142,95 \pm 12,13$ nmol/mg/min chez les femelles et de $131,06 \pm 11,23$ nmol/mg/min chez les mâles. L'analyse statistique a montré des variations saisonnières importantes ($p \leq 0.05$) entre le mois de Juin et les mois de Mars et Mai. D'une manière générale, les taux de CaE ont une tendance à augmenter en allant du mois de Mars vers le mois Juin en atteignant leur maximum durant ce mois (**Figure 27B**).

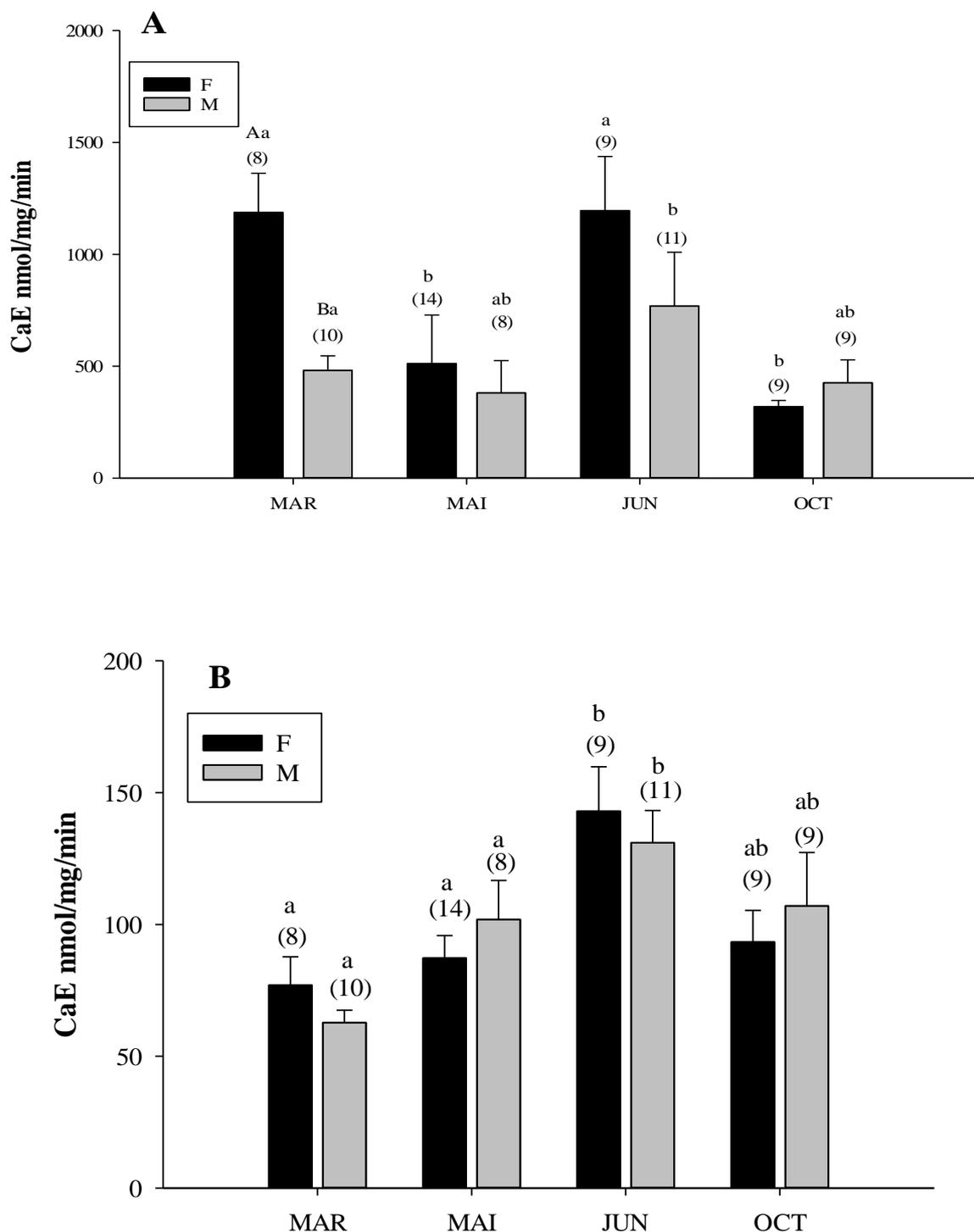


Figure.27. Activité du Carboxyle estérase (CaE) chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($P \leq 0.05$).

II.1.6. Le stress oxydatif

II .1.6.1. Catalase (CAT)

L'activité de la CAT est représentée dans la **Figure 28**. Dans le foie des femelles et des mâles l'activité de la catalase varie respectivement de $194,20 \pm 32,15$ $\mu\text{mol/mg/min}$ (observée en Octobre) et $181,30 \pm 34,37$ $\mu\text{mol/mg/min}$ (enregistrée au mois de Mai) $\mu\text{mol/mg/min}$ à $370,90 \pm 30,31$ et $417,94 \pm 27,42$ $\mu\text{mol/mg/min}$ (notées au mois de Juin). Ces résultats présentent des variations saisonnières importantes dans lesquelles le mois de Juin présente une activité de la CAT significativement ($p \leq 0.05$) plus élevée en comparaison aux autres mois (**Figure. 28A**).

L'activité de la CAT observée au niveau des branchies est plus faible à celle du foie. Les valeurs sont comprises entre $17,48 \pm 6,09$ et $43,43 \pm 5,74$ $\mu\text{mol/mg/min}$ chez les mâles et entre $19,36 \pm 6,09$ et $48,15 \pm 6,09$ $\mu\text{mol/mg/min}$ chez les femelles. D'une manière générale, l'activité de la CAT branchiale montre des fluctuations saisonnières importantes chez les deux sexes. Ainsi, les femelles capturées pendant les mois de Mars et Juin présentent des valeurs significativement plus élevées ($p \leq 0.05$) par rapport à celles échantillonnées aux mois de Mai et Octobre. Par ailleurs l'activité de la catalase observée chez les mâles pendant le mois de Juin est significativement élevée au regard de celle notée au mois d'Octobre (**Figure 28B**). En ce qui concerne la différence entre les mâles et les femelles, l'étude statistique n'a décelé aucune différence dans les deux tissus (**Figure 28**).

II. 1.6.2. Glutathion- S- transférase (GST)

L'activité GST est représentée dans la **Figure .29**. L'activité de la GST hépatique présente des variations saisonnières importantes chez les femelles et les mâles de l'espèce *Cyprinus carpio*. Les valeurs minimales sont $58,94 \pm 15,89$ et $48,17 \pm 19,92$ nmol/mg/min respectivement. Elles sont observées pendant le mois de Mai, alors que les valeurs maximales sont observées au mois de Juin chez les femelles et mois de Mars chez les mâles. Elles sont respectivement de l'ordre de $150,46 \pm 15,897$ et $153,99 \pm 16,67$ nmol/mg/min . D'une manière générale, tous les poissons capturés durant les mois de Mars et Juin présentent une activité plus élevée en comparaison avec ceux capturés au mois de Mai ($p \leq 0.05$) (**Figure. 29A**).

Dans les branchies, l'activité de la GST varie de $38,20 \pm 6,10$ à $88,72 \pm 5,79$ nmol/mg/min chez les femelles et de $44,42 \pm 6,92$ à $95,50 \pm 5,08$ nmol/mg/min chez les mâles, les minimas sont observés respectivement au mois d'Octobre et Mai, cependant que les maximas sont notés au mois de Juin. D'un point de vu saisonnier, l'analyse statistique a révélé une augmentation significative de l'activité de la GST chez tous les poissons capturés durant le mois de Juin en

comparaison aux autres mois ($p \leq 0.05$) (**Figure. 29B**). L'analyse statistique a dévoilé l'absence de différences significatives entre les mâles et les femelles dans les deux tissus (**Figure.29**).

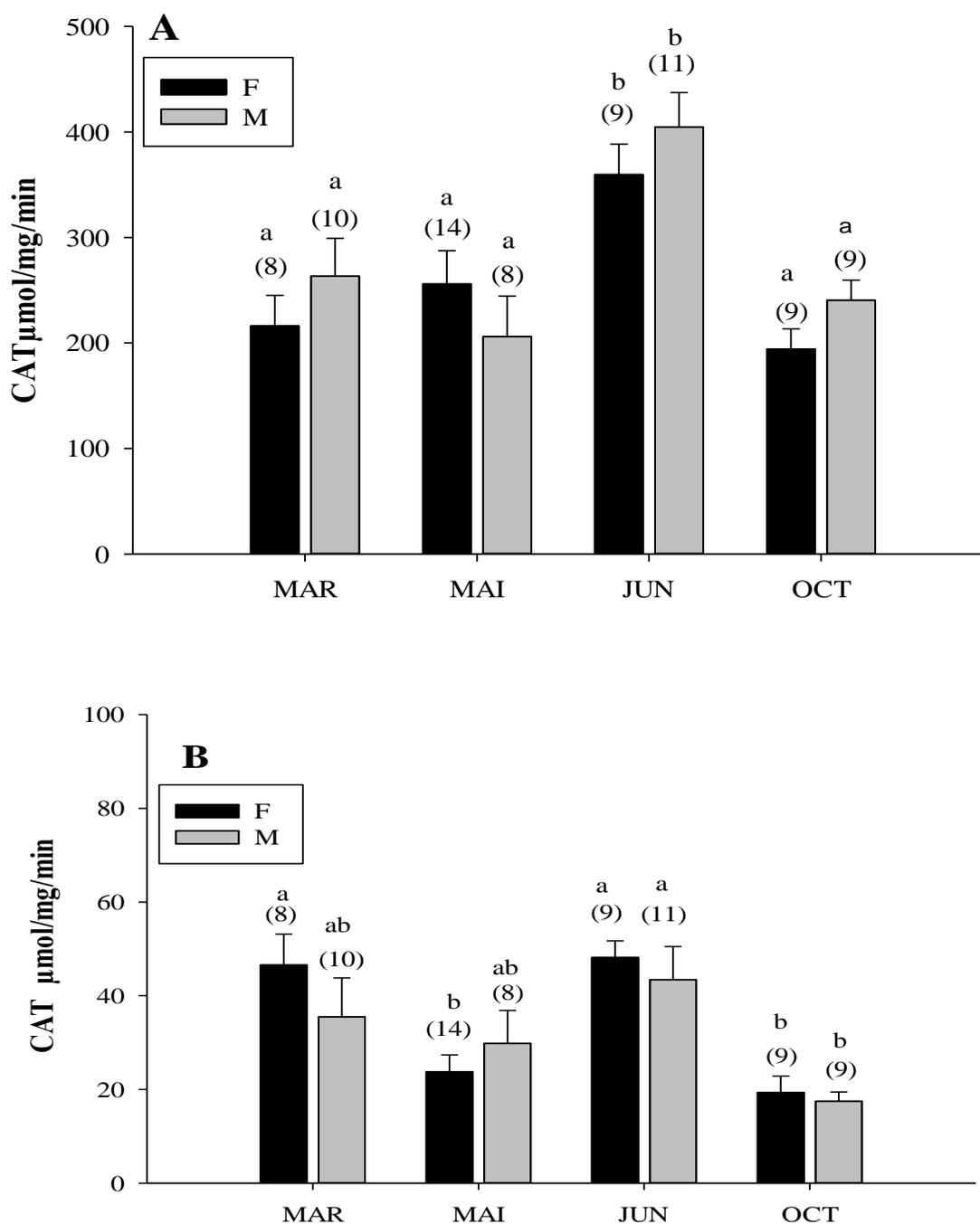


Figure. 28. Activité de la catalase (CAT) chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm \text{SEM}$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

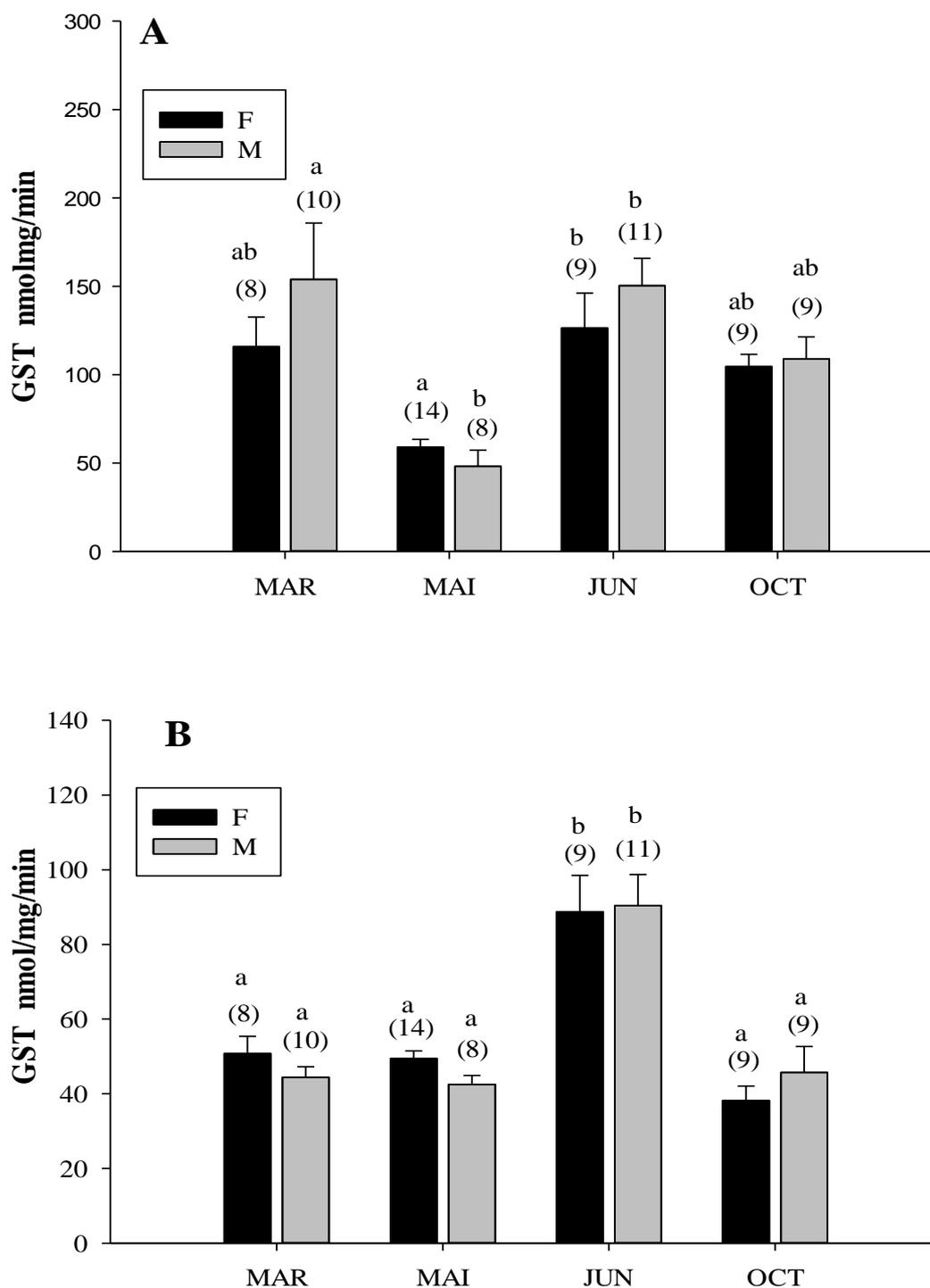


Figure. 29. Activité de la GST. Chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

II. 1.6.3. Glutathion réductase (GR)

Dans le foie, les valeurs de l'activité GR s'étendent de $8,16 \pm 2,40$ à $15,91 \pm 2$, nmol/mg/min chez les femelles et de $9,02 \pm 2,57$ à $18,44 \pm 2,57$ nmol/mg/min chez les mâles. Les valeurs minimales sont respectivement observées aux mois d'Octobre et Mai alors que les valeurs maximales sont notées au mois de Mars. Généralement, l'activité de GR présente des faibles fluctuations saisonnières chez les mâles. Par contre, les variations saisonnières sont importantes chez les femelles, nous avons ainsi observé une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de l'activité de GR au mois de Mars en comparaison avec les autres mois (**Figure 30A**).

Au niveau des branchies, les valeurs de l'activité de la GR sont plus ou moins similaires à celles obtenues au niveau du foie. Ces dernières exhibent des fluctuations saisonnières importantes ($p \leq 0,05$) chez les femelles et les mâles, les valeurs de la GR varient respectivement de $11,75 \pm 2,22$ et $9,74 \pm 2,20$ nmol/mg/min notées au mois d'Octobre à $14,95 \pm 5,40$ et $15,27 \pm 4,41$ nmol/mg/min détectées au mois de Juin (**Figure.30B**).

La comparaison entre les mâles et les femelles n'a décelé aucune différence significative dans l'activité de GR au niveau des deux tissus étudiés (**Figure.30**).

II. 1.6.4. Glutathion (GSH)

Le taux du GSH est illustré dans la **Figure. 31**. L'analyse statistique n'a indiqué aucune différence significative dans le taux du GSH hépatique entre les saisons et entre les mâles et les femelles de l'espèce *cyprinus carpio*. Les valeurs oscillent entre $0,12 \pm 0,046$ et $0,20 \pm 0,043$ $\mu\text{mol/mg}$ chez les femelles et entre $0,14 \pm 0,036$ et $0,22 \pm 0,045$ $\mu\text{mol/mg}$ chez les mâles. Les valeurs minimales sont enregistrées durant le mois Octobre tandis que les valeurs maximales sont signalées au mois de Juin (**Figure.31A**).

Contrairement au foie, le taux du GSH observé au niveau des branchies exhibe des fluctuations saisonnières importantes ($p \leq 0,05$) avec un minimum observé au mois d'Octobre et un maximum observé au mois Juin chez les deux sexes. Les valeurs sont respectivement $0,080 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/mg}$ (femelles) et $0,085 \pm 0,007$ $\mu\text{mol/mg}$ (chez les mâles) et $0,154 \pm 0,008$ et $0,14 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/mg}$ (**Figure.31B**).

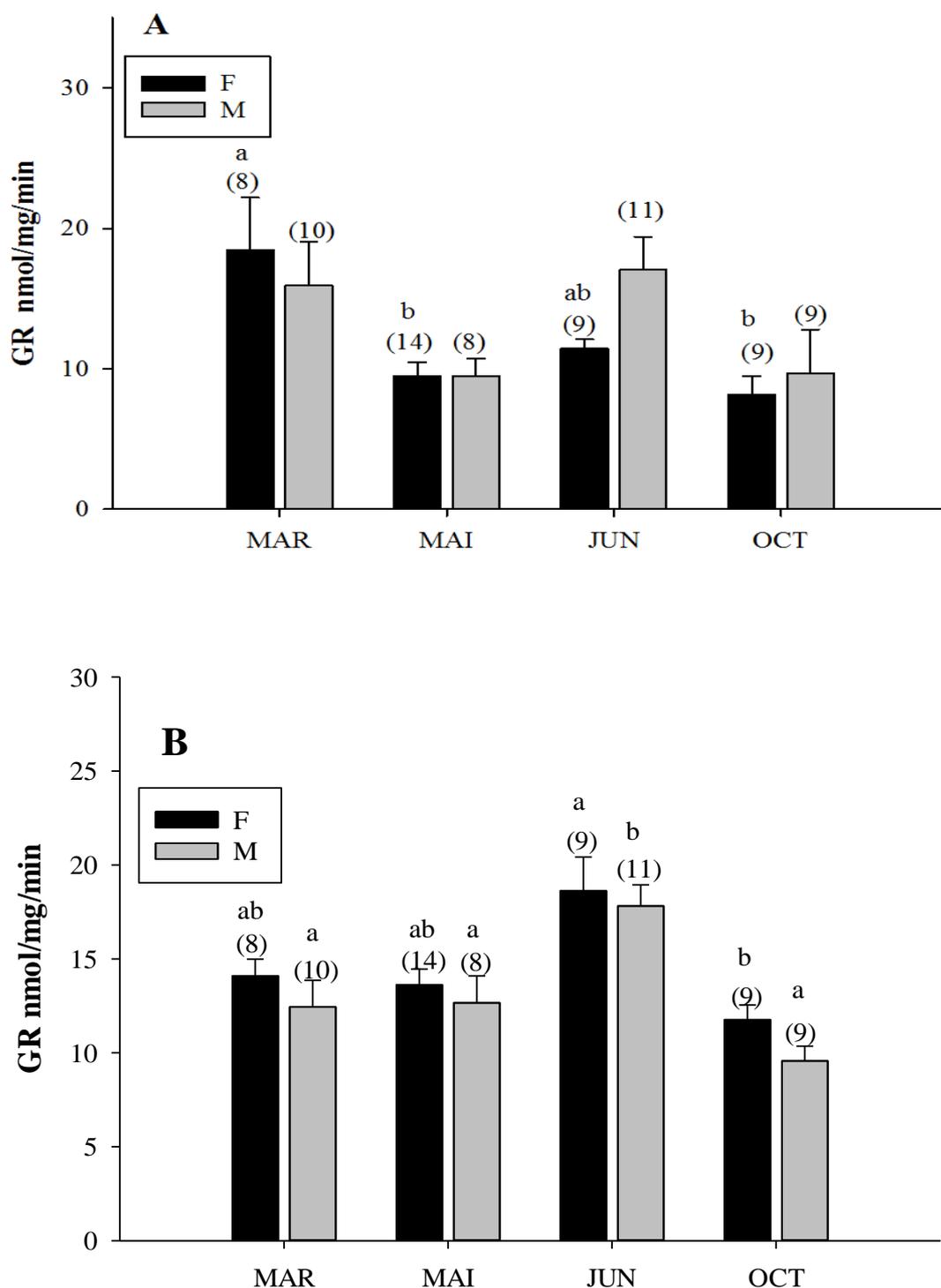


Figure.30. Activité du glutathion réductase (GR) chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

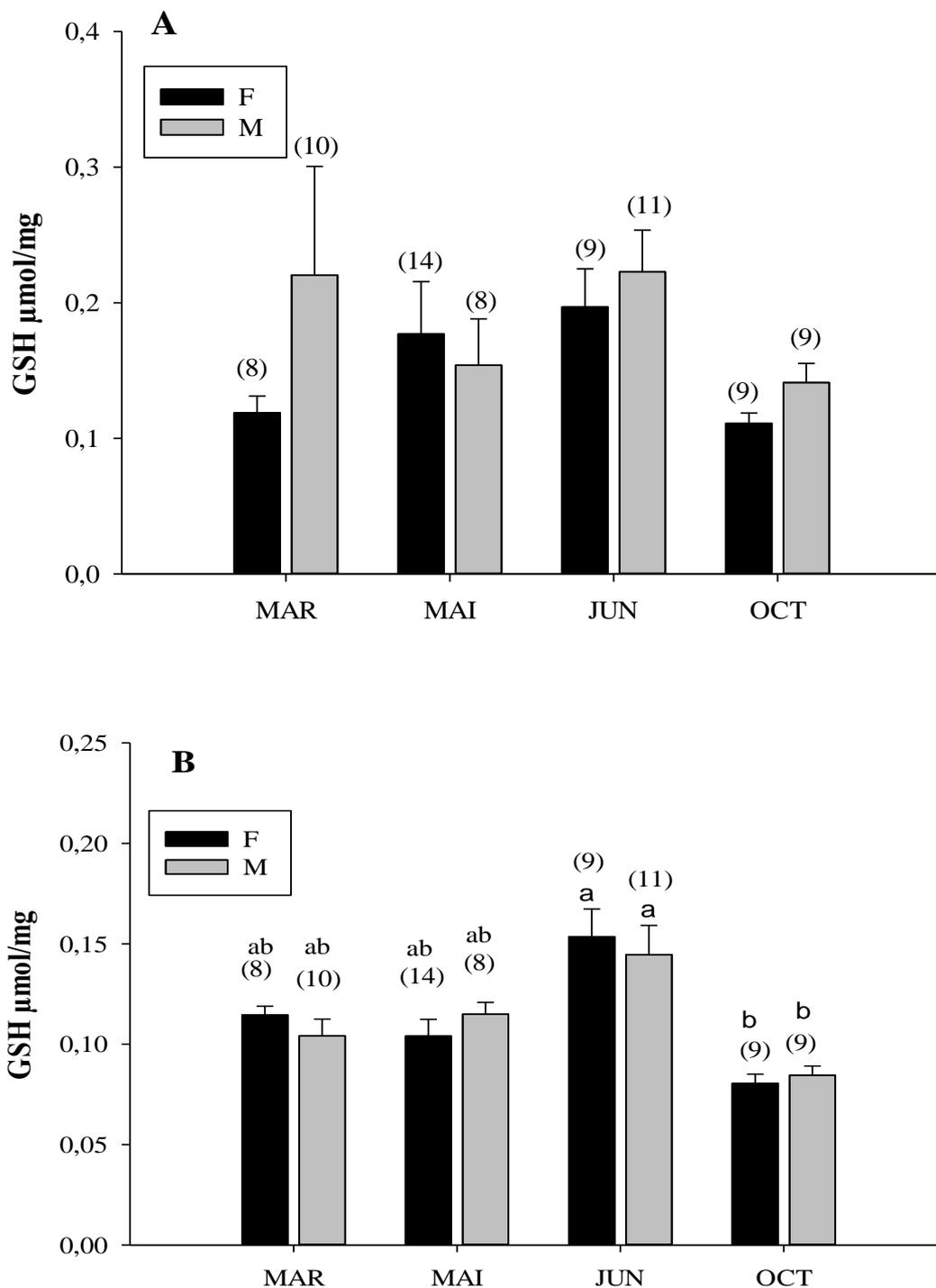


Figure. 31. Taux du glutathion(GSH) chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm \text{SEM}$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

II. 1.6.5. MDA

Dans le foie, le taux de MDA chez les femelles et les mâles capturés dans le barrage de Beni Haroun varie respectivement de $0,715 \pm 0,59$ nmol/mg et $0,86 \pm 0,63$ nmol/mg à $4,89 \pm 0,55$ nmol/mg et $4,86 \pm 0,63$ nmol/mg (**Figure.32A**). Le taux du MDA observé au niveau des branchies est plus élevé à celui signalé au niveau du foie. Les valeurs oscillent entre $1,73 \pm 1,05$ et $8,401 \pm 1,0$ nmol/mg chez les femelles et entre $2,10 \pm 1,06$ nmol/mg et $9,71 \pm 0,88$ nmol/mg chez les mâles (**Figure.32B**). Les valeurs minimales sont observées au mois Juin, alors que les valeurs maximales sont notées au mois d'Octobre, L'analyse statistique a signalé une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du taux des MDA au niveau des deux tissus pendant le mois d'Octobre en comparaison aux autres mois (**Figure. 32**). En ce qui concerne les différences entre les mâles et les femelles, l'analyse statistique n'a indiqué aucun effet significatif (**Figure 32**).

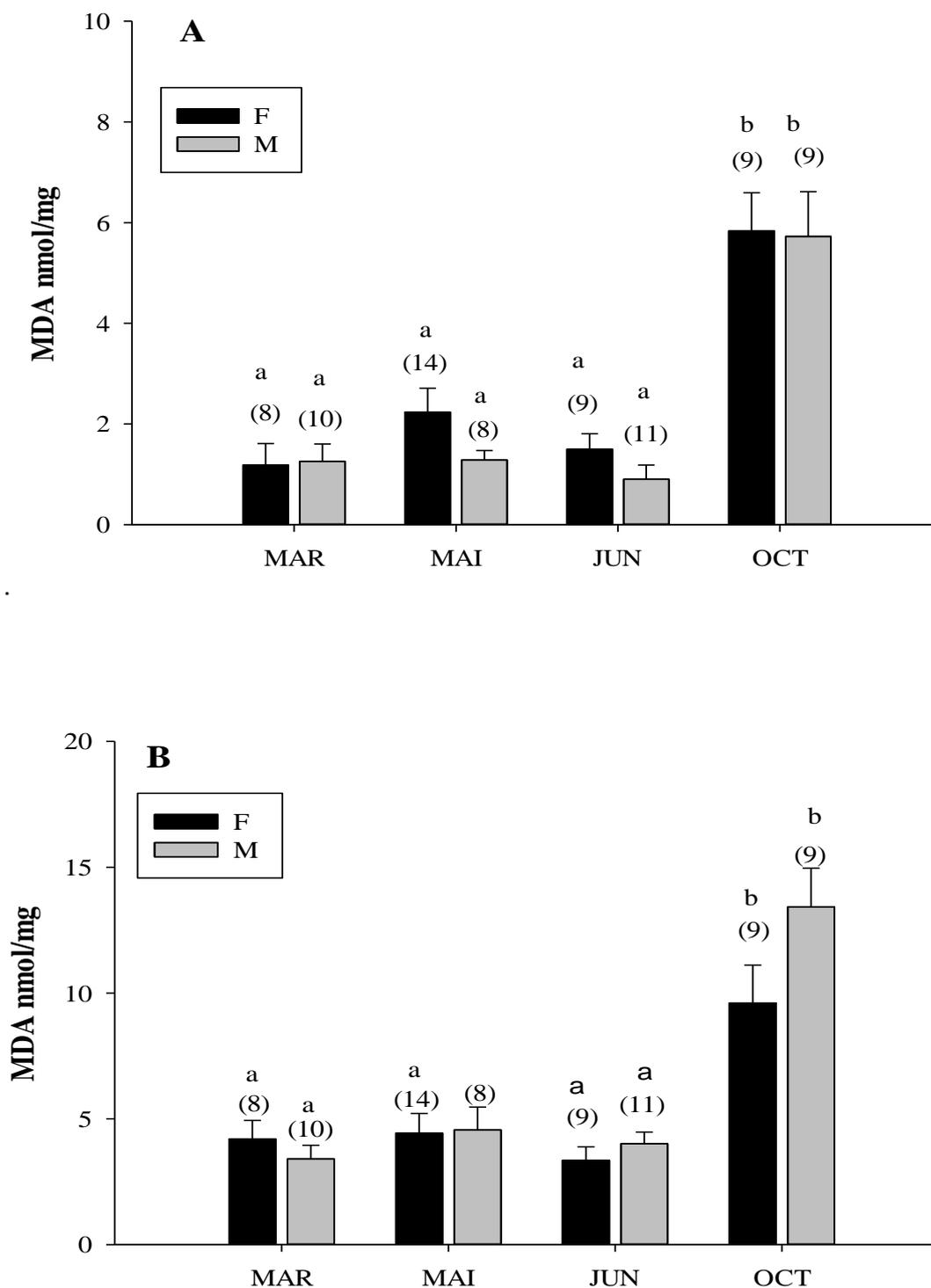


Figure. 32. Taux du MDA chez l'espèce *Cyprinu scarpio* capturée dans le barrage de Beni Haroun durant la période (Mars- Octobre 2014). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). A= Foie, B= branchies. F= femelles. M= mâles. Le nombre des poissons est indiqué par des chiffres arabiques. Les différences entre les différents mois sont indiquées par des lettres minuscules. Les différences entre les mâles et les femelles sont indiquées par des lettres majuscules ($p \leq 0.05$).

II.3. Utilisation de l'induction *in vivo* chez les espèces (*Abramis brama* et *Barbus callensis*) et *in vitro* dans les lignées cellulaires (RTG2 et PLHC1) des activités de détoxification du système P450 (CYP1A et d CYP3A) pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les polluants organiques persistants (POPS)

III. 3.1. Les paramètres de l'eau

La température de l'eau suit un rythme saisonnier. Elle varie de $8,2 \pm 0,1$ °C observée au mois de Janvier au niveau de RH à $26,2 \pm 0,1$ °C enregistrée au mois d'Août dans la même station. Le pH de l'eau est neutre à basique, les valeurs sont généralement comprises entre $7,4 \pm 0,0$ et $8,4 \pm 0,1$ (**Tableau S1 annexe III**).

III. 3.2. Paramètres biométriques

III.3.2.1. Paramètres biométriques de l'espèce *Barbus callensis*

Les valeurs de HSI varient de $0,65 \pm 0,02$ (pour les femelles capturées dans BH au mois de Mai) à $1,86 \pm 0,11$ (pour les mâles capturés en RH, en Août) (**Tableau S2 Annexe III**). L'étude statistique n'a montré aucune différence significative dans les valeurs de HSI entre les différents sites d'échantillonnage durant les mois de Mars, de Mai et de Janvier. Par ailleurs, des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différentes stations ont été observées durant les mois d'Août et d'Octobre. En effet, les poissons capturés au mois d'Août niveau du RH présentent des valeurs plus élevées ($p < 0,05$) par rapport à ceux capturés dans la station EN durant le même moi. HSI a aussi montré des différences importantes ($p < 0,05$) entre toutes les stations durant le mois d'Octobre, avec les valeurs les plus élevées au niveau de la station EN et les plus faibles dans la station BH (**Tableau. 10**).

En ce qui concerne les variations saisonnières, Aucune différence significative n'a été observée entre les différents mois pour un site d'échantillonnage donné, à l'exception de celles observés entre Mai et Août dans la station RH (HSI était significativement plus élevé en Août) et celles notées entre Octobre et Mai dans la station EN, avec des valeurs plus élevées en Octobre (**Tableau 10**).

Dans certaines stations, certaines différences ont été observées dans les valeurs HSI entre les mâles et les femelles (Mars, EN : les mâles ont des valeurs de HSI significativement plus élevée que les femelles. Mai, RH : les femelles présentent des valeurs HSI significativement plus élevées que les mâles. Août, les stations RH et BH exhibent des valeurs de HSI significativement plus élevées chez les mâles par rapport aux femelles) (**Tableau S2 annexes**).

Les valeurs du facteur de condition sont comprises entre $1,15 \pm 0,07$ (observée chez les mâles capturés dans RH pendant le mois d'Août) et $2,82 \pm 0,24$ (notée chez les femelles capturées au niveau de la station EN durant le même mois) (**Tableau S2 Annexe III**).

L'analyse statistique n'a dévoilé aucune différence significative dans les valeurs de CF entre les sites d'échantillonnage pendant les mois de Mars et de Mai. Cependant, des grandes différences ($p < 0,05$) ont été observées pendant les autres mois. Ainsi, la station EN présente des valeurs de CF significativement inférieures à la station RH durant le mois d'Août. D'autre part, la station BH montre des valeurs plus faibles par rapport à la station EN pendant le mois d'Octobre. Enfin, les valeurs de FC notées dans la station RH durant le mois de Janvier sont significativement plus élevées que celles signalées dans les deux autres stations (BH et EN) (**Tableau 10**).

Tableau.10. Poids, longueur, facteur de condition (CF) et indice hépatosomatique (HSI) des spécimens du Barbeau (*Barbus callensis*) utilisé dans cette étude (Mars 2015- Octobre 2016).

Mois	Station	n	Poids (g)	Longueur (cm)	CF	HSI
Mars 2015	RH	5	438,8±43,87	24,8±0.6	1,75± 0,14 ^{ab}	1,23±0,02 ^{ab}
	BH	5	501,2±68,98	24,4±0.75	2,02±0,21	1,03± 0,06
	EN	5	473,6±21,84	23,8±1.04	1,98±0,058 ^{ab}	1,17±0,085 ^{ab}
Mai 2015	RH	6	496,33±42,31	29,16±0,74	1,68±0.1 ^{ab}	0,77±0,050 ^a
	BH	6	547,5±49,0	31,16±0,90	1,72±0,11	0,84±0,05
	EN	5	519±53,45	29,6±1,21	1,73±0,10 ^{ab}	0,87±0,05
Août 2015	RH	6	376,5, 5±76,23	22,6±2,47	1,45±0,16 ^{Aa}	1,55±0.16 ^{Ab}
	BH	6	569,16 ±95.87	28± 1.98	1,96 ±0.23 ^{AB}	1,01±0,04 ^{AB}
	EN	6	841,6±121.05	33,6±2,94	2.43± 0.16 ^{Ba}	0,90 0.02 ^{Ba}
Octobre 2015	RH	5	680,5 ±88.75	32,83±1.85	2,02± 0.16 ^{ABab}	1,07 ±0.04 ^{Aab}
	BH	6	806,83±38,84	35 ±0.28	2,30±0.10 ^A	0,96±0.02 ^B
	EN	8	434,375±32.13	26,93±0.34	1,60±0.10 ^{Bb}	1,31± 0.02 ^{Cb}
Janvier 2016	RH	6	708±5.85	30,27±0.33	2,33±0,013 ^{Ab}	1,10±0,016 ^{ab}
	BH	6	551,16± 79.38	31,5± 1.56	1,70± 0.17 ^B	1,149± 0.075
	EN	6	547±63,12	30,33±0.88	1,77±0.15 ^{Bab}	0,98± 0.016 ^{ab}

Les valeurs sont représentées comme moyenne ± SEM. n est le nombre des poissons. Les différences entre les stations au cours du même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre les différents mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($p < 0,05$).

D'un point de vue saisonnier, les résultats de cette étude n'ont montré aucune différence significative dans les valeurs de CF entre les différents mois dans un site

d'échantillonnage donné à l'exception de celles observées entre Janvier et Août dans la station RH (les valeurs les plus élevées sont observées au mois de Janvier) et entre Octobre et Août en BH (une augmentation de CF est notée pendant le mois d'Août) (**Tableau 10**).

En ce qui concerne les différences entre les sexes, il est important de noter que les femelles échantillonnées dans les stations RH et BH durant le mois d'Août et dans la station BH pendant le mois de Janvier exhibent des valeurs de CF plus élevées par rapport aux mâles. Par ailleurs, les mâles échantillonnés dans la station RH pendant le mois d'Octobre présentent des valeurs de CF plus élevées que les femelles (**Tableau S2 Annexe III**).

III 3.2.2. Paramètres biométriques de l'espèce *Ab ramis brama*

Tableau 11. Données biométriques et physiologiques de l'espèce *Abramis brama* échantillonnée dans le barrage de Beni Haroun (Mars- Octobre 2015).

Mois	station	n	poids	longueur	CF	HSI
Mars	RH	6	175±12 ^a	20.4±0.70 ^{ab}	0.85±0.03 ^a	0.84±0.12
	BH	4	194±15 ^{ac}	20.5±0.64 ^a	0.94±0.06 ^a	0.89±0.06
	EN	4	192±8 ^a	18±0.91 ^{ab}	1.07±0.02 ^a	0.61±0.05
Mai	RH	5	171±5 ^a	21.5±0.2 ^{Ab}	0.79±0.02 ^a	0.9±0.07
	BH	7	146±12 ^a	17.83±0.6 ^{Ba}	0.82±0.05 ^a	1.3±0.29
	EN	5	158±9 ^a	19±0.70 ^{ABa}	0.83±0.05 ^a	1.02±0.13
Aout	RH	5	302±47 ^{Ab}	23.2±1.24 ^{Aa}	1.27±0.29 ^{Ab}	0.81±0.05
	BH	5	421±17 ^{Bb}	27.4±0.1 ^{Bb}	1.55±0.11 ^{Bb}	0.73±0.02
	EN	4	360±8 ^{Bb}	25.33±2.77 ^{ABb}	1.45±0.15 ^{Bb}	0.78±0.01
Octobre	RH	6	329±16 ^{Ab}	26.08±0.66 ^{Ab}	1.26±0.05 ^{Ab}	0.76±0.05
	BH	5	224±17 ^{Bc}	24.5±0.82 ^{ABb}	0.90±0.04 ^{Ba}	0.90±0.08
	EN	4	150±9 ^{Ca}	20.5±0.64 ^{Bab}	0.73±0.03 ^{Ca}	1.01±0.15

Les valeurs sont représentées en moyenne ± SEM, n est le nombre de poissons, (CF) le facteur de condition, (HSI) indice hépatosomatique. Les différences significatives entre les différentes stations au cours du même mois sont indiquées par des lettre majuscules, les différences significatives entre les mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules (P <0,05).

Les données du poids, de la longueur, de CF et de HSI l'espèce *Abramis brama* et leur étude statistique sont présentés dans le **tableau 11**. D'une manière générale, les poissons ayant le poids et la longueur les plus élevées sont capturés durant le mois d'Août. Les valeurs de CF et HSI variaient respectivement de 0,73 ± 0,03 à 1,55 ± 0,11 et de 0,61 ± 0,05 à 1,3 ± 0,29. Les valeurs du HSI présentent des faibles fluctuations spatio-temporelles. Quant au FC, les valeurs étaient identiques dans les poissons collectés au niveau de toutes les stations durant les deux premières campagnes de prélèvement (mois de Mars et de Mai). Ces valeurs ont significativement augmenté au niveau de toutes les stations de prélèvement durant le mois d'Août avec des valeurs plus faibles au niveau de la station RH par rapport aux stations EN et

BH. Durant le mois d'Octobre, les valeurs de CF ont considérablement diminué dans les stations (BH) et (EN). Ces valeurs étaient proches de celles observées en Mars et en Mai, en ce qui concerne la différence entre les stations, la tendance était EN <BH <RH (**Tableau11**).

III.3.3. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)

III.3.3.1. Activité EROD chez l'espèce *Barbus callensis*

Les résultats de l'activité EROD dans le foie et les branchies de l'espèce *Barbus callensis* sont représentés dans la **Figure.33**. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative dans l'activité EROD hépatique entre les sites d'échantillonnage durant les mois de Mars et de Mai (**Figure.33A**). Les valeurs s'étendent de $26,2 \pm 7,0$ à $67,1 \pm 7,6$ pmol/mg/min. Cette activité a significativement augmenté durant le mois d'Août, particulièrement dans les poissons capturés au niveau des stations RH ($158,2 \pm 120,3$ pmol/mg/min) et EN ($104,3 \pm 68,7$ pmol/mg/min). Toutefois aucune différence entre les sites d'échantillonnage n'a été détectée pendant ce mois. En Octobre, l'activité EROD a continué à augmenter en atteignant son maximum dans tous les sites d'échantillonnage. Pendant ce mois, les poissons capturés dans la station BH présentent des valeurs de l'activité EROD significativement ($p < 0,05$) plus élevées ($640,8 \pm 27,04$ ppm / mg / min) par rapport à celles observées dans les stations RH et EN ($289,2 \pm 30,9$ et $190,7 \pm 19,7$ pmol / mg / min respectivement). Enfin, une réduction jusqu'à des niveaux similaires à celles observés durant les mois de Mars et de Mai a été signalée chez les poissons capturés au mois de Janvier, aucune différence entre les sites d'échantillonnage n'a été détectée durant ce mois (**Figure 33A**)

En ce qui concerne les différences entre les sexes (**Figure S1A Annexe III**), nous avons seulement observé des différences significatives pendant les mois d'Août et Octobre. Ainsi, les valeurs de l'activité EROD observées chez les femelles étaient significativement ($p < 0,001$) plus élevées par rapport à celles signalées chez les mâles capturés dans les stations RH et BH durant le mois d'Août et au niveau de la station EN durant le mois d'Octobre.

L'activité EROD observée au niveau des branchies est plus faible par rapport à celle obtenue dans le foie (**Figure 33B**). Durant le mois de Mars, les poissons capturés au niveau des stations EN et RH présentent des activités EROD significativement inférieures ($p < 0,05$) ($2,5 \pm 0,2$ et $2,6 \pm 0,6$ pmol / mg / min, respectivement) par rapport aux poissons capturés dans la station BH ($5,47$ pmol / mg / min). Cette activité est presque doublée durant le mois de Mai. Elle a ensuite significativement réduite durant les mois d'Août et Octobre. D'une façon générale, aucune différence entre les sites d'échantillonnage n'a été observée au cours de ces trois mois. Enfin ; l'activité EROD a significativement augmenté durant le mois de Janvier par rapport aux mois précédents dans les branchies des poissons capturés en RH et EN ($16,84 \pm$

1,14 et $20,73 \pm 1,14$ pmol / mg / min, respectivement), ces derniers présentent des niveaux de l'activité EROD significativement plus élevés par rapport à la station BH ($3,80 \pm 0,79$ pmol / mg / min).

En général, aucune différence significative dans l'activité EROD branchiale chez l'espèce *Barbus callensis* n'a été observée entre les mâles et les femelles (**Figure S1B Annexe III**), à l'exception des poissons capturés dans la station RH durant le mois d'Août et dans la station BH pendant le mois d'Octobre, où les mâles présentent des activités EROD plus faibles par rapport aux femelles ($p < 0,05$).

III.3.3.1. Activité EROD chez l'espèce *Abramis brama*

Les valeurs moyennes de l'activité EROD dans le foie et les branchies de l'espèce *Abramis brama* sont représentées dans la **Figure 34**. En raison du petit nombre des femelles capturées et d'absence des différences entre les deux sexes, les résultats obtenus pour tous les animaux capturés dans chaque station et chaque mois sont représentés ensembles. D'une manière générale, les valeurs de l'activité EROD observées au niveau foie de l'espèce *Abramis brama* sont plus faibles à celle signalées chez l'espèce *Barbus callensis*. Ces valeurs s'étendent de $1,96 \pm 0,71$ pmol / mg / min (observée chez les poissons échantillonnés durant le mois de Mars au niveau de la station RH) à $94,43 \pm 22,86$ pmol / mg / min (enregistrée dans les poissons prélevés dans la station BH durant le mois d'Octobre) (**Figure. 34A**). Pendant le mois de Mars, l'activité EROD hépatique des poissons provenant de la station BH ($49,85 \pm 11,51$ pmol / mg / min) est respectivement 25 et 14 fois plus élevée que celle observée dans les stations RH et EN. Durant les deux campagnes suivantes (Mai et Août), les valeurs obtenues dans la station BH ont diminué de manière significative les valeurs sont respectivement de l'ordre de $9,77 \pm 7,81$ et $12,07 \pm 2,6$ pmol / mg / min. Aucune différence significative n'a été remarquée entre les différentes stations durant ces deux campagnes (les niveaux d'EROD dans les foies de poissons capturés en RH et EN sont de l'ordre de $18,98 \pm 4,51$ et $12,54 \pm 3,10$ pmol / mg / min en Mai et $12,54 \pm 3,02$ et $25,11 \pm 6,65$ en Août respectivement). Durant le mois d'Octobre, l'activité EROD atteint son maximum dans tous les sites d'échantillonnage ($79,22 \pm 28,87$ pmol / mg / min dans RH, $94,43 \pm 22,86$ pmol / mg / min en BH et $77,72 \pm 17,29$ pmol / mg / min dans la station EN). Ces valeurs sont significativement plus élevées par rapports aux mois précédents au niveau de toutes les stations (à l'exception de la station BH qui présente des valeurs plus ou moins similaires à celles observées durant le mois de Mars). Aucune différence significative n'a été signalée entre les différents sites de prélèvement durant le mois d'Octobre (**Figure.34A**)

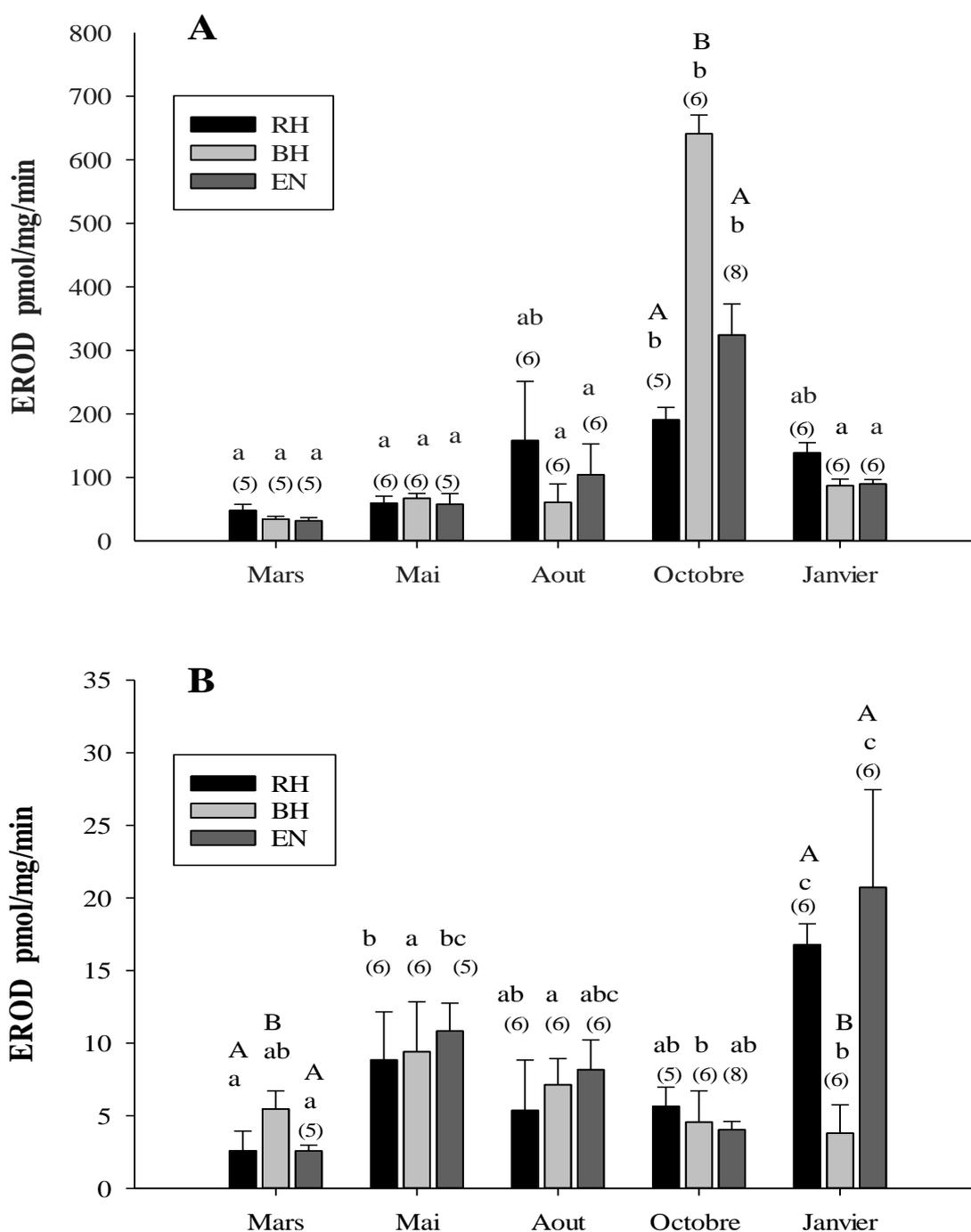


Figure 33. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) dans les tissus du barbeau Algérien (*Barbus callensis*) capturé dans lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars 2015 et Janvier 2016). (A) Valeurs de l'activité EROD dans le foie. (B) Valeurs de l'activité EROD dans les branchies. Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur (M±SEM). Le nombre des poissons pour chaque site et chaque campagne de prélèvement apparaît entre parenthèses. Les différences significatives entre les différentes stations durant le même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre les différents mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($p < 0,05$).

Contrairement à celles notées au niveau du foie, les valeurs de l'activité EROD observées dans les branchies chez l'espèce *Abramis brama* sont plus au moins similaires à celles obtenues chez l'espèce *Barbus callensis*. D'une façon générale, l'activité EROD chez les poissons capturés durant le mois de Mars est significativement plus élevée dans la station EN ($6,29 \pm 0,96$ pmol/mg min) par rapport aux deux autres stations ($0,91 \pm 0,24$ pmol/mg/min en HR, $1,03 \pm 0,45$ pmol/mg/min en BH). Ces valeurs ont significativement diminués chez les poissons capturés au niveau de la station EN durant le mois de Mai. Aucune différence entre les différentes stations d'échantillonnage n'a été observée durant ce mois ($1,34 \pm 0,23$; $1,65 \pm 0,34$ et $2,50 \pm 0,57$ pmol/mg/min en RH, BH et EN, respectivement). Durant le mois d'Août, l'activité EROD a significativement augmenté dans tous les sites d'échantillonnage, atteignant donc des niveaux maximaux chez les poissons capturés dans les stations RH et BH. Pour la troisième station (EN), l'activité EROD reste inférieure à celle observée au mois de Mars. Aucune différence significative entre les différents sites de prélèvement n'a été signalée durant ce mois. Les valeurs sont respectivement $7,06 \pm 1,87$ pmol/ mg/min dans RH $4,93 \pm 0,46$ pmol/mg/min dans BH et $3,69 \pm 0,76$ pmol / mg / min en EN. Au cours de la dernière campagne échantillonnage effectuée en Octobre, l'activité EROD est réduite dans les trois sites d'échantillonnages en atteignant des valeurs similaires à celles observées pendant le mois de Mars dans les stations RH et BH(**Figure.34B**).

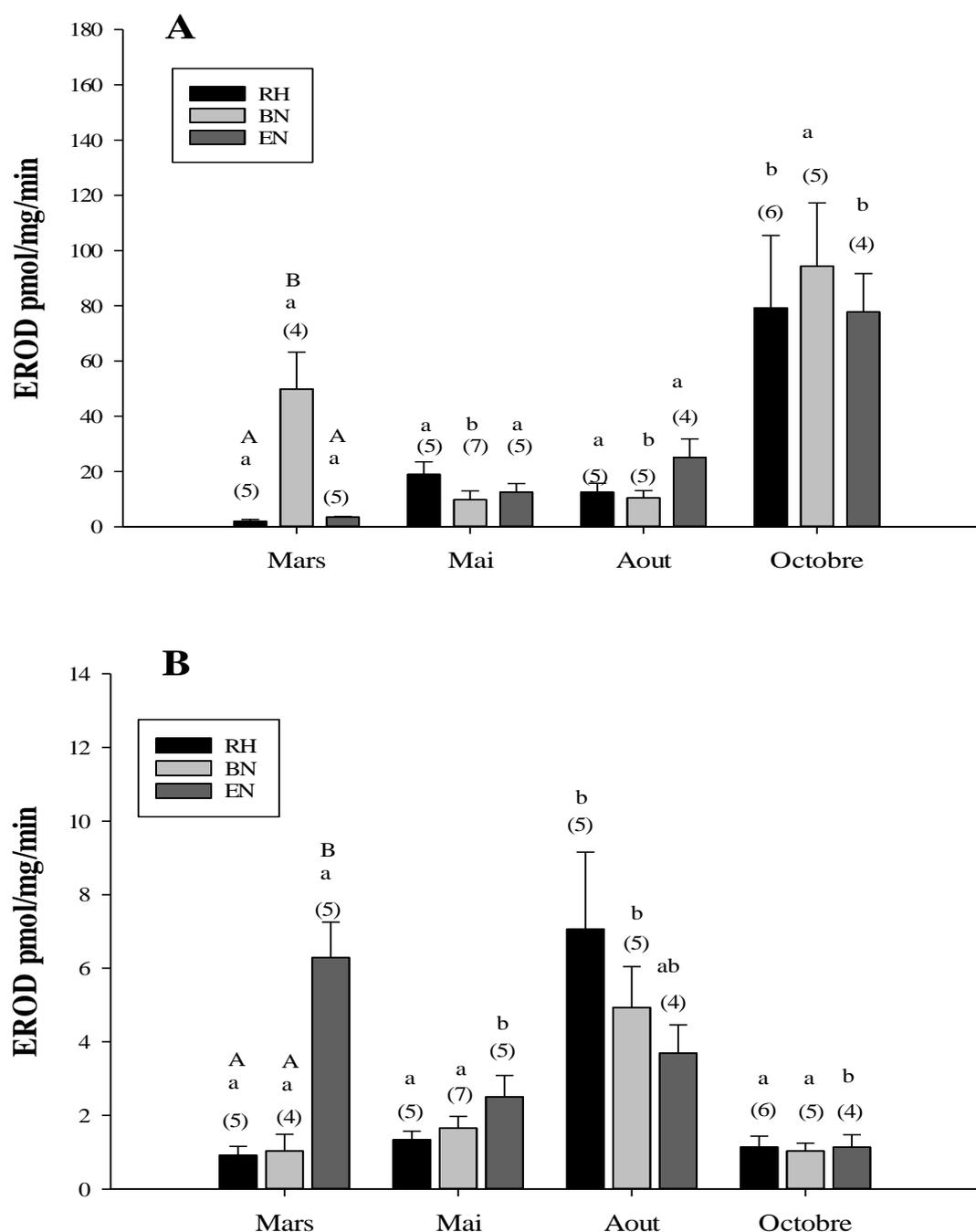


Figure .34. Activité de 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) dans les tissus de la brème (*Abramis brama*) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars et Octobre2015). (A) Valeurs de l'activité EROD dans le foie. (B) Valeurs de l'activité EROD dans les branchies .Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). Le nombre des poissons pour chaque site et chaque compagne de prélèvement apparaît entre parenthèses. Les différences significatives entre les différentes stations durant le même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre les différents mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($p \leq 0.05$)

III.3.4. Activité Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-O-debenzyloxyase (BFCOD)

III.3.4.1. Activité BFCOD chez l'espèce *Barbus callensis*

Les valeurs de l'activité de BFCOD dans les foies de l'espèce *Barbus callensis* varient de $26,05 \pm 1,68$ à $247,97 \pm 31,87$ pmol / mg / min (**Figure.35A**). Durant la première campagne de prélèvement (mois de Mars), les valeurs de BFCOD hépatique des poissons capturés dans la station EN sont significativement ($p < 0,05$) inférieures à celles observées dans la station RH. Deux mois plus tard exactement au mois de Mai, l'activité BFCOD a significativement augmenté dans les stations BH et EN ($129,70 \pm 23,31$ et $98,51 \pm 36,30$ pmol/mg/min, respectivement), cette activité a en revanche diminué dans la station RH ($39,74 \pm 3,97$ pmol / mg / Min) avec des valeurs significativement ($p < 0,05$) inférieures à celles observées dans les deux autres stations (BH et EN). Durant la campagne suivante au mois d'Août, l'activité BFCOD a encore diminué dans les animaux capturés dans les stations BH et EN, à cet égard, les valeurs observées en BH ($26,05 \pm 1,68$ pmol / mg / min) étaient significativement ($p < 0,05$) inférieures à celles détectées en RH et EN. Durant le mois d'Octobre, les valeurs de l'activité BFCOD ont significativement ($p < 0,05$) ré-augmenté en atteignant leurs maximum au niveau de toutes les stations avec des niveaux significativement élevés ($p < 0,05$) dans la station BH ($247,97 \pm 31,78$ mol / par rapport aux deux autres stations (RH et EN) (152.30 ± 14.69 et 152.06 ± 28.07 mol / mg / min, respectivement). Au cours de la dernière campagne de prélèvement (le mois de Janvier), l'activité BFCOD a diminué légèrement dans les stations RH et EN (143.40 ± 15.54 et 145.45 ± 3.80 pmol / mg / min, respectivement), mais significativement ($p < 0.05$) dans BH (104.10 ± 7.32 pmol / mg / min). Aucune différence significative entre les différents sites d'échantillonnage n'a été détectée au cours de ce mois.

D'une manière générale, l'activité BFCOD n'a pas montré des différences significatives ($p < 0,05$) entre les deux sexes (**Figure S2A Annexe III**), à l'exception des valeurs notées chez les femelles capturées dans la station RH durant le mois d'Aout qui présentent des activités BFCOD significativement plus élevées ($p < 0,005$) par rapport au mâles.

En ce qui concerne les branchies, comme dans le cas de l'EROD, l'activité BFCOD présente des valeurs beaucoup plus faibles par rapport au foie. Les valeurs s'étendent de $5,86 \pm 0,42$ pmol/m /min (observée dans la station EN pendant le mois de Mars) à $17,75 \pm 1,48$ pmol / mg / min (détectée dans la même station au mois d'Octobre) (**Figure. 35B**).

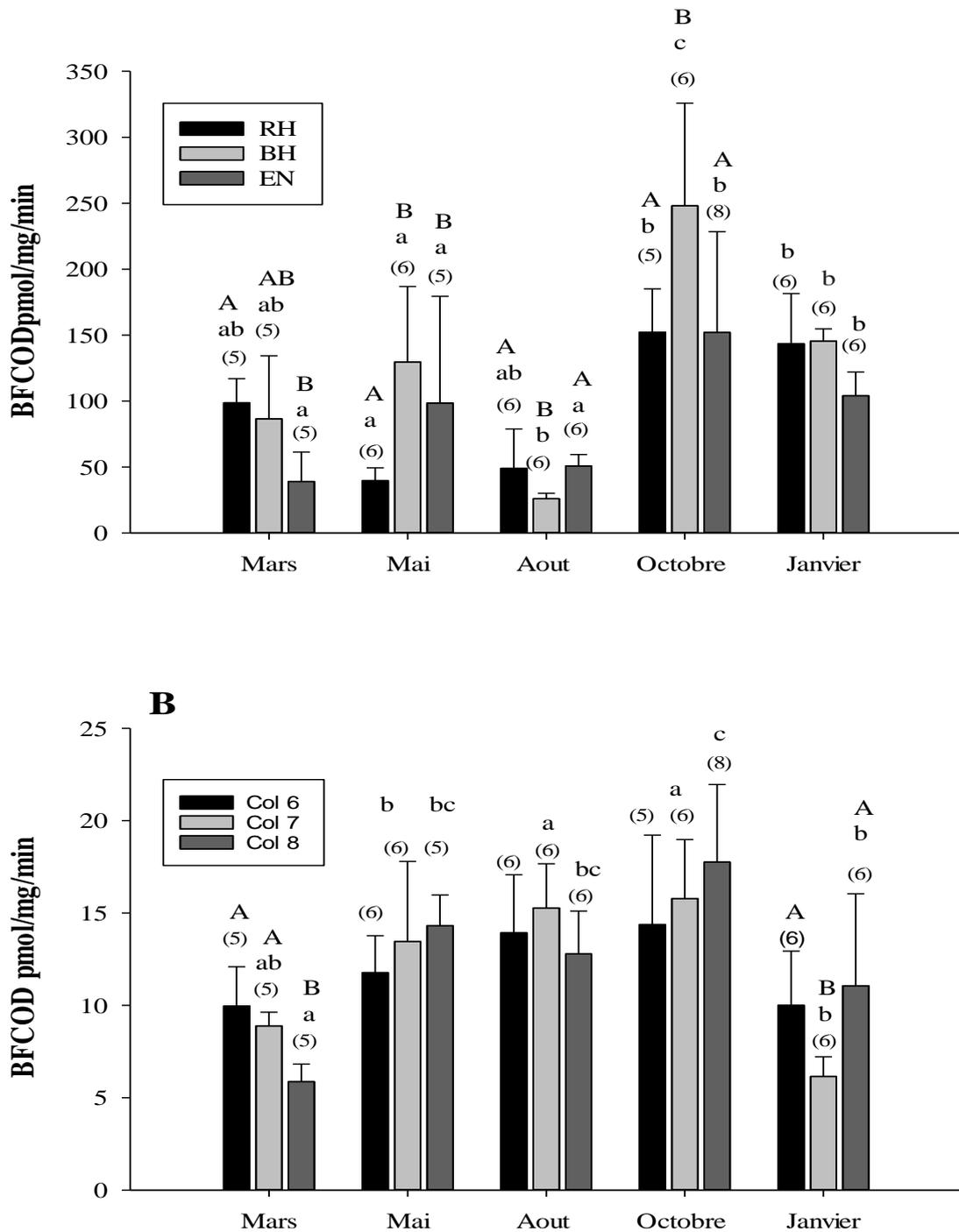


Figure.35. Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-*O*-debenzyloxyase (BFCOD) dans les tissus du barbeau Algérien (*Barbus callensis*) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars 2015 et Janvier 2016). (A) Valeurs de l'activité BFCOD dans le foie. (B) Valeurs de l'activité BFCOD dans branchies. Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur (M±SEM). Le nombre des poissons pour chaque site et chaque compagne de prélèvement apparaît entre parenthèses. Les différences significatives entre les différentes stations durant le même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre le différents mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($p \leq 0.05$).

Généralement, l'activité BFCOD branchiale observée pendant le mois de Mars au niveau de la station EN est significativement ($p < 0,05$) inférieure à celle obtenue dans les stations RH et BH. Une augmentation générale de l'activité BFCOD sans différence entre les sites d'échantillonnage a été observée dans les trois campagnes d'échantillonnage suivantes (mois de Mai, d'Août et d'Octobre). Cette activité a diminué durant le mois de Janvier dans toutes les stations, particulièrement dans la station BH où les valeurs du BFCOD sont significativement ($p < 0,05$) inférieures à celles notées dans les deux autres stations (RH et BH) et à celles observées durant les mois de Mai, d'Aout et d'Octobre (**Figure. 35B**).

III.3.4.2. Activité BFCOD chez l'espèce *Abramis brama*

Les valeurs de l'activité BFCOD hépatique et les branchiale de l'espèce *Abramis brama* sont représentées dans la **Figure 36**. Dans le foie (**Figure. 36A**), les poissons capturés au niveau de BH durant le mois de Mars présentent les niveaux les plus élevés, de l'activité BFCOD ($110,55 \pm 6,85$ pmol / mg / min) de tous les sites et les campagnes d'échantillonnage. Ces valeurs sont significativement plus élevées par rapport à celles observées dans les poissons capturés en RH ($13,09 \pm 3,81$ pmol/mg/min) et en EN ($21,95 \pm 2.22$ pmol/mg/min). Une diminution significative des niveaux de BFCOD hépatique a été observée dans les poissons capturés dans la station BH durant les deux campagnes d'échantillonnage suivantes (mois de Mai et d'Août). Cette activité n'a en revanche pas changé dans les deux autres stations (RH et EN.). Aucune différence significative entre les sites d'échantillonnage n'a été signalée au cours de ces deux mois. En Octobre, une augmentation significative de l'activité BFCOD a été observée au niveau de la station BH par rapport aux mois de Mai et Août et dans la station EN par rapport aux trois mois précédents. Pendant ce mois, les valeurs de BFCOD observées dans les poissons échantillonnés dans la station BH ($88,45 \pm 17,42$ pmol/mg/min) sont significativement plus élevées par rapport à ceux capturés au niveau de la station RH ($39,65 \pm 7,40$ pmol/mg min). Les poissons capturés dans EN présentent une activité BFCOD intermédiaire ($49,72 \pm 5,44$ pmol / mg / min) (**Figure. 36A**).

Dans les branchies, les valeurs d'activité du BFCOD varient entre $9,21 \pm 0,90$ pmol/mg/min (station EN, Mars) et $24,24 \pm 2,62$ pmol/mg/min (station BH, Octobre) (**Figure 36B**). Dans les trois premières campagnes d'échantillonnage (de Mars jusqu'à Août), aucune différence significative dans l'activité BFCOD des branchies n'a été signalée entre les différents sites et les différentes campagnes d'échantillonnage, à l' exception des valeurs observées durant le mois de Mai au niveau de la station EN, qui étaient significativement différentes de celles obtenues dans le même site durant le mois de Mars.

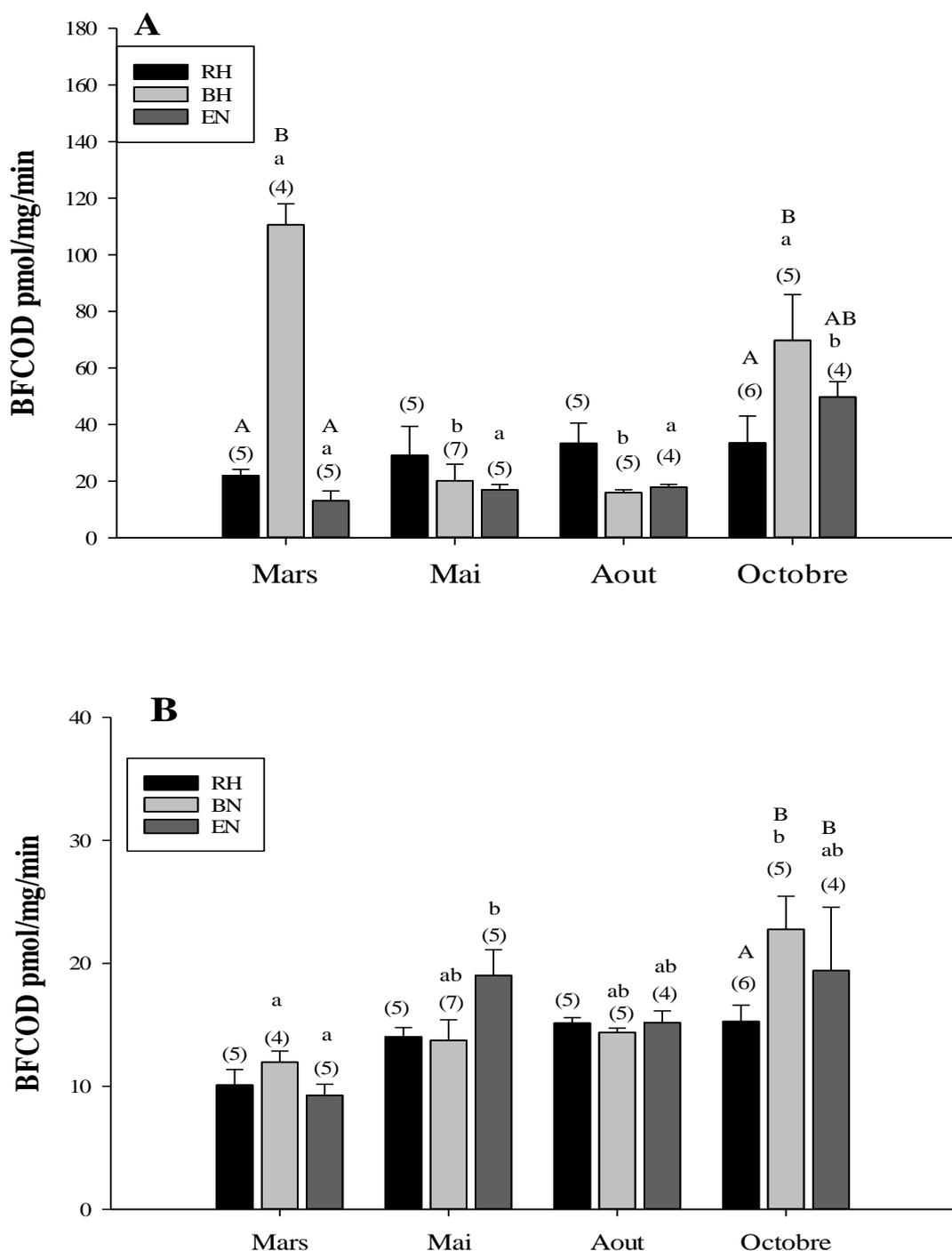


Figure .36. Benzyloxy-4-[trifluorométhyl]-coumarin-O-debenzyloxylyase (BFCOD dans les tissus de la brème commune (*Abramis brama*) capturée dans lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars et Octobre 2015). (A) Valeurs de l'activité BFCOD dans le foie. (B) Valeurs de l'activité BFCOD dans branchies. Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). Le nombre de poissons pour chaque site et chaque campagne de prélèvement apparaît entre parenthèses. Les différences significatives entre les différentes stations durant le même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre les différents mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($P \leq 0.05$)

En Octobre, à l'exception de la station RH qui a présenté des niveaux similaires dans toutes les campagnes d'échantillonnage, l'activité BFCOD a significativement augmenté pour atteindre son maximum dans les stations BH et EN. Dans ce contexte les niveaux de BFCOD étaient significativement plus élevés par rapport à la station RH (**Figure 36B**).

III.3.5 β NF-Eq dans les échantillons de sédiments

Table 12. Activité EROD dans lignées cellulaires RTG2 exposées aux différentes concentrations des sédiments collectés dans le barrage de Beni Haroun (Mars 2015-Janvier 2016)

Mois	Station	Concentration maximale des sédiments en (mg/ml)	Activité EROD maximale (pmol/mg/min)
Mars 2015	RH	40	36,19±5.39
	BH	20	103,91±10.04
	EN	40	22,24±5.67
Mai 2015	RH	40	100,87±13.13
	BH	40	86,95±12.97
	EN	40	9,82±2.32
Août 2015	RH	40	22,35±5.68
	BH	40	14,34±1.95
	EN	40	64,58±6.38
Octobre 2015	RH	20	68,55±6.17
	BH	40	122,22±10.19
	EN	40	17,04±2.34
Janvier 2016	RH	40	118,73 ±18.52
	BH	40	121,69± 16,86
	EN	40	82±8.18

Tous les extraits des sédiments ont provoqué une induction de l'activité EROD dans les cellules RTG2 (**Tableau 12**). Cependant, seuls les extraits provoquant une augmentation de l'activité EROD en fonction de la concentration des sédiments ont permis de calculer les équivalents β NF-Eq (**Figure. 37**) en utilisant la méthodologie détaillée dans la section matériel et méthodes. Durant le mois de Mars, les échantillons des sédiments prélevés au niveau de la station BH ont montré des niveaux de β NF-Eq ($0,40 \pm 0,03$ ng β NF-Eq/mg de sédiments secs) significativement ($p < 0,05$) supérieurs à ceux prélevés dans la station RH ($0,1 \pm 0,01$ ng β NF-Eq/mg de sédiments secs). Néanmoins, l'induction de l'activité EROD dans la station EN était faible et n'a pas permis de calculer les équivalents β NF-Eq. Durant le mois de Mai, les valeurs de β NF-Eq observées au niveau des stations RH et BH sont plus ou moins similaires à celles enregistrées durant le mois précédent. Comme pour le mois de Mars, les sédiments provenant de la station EN ont induit des valeurs EROD si faibles qui n'ont pas permis de calculer les équivalents β NF-Eqs. Toutefois, en Août, seuls les extraits des sédiments de la station EN ont permis de calculer les équivalents β NF-Eq ($0,17 \pm 0,03$ ng β NF-Eq / mg sédiments secs). Durant le mois d'Octobre, une augmentation significative des valeurs de β NF-

Eq par rapport au mois précédents a été signalée dans la station BH (1.94 ± 0.23 ng β NF-Eq/mg de sédiment sec). Dans les deux autres stations (RH et EN) l'induction de l'activité EROD était très faible et le calcul de β NF-Eq n'était pas possible. En janvier, les niveaux de β NF-Eq sont restés élevés dans la station BH (1.48 ± 0.01 ng β NF-E/mg sédiment sec). Ces niveaux ont augmenté en atteignant leur maximum dans les deux autres stations (RH et EN), les valeurs sont respectivement 1.20 ± 0.04 et 0.50 ± 0.02 ng β NF-Eq / mg de sédiments secs. Pendant ce mois les niveaux de β NF-Eq détectés dans les sédiments de la station EN étaient significativement ($p < 0,05$) plus faibles par rapport à ceux notés dans les deux autres stations (RH et BH). Dans tous les cas, ces valeurs étaient significativement plus élevées par rapport à celles observées durant les mois de Mars, de Mai et d'Août.

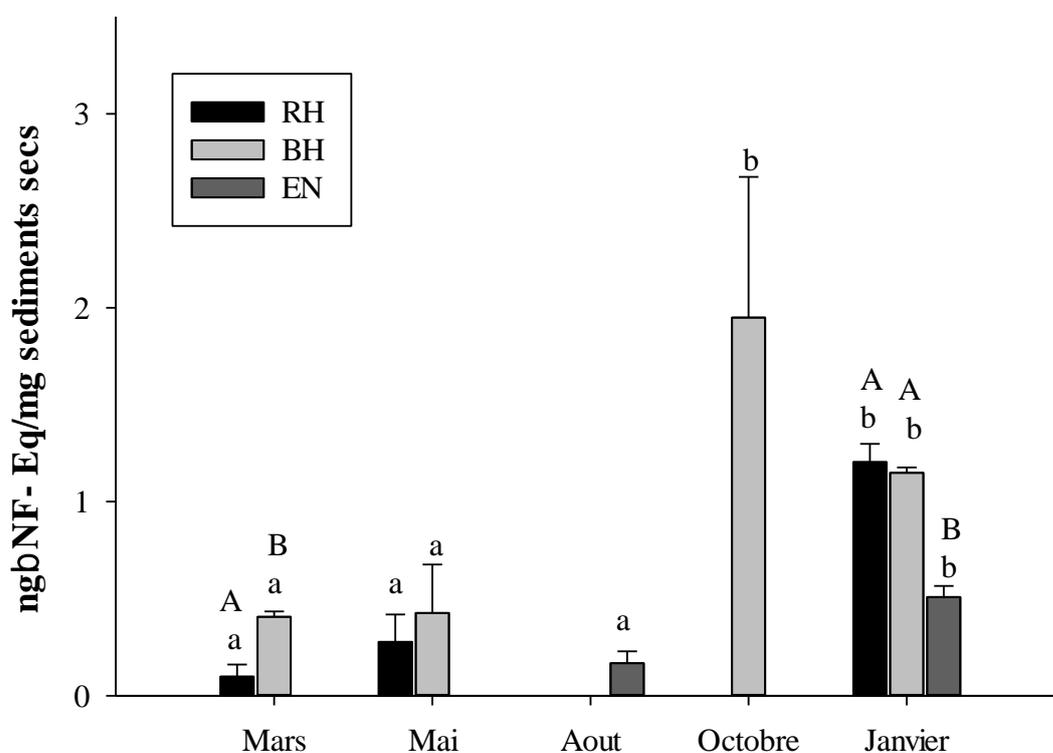


Figure.37. β NF-Eqs dans les sédiments échantillonnés dans le lac du barrage de Beni Haroun entre (Mars 2015 et Janvier 2016). Les résultats sont exprimés en moyennes et barre d'erreur ($M \pm SEM$). Les différences significatives entre les différentes stations durant le même mois sont indiquées par des lettres majuscules. Les différences significatives entre mois dans le même site d'échantillonnage sont indiquées par des lettres minuscules ($p \leq 0.05$)

III.3.6. BKF équivalents dans les échantillons de sédiments

Dans la présente étude, aucun des extraits de sédiments n'a pu provoquer une augmentation de l'activité BFCO en fonction de la concentration dans des cellules PLHC1, de ce fait, le calcul des équivalents de β KF n'était pas possible.

Discussions

Les barrages constituent une source importante d'eau pour l'agriculture et pour la consommation humaine en Afrique du nord. Néanmoins, ils sont sérieusement menacés par plusieurs problèmes environnementaux tels que l'eutrophisation, la sédimentation et la pollution chimique résultant des activités agronomiques et urbaines (Tlili et al., 2010; Güngördü et al., 2012). Le barrage de Beni Haroun constitue une source essentielle d'approvisionnement en eau potable pour une grande population et pour l'irrigation des terres agricoles. Il représente aussi une source importante d'activité de la pêche (ANBT, 2014). Malgré son importance, les apports des sédiments en font un milieu instable et particulièrement sensible. Cette fragilité est aggravée par la présence des innombrables contaminants provenant des activités humaines. Ainsi ce plan d'eau sert d'exutoire pour les eaux usées domestiques et industrielles, qui sont introduites dans le barrage soit directement soit via les ruissellements, sans compter les pesticides et les engrais qui y sont amenés lors du lessivage des terrains agricoles situés aux alentours du barrage. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à la surveillance de la qualité du lac barrage de Béni Haroun en appliquant une démarche basée sur l'utilisation intégrée des analyses physico-chimiques, des marqueurs biologiques et des bio-essais.

I. Approche physico-chimique

Les résultats de la présente étude ont montré une contamination importante des eaux, des sédiments et des poissons du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds (le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et le chrome (Cr) et par certains polluants organiques persistants (POPs).

I.1. Polluants organiques persistants (POPs)

L'analyse des spectres (CPG) des échantillons des eaux et des sédiments étudiés a montré la présence de plusieurs POPs, qui peuvent présenter un risque potentiel pour la santé humaine et celle des animaux aquatiques. Notamment les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs) (les dérivés du naphthalène et les dérivés du Benzopyrène), les phtalates et les composés organochlorés, nous avons aussi pu détecter des composés organophosphorés qui peuvent être des métabolites de certains pesticides. Ces composés ne sont pas considérés comme des POPs mais ils restent des polluants prioritaires des écosystèmes aquatiques.

I.2. Métaux lourds

I.2.1. Métaux lourds dans les eaux et les sédiments

Dans l'eau, l'évaluation globale des résultats a mis en évidence une forte contamination par le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) avec des concentrations qui dépassent largement les valeurs-limites internationales (**Tableau 13**) des eaux destinées à l'alimentation

en eau potable (**Directive 98/83/CE ; USEPA, 2009 ; WHO, 2004**) et des eaux douces (**Directive 98/83/CE ; Normes algériennes, 2006 ; USEPA, 2006**). Contrairement au Pb et au Cd, les valeurs du chrome (Cr) restent inférieures aux valeurs-limites.

Plusieurs facteurs, tels que la température, le pH, la conductivité électrique, le taux de matière organique et la taille des particules peuvent influencer la répartition des métaux lourds entre les eaux et les sédiments (**Alloway, 1995; Singh et al., 2005; Tao et al., 2012; Salman et al., 2015; Xu et al., 2016**). La variation de ces derniers peut expliquer fortes concentrations des métaux lourds (Cd, Cr et Pb) observées dans les sédiments par rapport aux eaux d'une part et durant les périodes sèches par rapport aux périodes humides d'autre part.

Selon les guides de qualité des sédiments établies par l'EPA (**Environmental Protection Agency, 2002**), les sédiments du barrage de Beni Haroun sont considérés comme modérément pollués par les trois métaux (le Cd, le Cr et le Pb). Cependant, ces valeurs restent inférieures aux valeurs moyennes des sédiments naturels pour le Pb et inférieures aux teneurs moyennes dans les roches et les valeurs moyennes des sédiments des lacs pour le Cr (**Tableau 13**). D'autre part les effets négatifs des sédiments sur la faune benthique ont été évalués en comparant nos résultats avec les guides Américains établies par Consensus-Based Sediment Quality Guidelines (CBSQG) (**NOAA., 2009**) et les valeurs de référence de toxicité (**Mohiuddin et al., 2010**) (**Tableau 13**). D'une manière générale, les concentrations du Pb, du Cd et du Cr observées dans cette étude sont comprises entre le seuil de toxicité (TEL) et les concentrations qui peuvent avoir un effet probable (PEL). En se référant à cette intervalle on ne peut pas conclure si ces concentrations sont toxiques ou non (CBSQG ne peuvent pas donner une orientation dans cette gamme de concentrations) (**NOAA, 2009**). Toutefois, les valeurs maximales du Cd enregistrées pendant la période sèche en 2012 (dans les stations RH et BH) et en 2013 (dans les stations RH et EN) et celles du Pb observée dans la station EN en PH 2012 dépassent le PEL. De plus, à l'exceptions des valeurs obtenues au niveau des stations BH et RH durant l'année 2011, les valeurs du Cd enregistrées dans toutes les stations et celles du Pb obtenues au niveau de la station EN pendant la période sèche 2012, ainsi que celles du Cr en obtenues le long de ce travail (à l'exception du celles observées en RH /PH2014) dépassent les valeurs de référence de toxicité, indiquant de ce fait un probable effet toxique de ces trois éléments.

Les résultats de cette étude sont également comparés avec des études antérieures effectuées sur les différents barrages dans le monde (**Tableau 13**). Les concentrations du Pb et du Cd obtenues dans les eaux du barrage de Beni Haroun sont supérieures à celles observées dans le barrage des trois Gorges et le réservoir de Danjiangkou (Chine) et celles

observées dans le Réservoir de Ralkızı (Turquie) (Li et al., 2008a; Varol et Şen, 2012). Par ailleurs, les valeurs du Cr sont supérieures à celles signalées dans le réservoir de Danjiangkou (Chine) (Li et al., 2008a) et comparables à celles notées dans le réservoir de Ralkızı (Turquie)(Varol et Şen, 2012).

Tableau 13. Comparaison des concentrations des métaux lourds obtenues dans le barrage de Beni Haroun avec les autres études et avec les valeurs guides. Les concentrations des métaux dans l'eau sont exprimées en (µg/L). Les concentrations dans les sédiments sont exprimées en (µg/g).

		Cd		Pb		Cr	
		Eau	Sédiments	Eau	Sédiments	Eau	Sédiments
Barrage de Béni Haroun(2011-2014)	M	9.95	2.84	19.8	53.61	26	47.04
	Min	2.5	0.23	8.8	28.5	6.08	23.83
	Max	21.25	6.16	32.7	118.33	46.5	80.33
Barrage de trois Gorges Chine^a		1.02		11.20			
Barrage de Nile delta Égypt.^b		0.33		8		93	
Le bassin Kebir Rhumel^c		0.6-3.4		11-167		10-216	
Réservoir de Danjiangkou, Chine ^d		1.17		10.59		6.29	
Réservoir de Ralkızı Turquie^e		0.036		2.56		26.48	
Réservoir de Manwan Chine^f		1.41		47.14		54.70	
EC 1998¹		5		10		50	
WHO 2011¹		3		10		50	
USPA 2009¹		5		15		100	
USPA 2006²		2		16		65	
Normes Algériennes(2006)^{2g}		10		10		50	
EC 1998^{2h}		5		10		50	
Valeurs de référence de toxicité³ⁱ		0.60		110		26	
Teneurs moyennes naturelles dans les roches^{3j}		0.30		49		97	
Valeurs moyennes dans les sédiments des lacs^{3k}		0.1-1.5		10-100		20-100	
Guides EPA (2002)	n'est pas pollué	/		<40		<25	
	Modérément pollué	/		40-60		25-75	
	Très pollués	>6		>60		>75	
LEL¹		0.60		31		26	
TEL¹		0.99		35.8		43.4	
PEL¹		3.53		91.3		90	
SEL¹		10		250		110	

M : moyenne. Min : minimum. Max : maximum.¹ valeurs guides pour les eaux destinées à l'alimentation en eau potable, ² valeurs guides pour les eaux douces, ³valeurs guides des sédiments. ^a Gao et al., 2016; ^b Bouraie et al., 2010 ; ^c Sahli et al., 2009 ; ^d Li et al., 2008 ; ^eVarol, 2013 ; ^fWang et al., 2012 ; ^garrête interministérielle du 22 janvier 2006) ; ^hdirective 98/83/CE du conseil du 3 novembre 1998 ; ⁱMohiuddin et al., 2010 ; ^j Martin et Meybeck, 1979, 1979 ; ^k Förstner et Wittmann, 1981. NOAA, 2009 ; TEL (Seuil de toxicité), PEL (Concentrations à un effet probable). SEL (concentrations à effets graves). LEL (le plus faible niveau).

Les concentrations du Cd, du Cr, et du Pb obtenues dans les sédiments du barrage de Beni Haroun sont comparables à celles obtenues par **Wang et al. (2012)** dans le réservoir de Manwan (Chine). Nos résultats sont aussi proches de ceux rapportés par **Sahli et al. (2009)** dans une étude effectuée sur le bassin versant Kebir Rhumel dans lequel appartiennent tous les affluents du barrage de Beni Haroun. D'autre part, les concentrations du Pb et du Cd sont supérieures à celles trouvées par **Bouraie et al. (2010)** dans le Barrage du delta de Nile (Égypte) tandis que les concentrations du Cr sont deux fois inférieures.

I.2.1. Métaux lourds dans les poissons

Tous les muscles poissons étudiés sont contaminés par le Pb, le Cr et le Cd à des concentrations importantes avec une prédominance du Pb suivi par le Cr et le Cd.

Les changements saisonniers des concentrations des métaux lourds dans les poissons sont généralement influencés par les facteurs du milieu tels que les changements de la température, du pH et de la salinité de l'eau. Les facteurs biologiques, physiologiques et écologiques de l'espèce tels que le cycle de croissance, le cycle de reproduction, le sexe, l'âge, le comportement alimentaire, le taux de la croissance et l'habitat peuvent aussi jouer un rôle importants dans ces variations (**Amundsen et al., 1997; Farkas et al., 2003; Dural et al., 2007; Ferreira et al., 2008; Elnabris et al., 2013; Dhanakumar et al., 2015; Heshmati et al., 2017**). Dans ce travail, les concentrations maximales des trois métaux étudiés dans les deux sexes sont enregistrées pendant le mois d'Octobre. Ces concentrations semblent être liées aux teneurs dans l'eau et/ou les sédiments, qui elles-mêmes sont influencées par les conditions climatiques. En effet, les premières précipitations dans la zone d'étude qui commencent au mois de Septembre entraînent de nouveau apports des eaux de pluies chargées de toute sorte de déchets, qui se sont accumulés dans le bassin versant pendant la période sèche, et mènent donc à une augmentation des concentrations des métaux lourds dans le barrage. D'autre part, à l'exception des teneurs en Cd observées dans le mois de Juin qui sont difficiles à expliquer, les concentrations des métaux chez les mâles ont augmenté progressivement du mois de Mars jusqu'au mois d'Octobre. Cette augmentation pendant les mois de Mai et de Juin peut être liée à l'augmentation de la température qui peut entraîner à son tour une augmentation de l'activité physiologique des poissons (**Jeziarska et Witeska, 2005**) comme le taux de la nutrition (**Eddy et Handy, 2012**), mais aussi à l'augmentation de la ventilation des branchies en réponse à une diminution de la concentration d'oxygène dans l'eau et par conséquent une augmentation du volume d'eau passant à travers les branchies (**Reynolds et Casterlin, 1980; Almeida-Val et Pires Lopes, 2006**). Ce qui conduit à une augmentation de l'absorption des métaux lourds. Un résultat similaire a été déjà observé chez

la carpe au niveau du lac Beyşehir (Turquie) (**Tekin-Ozan et Kir, 2008**) et chez l'espèce *Anguilla japonica* au Taiwan (**Yang et Chen, 1996**).

Contrairement aux mâles, nous avons noté une diminution du taux de cadmium et du chrome pendant les mois de Mai et Juin chez les femelles. Effectivement, cette période coïncide avec la période de reproduction de la carpe, qui s'étale du mois de Mai jusqu'au mois de Juillet (**Bruslé et Quignard, 2013**), durant laquelle les femelles déposent, en fonction de leurs poids, des milliers d'œufs ce qui représente une probable voie d'élimination du Cr et du Cd. Cette décontamination des femelles *via* la ponte semble être liée à la mobilisation des métaux présents dans les muscles vers les gonades durant leur maturation. Une telle observation est en accord avec les travaux de **Shackley et al.(1981)**, de **Belhoucine (2012)** et de **Waltham et al. (2013)**.

La comparaison des résultats de cette étude avec des travaux antérieurs effectués sur les différentes espèces des poissons capturées dans les différents écosystèmes aquatiques du monde (**Tableau .14**) a montré que les teneurs en Cd enregistrées dans la carpe du barrage de Beni Haroun sont comparables avec celles obtenues par **Farkas et al.(2003)** chez la brème (*Abramis brama*) capturée dans le lac Balaton (Hongrie). Elles sont supérieures à celles observées respectivement par **Yi et al.(2011)** et **Leung et al. (2014)** chez les espèces *Cyprinus carpio* et *Oreochromis niloticus* au niveau du Bassin de la rivière Yangtze et dans le delta de la rivière des Perles (PRD) en Chine. Ces concentrations sont en revanche inférieures à celles détectées chez l'espèce *Cyprinus carpio* capturée dans la rivière de Seyhan(Turquie) (**Canli et al., 1998**) et celles repérées chez l'espèce *Oreochromis niloticus* capturée en Arabie Saoudite (**Younis et al. 2015**). En ce qui concerne le Cr, nos résultats sont similaires à ceux de **Canli et al. (1998)**, inférieurs à ceux obtenus par **Jabeen et Chaudhry (2010)** et par **Demirak et al. (2006)** et supérieurs à ceux observés par **Yi et al. (2011)**.

Les concentrations du Pb trouvées dans les muscles de l'espèce *Cyprinus carpio* sont comparables avec celles trouvées chez l'espèce *Macrobrachium rosenbergi* au Bangladesh (**Rabiul Islam et al., 2017**). Elles sont inférieures à celles observées respectivement par **Canli et al. (1998)**, **Leung et al. (2014)** et par **Scharenberg et al. (1994)** chez les espèces *Cyprinus carpio* dans la rivière Seyhan (Turquie), *Oreochromis niloticus* dans le delta de la rivière des Perles (PRD) et *Abramis brama* dans le Lac Belau Nord d'Allemagne. Ces concentrations sont au contraire supérieures à celles obtenues par **Elkady et al. (2015)** chez l'espèce *Oreochromis niloticus* capturée dans le lac Manzala (Égypte) (**Tableau .14**).

Tableau .14. Comparaison des concentrations des métaux lourds dans les muscles des poissons obtenues dans cette étude avec les autres études et les valeurs limites. Les concentrations sont exprimées en µg/g de poids humide.

Site	Espèce	Cd	Cr	Pb
Barrage de Béni Haroun (cette étude)	<i>Cyprinus carpio</i>	0.17-0.50	1.08- 2.59	2.58- 5.45
Lake Belau Nord d'Allemagne 1989-1991(Scharenberg et al.,1994)	<i>Abramis brama L.</i>	2.3		29.7
Lac Hongarie(Farkas et al., 2003)	<i>Abramis brama L.</i>	0.42-0.61		0.44-1.33
Bassin de la rivière Yangtze(Yi et al., 2011)	<i>Cyprinus carpio</i>	0.12	0.18	0.51
Marchés de la bande de Gaza(Elnabris et al., 2013)	<i>Micropogonias furnieri</i>	0.090		0.55
Lac Manzala, Egypte(Elkady et al., 2015)	<i>Oreochromis niloticus</i>	BDL	0.284	0.048
Bangladesh(Rabiul Islam et al., 2017)	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	0.16-2.33	≤0.45	4.59-4.73
Arabie Saoudite(Younis et al. 2015)	<i>Oreochromis niloticus</i>	3.34-4.10		1.63-1.86
Dipsiz stream turquie(Demirak et al; 2006)	<i>Leuciscus cephalus</i>	Nd-0.035	4.57-4.91	Nd-2.119
Rivière de Pakistan(Jabeen et Chaudhry, 2010)	<i>Cyprinus carpio</i>	/	1.12-4.82	1.08-1.52
Rivière Seyhan,Turquie(Canlı et al.,1998)	<i>Cyprinus carpio</i>	0.51-1.67	0.36-1.74	2.94-10.63
Sabal Drain Egypte.(Authman, 2008)	<i>Oreochromis niloticus</i>	0.85	/	8.00
Hong Kong((Leung et al., 2014)	<i>11espèces de poissons</i>	0.02-0.06	0.20-0.65	0.03-8.62
Delta de la rivière des Perles (PRD) Chine (Leung et al., 2014)	<i>Oreochromis niloticus</i>	0.02-0.05	0.28-1.05	5.69-11.3
Valeurs limites	FAO 1983(FAO, 1983)	0.5	/	0.5
	FAO/WHO 1989	0.5	/	0.5
	EC2008, 2014	0.05	/	0.2
	Chine (China National Standards Management Department (2001).	0.1	2	0.5
	Angleterre (MAFF, 2000)	0.2		2

Pour évaluer le risque de ces métaux sur la santé humaine nous avons comparé nos résultats avec les valeurs limites internationales des métaux lourds dans les tissus des poissons destinés à la consommation humaine. D'une manière générale, les valeurs du Pb obtenues dans cette étude dépassent largement toutes les valeurs limites internationales (**Tableau 14**). En effet, les concentrations maximales du Pb observées dans les muscles de la carpe sont 25 fois supérieures aux normes établies par la Communauté Économique Européenne (**EC 2008, 2014**), 10 fois supérieures aux normes [**FAO (FAO, 1983), FAO/WHO 1989, Chine (China National Standards Management Department (2001)]** et 2.5 fois supérieures aux

normes fixées par l'Angleterre (MAFF, 2000). Celles du Cd ne dépassent que les normes Européennes (EC, 2008, 2014), anglaises (MAFF, 2000) et chinoises (China National Standards Management Department, 2001). Les valeurs sont respectivement 10, 2.5 et 5 fois supérieures. Pour le Cr, la FAO, la WHO et la CEE n'ont pas établi des valeurs limites jusqu'à présent. Cependant, les concentrations maximales que nous avons obtenu dépassent les valeurs limites établies par la Chine (China National Standards Management Department, 2001).

D'une façon générale, la contamination du barrage de Beni Haroun par métaux lourds et les POPs observée au cours de ce travail peut avoir plusieurs origines. Il s'agit notamment des eaux usées domestiques et industrielles des wilayas de Mila et de Constantine rejetées dans les deux principales affluents du barrage : Oued Rhumel et Oued Endja. L'activité agricole, la circulation automobile et les ordures ménagères incontrôlées, mais surtout les unités de recyclage du plastique et des batteries des automobiles situées anarchiquement un peu partout dans le bassin versant Kébir – Rhumel peuvent jouer un rôle non négligeable dans cette contamination.

Les ordures ménagères, les fertilisants, les unités de transformation du plastiques et des batteries des automobiles ainsi que la circulation automobile sont responsables en grande partie de la présence des métaux lourds. Ainsi, le plomb forme de 52.9 mg/kg de papiers, 26.1 mg/kg de cartons, 99.2 mg/kg de textiles, 373.7 mg/kg de verres et 77.5 mg/kg de piles (Rousseaux, 1990), le cadmium forme aussi (12.1 mg Cd/kg) des verres (1.3 mg Cd/kg), des textiles (6.8 mg Cd/kg) des cartons (1.4 mg Cd/kg), des piles (26. mg Cd/kg) et des métaux d'alliages (7.4 mg Cd/kg) (Alouemine, 2006). Les fertilisants phosphatés et potassés peuvent contenir des teneurs allant jusqu'à 6.3 mg Cd/kg (Raven et Leoppert, 1997).

La présence des substances organochlorées et organophosphorés peut être attribuée à l'utilisation intensive des pesticides dans le bassin versant du barrage. Tandis que, la présence des HAPs (le Benzopyrène et le naphtalène) peut éventuellement être due à l'utilisation du goudron, du charbon, des revêtements routiers, des fumé de cigarette, des échappement des machines motrices thermiques, des huiles motrices, des carburants, des huiles, graisses, mais peut aussi dû aux stations de services et de lavage des automobiles et aux ordures ménagères (Bison et al., 2006, 2016 ; Liu et al., 2016). Enfin, les phtalates peuvent provenir des produits cosmétiques, des produits de nettoyage personnels (shampooing, savants), des plastifiants, des pesticides et des médicaments ainsi que des unités de recyclage de plastique (Li et al., 2016 ; Sampath et al., 2017).

II. Approche Biologique

II.1. Utilisation d'une batterie des biomarqueurs chez l'espèce *Cyprinus carpio* pour évaluer la contamination du lac du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds

Dans cette partie nous avons utilisé une batterie des biomarqueurs chez l'espèce *Cyprinus carpio* pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les métaux lourds. La présence de ces derniers dans l'environnement aquatique est généralement reflétée à des niveaux supérieurs d'organisation biologique par un changement dans les activités de certaines enzymes, particulièrement celles qui sont impliquées dans le système de biotransformation (**Ozmen et al., 2006**). Parmi ces enzymes, le cytochrome P4501A (Cyp1A) (évaluée par la mesure d'ethoxyresorufin-O-deethylases (EROD)) (**Whyte et al., 2000**), la carboxyle-estérase (CaE) (**De Lima et al., 2013; Yologlu et Ozmen, 2015**), la glutathion-S-transférase (GST) et les enzymes antioxydantes (**Barata, et al., 2005; Padmini et al., 2009; Doherty et al., 2010; Oliva et al., 2012b; Rajeshkumar, et al., 2013; Javed et al., 2016**), mais aussi celles qui sont impliquées dans la transmission de l'influx nerveux comme l'acétylcholinestérase (AChE) (**Frasco et al., 2005; Oliva et al., 2012a; Silva et al., 2013; Araújo et al., 2016**). Ces enzymes constituent un système d'alarme précoce de l'atteinte de la santé des populations naturelles sous forme d'un signal intégré du stress chimique (**Ozmen et al., 2006; Garg et al., 2009**) qui permet d'intervenir avant que les effets des polluants sur les organismes aquatiques deviennent irréversibles.

II. 1.1. EROD

Le cytochrome p450 (CYP 450) joue un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques (**Cajaraville et al., 2000; Henczová et al., 2008**). La détermination des taux des CYPs et spécifiquement le CYP1A et son activité enzymatique dépendante EROD chez les poissons a été largement utilisée comme un bio marqueur sensible à la présence des polluants dans l'environnement aquatique (**Otto et Moon, 1996; Behrens et Segner, 2001; Cao et al., , 2012; Asker et al., 2016**). Cette enzyme est inductible par les substances organiques lipophiles comme les HAPs, les PCBs et les dioxines (**Whyte et al., 2000**). Toutefois, la présence des métaux lourds (Cd, Cr et Pb) peut inhiber l'activité du CYP1A et entraîner la suppression de son expression (**Sen et Semiz, 2007; Rudneva, 2014; Beyer et al., 2014**).

Selon la littérature, les valeurs basales de l'activité EROD chez l'espèce *cyprinus carpio* sont comprises entre 2.1 et 5 p mol/mg/min (**Whyte et al., 2000**). Ces dernières sont proches de nos résultats observés au mois de Mars. Toutefois, les valeurs observées durant les autres mois (Mai, Juin et Octobre) peuvent refléter une inhibition. Cette dernière peut

s'expliquer par l'augmentation des concentrations des métaux lourds qui peuvent être responsables de l'inhibition de l'activité EROD.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures dans lesquelles l'effet inhibiteur des métaux lourds sur l'activité EROD a été bien démontré à la fois dans des modèles *in vitro* et *in vivo*. A titre d'exemple, **Averney et al. (2000)** ont montré une réduction de 50% de l'activité EROD dans les hépatocytes de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) exposées aux Cu^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} et Cd^{+2} à des concentrations 5 mM, 11 mM, 16 mM et 0,8 mM, respectivement. Des résultats similaires ont été aussi observés par **Bozcaarmutlu et Arinç (2004)** au niveau des microsomes hépatiques de l'espèce *Chelon salien* après le traitement par Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} et Cd^{2+} à des concentrations de 107 μM , 16 μM , 1,3 μM et 0,15 μM respectivement. L'activité EROD hépatique a été également inhibée *in vivo* chez l'espèce *Liza saliens* par des différents métaux incluant le Hg^{+2} (0,1 mM), Ni^{+2} (0,1 mM), Cd^{+2} (0,1 mM), Cu^{+2} (0,1 mM), Zn^{+2} (0,1 mM), Sb^{+2} (0,1 mM), Fe^{+2} (1 mM), Co^{+2} (1 mM), Al^{+2} (1 mM) et Fe^{+3} (1 mM) avec des pourcentages d'inhibition de 80%, 80%, 77%, 75%, 70%, 69%, 56%, 53%, 46%, et 44 % respectivement (**Sen et Semiz, 2007**). Une réduction de l'activité EROD a été aussi observée *in vivo* chez la carpe argentée après 24 h d'injection des sulfates du Pb (**Henczová et al., 2008**). De même, une diminution de l'activité EROD a été notée au niveau des branchies de l'espèce *Solea senegalensis* capturée dans l'estuaire de Huelva pollué par les métaux lourds (Espagne) (**Oliva et al., 2014**).

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer l'inhibition de l'activité EROD par les métaux lourds. En effet, ces derniers peuvent affecter ces enzymes, non seulement par liaison directe, mais aussi en modifiant le renouvellement des protéines. L'inhibition de l'activité EROD a été supposée dépendre de l'induction de l'activité de l'hème-oxygénase. cette activité peut entraîner une augmentation de la dégradation du cytochrome P-450 ou une inhibition de la transcription de son ARNm (**Viarengo et al., 1997; Kerambrun et al., 2012; Zheng et al., 2016**). L'inhibition de l'activité EROD peut aussi être interprétée comme une conséquence des effets globaux des métaux lourds sur la cellule. En effet, les métaux lourds présentent une grande affinité pour les résidus de SH et peuvent donc réagir avec les divers ligands cellulaires et forment des complexes avec des molécules contenant du sulfhydryle tels que le groupe thiol de la cystine des CYP liée au fer de l'hème (**Viarengo et al., 1997**). Les métaux lourds peuvent également interagir avec les protéines et les phospholipides membranaires et provoquer des changements structurels et fonctionnels considérables (**Averney et al., 2000**).

Il est important de signaler dans cette étude que les plus faibles activités EROD ont été observées hors de la période des pics des concentrations des métaux lourds. Ces résultats sont difficiles à expliquer chez les mâles, cependant, la période de reproduction peut les justifier chez les femelles. En effet, cette période est caractérisée par une augmentation de la concentration sanguine des œstrogènes (connus par leur capacité à réduire l'activité EROD) contrôlant l'ovulation et le frai (Navas et Segner, 2001), mais aussi par la dilution des protéines pendant la vitellogenèse chez les poissons (Andersson et al., 2007) ce qui mène à une réduction importante de l'activité EROD. Un tel effet a été déjà observé par Chiang et al. (2012) dans une étude réalisée sur l'espèce *Percilia gillissi* au Chili.

II. 1.3. Acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme clé dans le système nerveux. C'est une enzyme du groupe de serine estérases qui agit sur l'hydrolyse du neurotransmetteur l'acétylcholine, en acétate et en choline, dans les synapses cholinergiques, assurant la transmission normale du signal nerveux dans l'organisme (Pretto et al., 2010; Araújo et al., 2016; Zhang et al., 2017). Cette enzyme est extrêmement importante pour de nombreuses fonctions physiologiques des poissons telles que la capacité des mouvements, la fuite aux prédateurs, la localisation des proies et l'orientation vers l'alimentation (Menéndez-Helman et al., 2015). L'inhibition de l'AChE peut mener à une stimulation excessive des nerfs cholinergiques, ce qui entraîne une hyperactivité, une perte de coordination, des convulsions, des tremblements, une natation irrégulière et léthargique, une paralysie, voire une éventuelle mort (Pfeifer et al., 2005; Pretto et al., 2010; Vieira et al., 2016; Zhang et al., 2017). L'inhibition de l'AChE a été largement utilisée comme bio marqueur d'exposition des poissons aux pesticides organophosphorés et carbamates neurotoxiques (Pavlov et al., 1992; Zmen et al., 1999; Frasco et Guilhermino, 2002; Golombieski et al., 2008; Tu et al., 2009; Al-Ghanim, 2014). Par ailleurs plusieurs études publiées au cours des dernières années ont montré des effets des autres classes de contaminants environnementaux incluant les métaux lourds sur l'activité AChE chez plusieurs espèces des poissons (Frasco et al., 2005; Oliva et al., 2012; Silva et al., 2013; Araújo et al., 2016).

Il est bien démontré dans la littérature que la température ambiante est l'un des principaux facteurs qui contrôlent les activités enzymatiques chez les organismes poïkilothermes en changeant leur structure physique, ce qui peut modifier leur efficacité catalytique ou leur capacité de liaison (Forget et al., 2003; Pfeifer et al., 2005). Un tel fait peut expliquer la forte diminution de l'activité de l'AChE dans le cerveau pendant le mois de Mars en comparaison aux autres mois. Ce qui est en concordance avec une étude récente de

Menéndez-Helman et al. (2015) qui ont observé une réduction de 40% de l'activité AChE pendant la saison froide. **Chuiko et al. (1997)** et **Guimarães et al. (2009)** ont également noté des fluctuations saisonnières importantes dans l'activité de l'AChE du cerveau chez les espèces *Rutilus rutilus* et *Anguilla anguilla* respectivement, avec des valeurs élevées au début de l'été et des valeurs faibles en hiver.

Contrairement au cerveau, Une réduction importante de l'activité AChE au niveau des branchies a été observée au mois d'Octobre en comparaison aux autres mois. Un tel résultat peut s'expliquer par la forte concentration des métaux lourds (Pb, Cd et Cr) observée durant ce mois. Ce résultat est en accord avec plusieurs études *in vitro* et *in vivo* qui ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE suite à l'exposition aux métaux lourds notamment au Pb et au Cd. Ainsi, l'activité de l'AChE a été significativement réduite après 14 jours d'exposition de l'espèce (*Rhamdia quelen*) au Cd à des concentrations allant de 0.236 jusqu'à 0.414 mg/L (**Pretto et al., 2010**). Dans une étude récente, **Zhang et al. (2017)** ont observé une inhibition de l'activité de l'AChE d'une manière concentration dépendante au niveau des branchies du poisson zèbre exposé aux différentes concentrations de CdCl₂. L'activité de l'AChE a été aussi réduite chez le poisson zèbre après l'exposition à l'acétate du Pb (**Richetti et al., 2011**), mais aussi après le traitement par une mixture du Pb et de Cd (**De Lima et al., 2013**). En outre, une diminution de l'activité de l'AChE a été observée dans les molles exposés à des faibles concentrations du Cr (**Tsangaris et al., 2007**).

II. 4.4. Carboxyle estérase (CaE)

Les carboxyle estérases (CaE, EC 3.1.1.1) sont des serine hydrolases impliquées dans les réactions de la phase I du métabolisme (**De Lima et al., 2013; Solé et Sanchez-Hernandez, 2015**). Elles jouent un rôle important dans le métabolisme des substances endogènes (**Güngördü et al., 2012 ; Solé et al., 2014**) et la détoxification de nombreuses substances toxiques (**Solé et al., 2010**) incluant les pesticides (**Bonacci et al., 2004**), les substances pharmaceutiques (**Wheelock et al., 2001**), les esters (**Solé et Sanchez-Hernandez, 2015**) et les phtalates (**Lin et al., 2017**). Bien que, les CaEs sont largement utilisées comme bio marqueurs d'exposition aux pesticides (**Escartín et Porte, 1997; Küster, 2005; Wheelock et al., 2008; Güngördü et al., 2012**), leur utilisation pour évaluer l'exposition aux métaux lourds reste limitée. Il y a peu d'études qui ont utilisé cette enzyme comme bio-marqueur d'exposition aux métaux lourds notamment chez les araignées (**Wilczek et al., 2003**), chez les amphibiens (**Yologlu et Ozmen, 2015**) et chez les poissons (**De Lima et al., 2013**). Nos résultats ont montré une réduction importante de l'activité des CaEs au

mois de Mai chez les mâles et au mois d'Octobre chez les deux sexes. On peut attribuer les résultats observés au mois d'Octobre à la forte concentration des métaux (Cd, Cr et Pb) observée chez les deux sexes et ceux observés au mois de Mai à la forte concentration du Cd signalée chez les mâles. Ce qui est en accord avec les travaux de **De Lima et al. (2013)** qui ont noté une inhibition de l'activité des CaEs d'une manière dose dépendante chez le poisson zèbre exposé aux différentes concentrations du Pb et du Cd. Des résultats similaires ont été aussi observés chez un amphibien, *le xenopus*, exposé aux différentes concentrations des métaux lourds (**Yologlu et Ozmen, 2015**). Contrairement à nos résultats, **Wilczek et al. (2003)** ont signalé une augmentation dose dépendante de l'activité des CaEs chez les araignées provenant d'un milieu contaminé par les différents métaux.

Au niveau des branchies, l'activité des CaEs observée durant notre étude suit un rythme saisonnier ce qui semble être liée aux changements de la température qui est connue par son influence sur les activités enzymatiques.

II. 4.5. Le stress oxydatif

Les effets toxiques des métaux lourds sur les organismes aquatiques sont généralement associés à une production accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) responsables des dommages oxydatifs aux protéines, aux acides nucléiques et aux lipides et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies (**Almeida et al., 2002; Vinodhini et Narayanan, 2009; Oliva., et al 2012a; Zhang et al., 2012; Vega-Lopez et al., 2013; Valon et al., 2013; Mejdoub et al., 2017**). Pour se protéger contre les effets toxiques des ROS, les organismes aquatiques particulièrement les poissons ont développé des mécanismes de défense en activant leur système antioxydant enzymatique et non enzymatique (**Monod et al., 1998; Kim et al., 2014; Fatima et al., 2015; Wan et al., 2015**). Ces derniers, peuvent être utilisés comme des biomarqueurs sensibles de la pollution des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds (**Ozmane et al., 2008; Siwela et al., 2010**).

Les résultats de cette étude suggèrent que les différents polluants en générale et les métaux lourds en particulier affectent les enzymes et les substrats impliqués dans le contrôle du stress oxydatif. La réponse enzymatique et non enzymatique vis-à-vis le stress oxydatif varie en fonction de la concentration des métaux, en fonction des tissus et de la saison.

D'après la littérature, les résultats des effets des métaux lourds sur les activités antioxydantes enzymatiques n'ont été que peu concluants, montrant une induction (**Vlahogianni et al., 2007; Beg et al., 2015; Espín et al., 2016**), aucun changement (**Porte et al., 2002**), ou une inhibition de ces enzymes (**Borkovic-Mitic et al., 2013; Atli et Canli, 2010; Abdel-Tawwab et al., 2017^a; Abdel-tawwab et al., 2017^b**).

Dans ce travail, une corrélation positive a été observée entre l'activité de la CAT, la GST, la GR et le taux de GSH. Ceci est en accord avec les résultats des études antérieures suggérant une expression coordonnée des enzymes antioxydantes en réponse au stress oxydatif (Asker et al., 2016). En règle générale, à l'exception de l'activité de la CAT qui a augmenté au mois de Juin et diminué durant les autres mois, les activités hépatiques de GR et de la GST et le taux de GSH ont généralement une tendance à augmenter durant les mois de Mars et Juin et à diminuer durant les mois de Mai et d'Octobre. Les résultats observés au mois de Mars et Juin peuvent refléter une induction alors que, les résultats observés au mois de Mai et Octobre peuvent refléter par contre une inhibition du système antioxydant. Plusieurs facteurs tels que les variations de la température, le régime alimentaire et les concentrations des métaux lourds peuvent être responsables des résultats obtenus (Olsen et al., 1999; Pascual et al., 2003; Da Rocha et al., 2009; Lushchak, 2011; Oliva et al., 2012a ; Colin et al., 2015; Abdel-Tawwab et al., 2017^a).

L'augmentation des activités antioxydantes observée en Mars et Juin peut être attribuée à la présence des métaux lourds (particulièrement le Cd, le Cr et le Pb) à des faibles concentrations dans la carpe. L'induction du système antioxydant par des faibles concentrations des métaux lourds a été intensivement étudiée (Ferreira et al., 2008; Borkovic-Mitic et al., 2013; Kim et al., 2014; Abdel-tawwab et al., 2017^b). Ainsi, la CAT et la GST ont significativement augmenté chez l'espèce *Oysterc rassostrea* après l'exposition à des faibles concentrations du Pb (Shenai-Tirodkar et al., 2017) et chez les larves de l'espèce *Hydropsycheex ocellata* capturées dans la rivière de Llobregat (Espagne) contaminée par des faibles concentrations des métaux lourds (Fe, Al, Zn, Cu, Co, Ni, Pb, Cd) (Barata et al., 2005). La CAT et le GSH ont été également stimulées chez l'espèce *Sparus aurata* exposée à des faibles concentrations du Cd (Souid et al., 2013). De même, les activités de la GR et la CAT ont été corrélées positivement avec les concentrations du Cd chez l'espèce *Solea senegalensis*, dans une étude *in situ* réalisée au niveau de l'estuaire Huelva Espagne (Oliva et al., 2012a). La CAT et la GST ont aussi significativement augmenté chez l'espèces *Cyprinus carpio* après l'exposition à des faibles concentrations d'une mixture du chlorure de Cd, des nitrates du Pb et des chromates de potassium (Vinodhini et Narayanan, 2009).

L'augmentation et /ou la diminution de la température peut d'autre part expliquer l'augmentation de l'activité antioxydante durant les mois de Juin et Mars. En effet, il est bien rapporté dans la littérature que l'augmentation de la température stimule le métabolisme et

entraîne une augmentation de la consommation de l'oxygène et peuvent mener à une production importante des ROS et à l'activation du système antioxydant (**Lushchak et Bagnyukova, 2006; Lushchak, 2012; Oliva et al., 2012a; Madeira et al., 2013**). Par ailleurs, la diminution de la température est responsable de l'augmentation de la solubilité de l'oxygène le principale précurseur des ROS (**Abele et Puntarulo, 2004; Vinagre et al., 2012**).

D'une manière générale, nos résultats sont en accord avec les travaux de **Bagnyukova et al. (2007)** qui ont observé une augmentation de l'activité antioxydante en fonction de l'augmentation de la température chez l'espèce *Carassius auratus*. De même, **Madeira et al. (2013)** ont également noté une augmentation des activités de la CAT et de GST chez l'espèce *Liza ramada* en fonction de l'augmentation de la température. En outre, les activités de GPX et de GR et le taux de GSH ont augmenté en fonction de l'augmentation de la température chez l'espèce *Solea senegalensis* capturée dans les milieux contaminés par des faibles concentrations des métaux lourds (**Oliva et al., 2012^a**).

A l'inverse des résultats obtenus aux mois de Mars et Juin, une réduction importante de l'activité antioxydante a été observée durant les mois de Mai et Octobre. Les résultats observés au mois de Mai sont difficiles à expliquer tandis que ceux observés au mois d'Octobre peuvent être attribués à l'augmentation des concentrations des métaux lourds (Cd, Cr et Pb) dans les tissus de tous les spécimens de la carpe. Ce qui est en accord avec les résultats de plusieurs études qui ont montré une réduction importante du système antioxydant après l'exposition à des fortes concentrations des métaux lourds. Par exemple **Mohanty et Samanta (2016)** ont noté une diminution des activités des enzymes CAT, de GST et de GR et du taux du GSH dans le foie et les branchies de l'espèce *Notopterus notopterus* capturée dans la rivière Mahanadi contaminée par le Pb et le Cd en comparaison avec le site de référence. Les activités de CAT, GST et GR ont aussi significativement diminué avec des pourcentages de 17.89%, 20.6%, 20.46% et 17.83% respectivement au niveau des hépatocytes de l'espèce *Mugil cephalus* capturée dans l'estuaire Ennore contaminé par une mixtures des métaux lourds (incluant le Cd, le Pb et le Cr) en comparaison avec le site de référence (**Padmini et al., 2009**). Une diminution des activités de CAT, de la GST et du taux de GSH a été également signalée au niveau du foie de l'espèce *Rhamdia quelen* exposée au cadmium (**Pereira et al., 2016**).

En général, les activités de CAT et de la GST et le taux du glutathion sont plus faibles au niveau des branchies par rapport au foie. Cette différence semble être relative à la

différence des quantités des protéines du système antioxydant entre les deux organes. A vrai dire, le foie étant le compartiment principale d'accumulation et de biotransformation des xénobiotiques (**Figueiredo-Fernandes et al., 2006**) et le site de nombreuses réactions d'oxydation responsables de la génération des ROS (**Atli et Canli, 2010**) est celui qui dispose le système antioxydant le plus important (**Atli et Canli, 2010; Abarikwu et al., 2017**). Malgré leur faible taux du système antioxydant, les branchies, étant première ligne de front de contact aux contaminants et une première ligne de défense, jouent un rôle non négligeable dans la protection des effets toxiques des radicaux libres oxygénés (**Doherty et al, 2010; Kubrak et al., 2013; Cappello et al., 2016; Husak et al., 2016; Feng et al., 2017**).

A l'exception de quelques différences, l'activité antioxydante au niveau des branchies de l'espèce *Cyprinus carpio* présentent généralement une tendance saisonnière similaire à celle du foie, avec une augmentation au mois de Juin et une diminution au mois d'Octobre. L'augmentation de l'activité antioxydante dans le foie et/ou les branchies de l'espèce *Cyprinus carpio* reflète une protection et une adaptation suite à la stimulation du système de défense antioxydant après l'exposition à de faibles concentrations des métaux lourds (Cd, du Pb et du Cr). Tandis que la diminution indique une réduction de la capacité à éliminer les ROS dû à l'augmentation des concentrations de ces derniers. D'une façon générale, suite à une exposition aux xénobiotiques, l'activité des enzymes antioxydante augmente d'abord pour faire face à la production des radicaux libres, toutefois, la génération continue en grande quantité de ces radicaux se traduit éventuellement par la déplétion de l'activité de ces enzymes (**Kalra et al., 1994**).

Quand la production et l'accumulation des ROS est supérieure à la capacité du système antioxydant, un déséquilibre entre les prooxydants et les antioxydants peut se produire et déclencher un stress oxydatif qui se manifeste par la survenue progressive des processus lésionnels sur les différents éléments constitutifs de la cellule : lipides, protéines, acides nucléiques (**Lushchak, 2011; Sroda et Cossu-Leguille, 2011; Yonar et Sakin, 2011; Zhang et al., 2011; Enis et al., 2012; Vinagre et al., 2012; Giarratano et al., 2014**). Les lipides contenant les acides gras polyinsaturés, très fréquents chez les organismes aquatiques notamment chez les poissons, et les phospholipides membranaires sont des cibles privilégiées de l'attaque des ROS. Ce processus est appelé peroxydation lipidique (**Van der Oost et al., 2003; Di Giulio et Meyer, 2008; Wan et al., 2015; de Oliveira et al., 2016; Shenai-Tirodkar et al., 2017**). Cette dernière entraîne une diminution de la fluidité de la biomembrane et peut altérer ses fonctions principales (**Xiao et al., 2012; Azevedo et al., 2013**).

Le taux de MDA est significativement augmenté pendant le mois d'Octobre au niveau des deux tissus avec une parallèle diminution des activités des enzymes antioxydantes (la CAT, la GR et la GST) et une réduction du taux de GSH. Ce qui coïncide avec l'augmentation des concentrations du Cd, du Cr et du Pb dans les muscles des poissons. L'augmentation du MDA enregistrée durant le mois d'Octobre est éventuellement les résultats de l'action prooxydante exercée par ces métaux. Le rôle du Pb, du Cd et du Cr dans la surproduction du MDA a été démontré par plusieurs auteurs (**Belli et al., 2010; Siwela et al., 2010; Zhang et al., 2011; Lushchak, 2011; Pereira et al., 2016; Sayed et al., 2017**). Ainsi, **Padmini et Usha Rani (2009)** ont signalé une augmentation du taux de MDA au niveau des hépatocytes de l'espèce *Mutilus cephalus* capturée dans un milieu contaminé par les métaux en comparaison avec le site de référence. Dans une récente étude, **Abarikwu et al. (2017)** ont également noté une augmentation hautement significative du taux de MDA au niveau du foie de l'espèce *Clarias gariepinus* collectée dans une rivière contaminée par une mixture des métaux incluant le Cd, le Cr et le Pb en comparaison avec le site de référence. De même, une augmentation du taux de MDA a été observée au niveau des reins de l'espèce *Oreochromis niloticus* et au niveau du foie de l'espèce *Clarias gariepinus* exposées aux différentes concentrations du Pb (**Dai et al., 2012; Sayed et al., 2017**). Le taux de MDA a été en outre augmenté chez l'espèce *Fundulus heteroclitus* exposée au Cd (**Blickley et al., 2014**) et au niveau du foie et des reins de l'espèce *Carassius auratus* exposée aux différentes concentrations du Cr (**Velma et Tchounwou, 2010**).

La peroxydation lipidique a été largement évoquée pour être un mécanisme central de la toxicité due à l'exposition aux métaux lourds (**Belli et al., 2010; Zhang et al., 2011; Lushchak, 2012; Espín et al., 2014, Espín et al., 2016; Pereira et al., 2016**). Ces derniers sont connus par leur capacité à régénérer les ROS soit directement par la réaction de Fenton et/ou celle de Haber Weiss dans le cas des métaux de transition comme le Cr (**Lushchak, 2012; Espín et al., 2014**) soit indirectement par liaison aux thiols du système antioxydant enzymatique et non enzymatique dans le cas du Pb et du Cd (**Nuran Ercal et al., 2001; Atli et Canli, 2010; Espín et al., 2016**), mais aussi par le déplacement des ions tels que le fer et le cuivre, qui sont des métaux redox actifs (**Nuran Ercal et al., 2001; Barata et al., 2005; Pereira et al., 2016**).

Il convient de mentionner que le taux de MDA observé au cours de ce travail au niveau des branchies est plus élevé que celui du foie. Ce qui semble être logique par le fait que les branchies sont en contact direct avec l'eau et représentent donc une première cible

d'exposition des poissons aux polluants (**Pandey et al., 2003; Da Rocha et al., 2009; Paulino et al., 2012 a; Paulino et al., 2012^b**).

D'une manière générale, nos résultats sont en accord avec certaines études antérieures qui ont noté une augmentation du taux de MDA au niveau des tissus branchiaux par rapport aux tissus hépatiques. Ainsi, **Farombi et al. (2007)** ont observé une augmentation du taux du MDA dans les branchies par rapport au foie de l'espèce *Clarias gariepinus* capturée dans la rivière Ogun (Nigeria) contaminée par le Pb, le Cd et le Zn. Des résultats similaires ont été aussi observés par **Fatima et al. (2015)** chez les espèces *Channas triatus* et *Heteropneustes fossilis* provenant de la rivière Kali en Inde contaminée par le Ni, le Cr, le Cd et le Pb. Nos résultats semblent en revanche être contradictoires aux résultats de **Sakuragui et al. (2013)** qui ont signalé une diminution du taux du MDA au niveau des branchies par rapport au foie des espèces *Astyanax fasciatus* et *Pimelodus maculatus* capturées dans le barrage (Minas Gerais, Brésil).

II.2. Utilisation de l'induction *in vivo* chez les espèces *Abramis brama* et *Barbus callensis* et *in vitro* dans lignées cellulaires (RTG2 et PLHC1) des activités de détoxification du système P450 (CYP1A et d CYP3A) pour évaluer la contamination du barrage de Beni Haroun par les polluants organiques persistants (POPs)

Dans cette partie nous avons utilisé l'induction des activités de détoxifications (CYP1A et CYP3A) dans les organes pertinents (le foie et les branchies) chez les espèces de poissons *Barbus callensis* et *Abramis brama* choisies comme espèces sentinelles afin de déterminer les changements biologiques qui pourraient refléter une réponse à la présence des traces des contaminants. Il faut souligner ici que, compte tenu de la grande sensibilité des activités enzymatiques utilisées dans cette étude, leur induction ne doit pas être obligatoirement associée à des niveaux élevés de pollution, mais elles peuvent être utilisées comme un signal d'alarme précoce qui sert à mettre en œuvre des mesures de correction si nécessaire.

Les espèces des poissons sélectionnées, omnivores et se nourrissent du zooplancton et des invertébrés benthiques (principalement des moules et des oligochètes) (**Jedamski-Grymlas et al., 1995; Berrebi et al., 1995; Riede, 2004; Ould Roui et al., 2012; Targońska et al., 2014**), sont particulièrement vulnérables aux polluants persistants bioaccumulables. De plus, à cause de leur mode de vie benthique, ces poissons entrent souvent en contact avec des sédiments pouvant contenir des POPS. Prenant en considération de tout cela, on peut prévoir que la présence des polluants à des concentrations en traces dans

les eaux et / ou les sédiments du barrage de Beni Haroun peut entraîner des changements importants dans les activités des systèmes de détoxification de ces deux espèces des poissons.

Le Facteur de condition et le HSI peuvent fournir des informations précieuses sur les impacts potentiels de la pollution et l'état de santé général des poissons (**Sanchez et al., 2008; Güngördü et al., 2012; Teubner et al., 2015**). Le CF a été souvent utilisé comme indicateur de la santé générale des poissons, mais aussi pour évaluer les effets des contaminants (**Barhoumi et al., 2014**). Par ailleurs, le HSI est une mesure des réserves énergétiques de l'activité hépatique et métabolique. Cette dernière a une tendance à augmenter en réponse à la contamination chimique suite à l'induction ou à l'activation des enzymes de biotransformation (**Slooff et al., 1983**).

Généralement et à l'exception de quelques différences chez l'espèce *Barbus callensis*, le HSI n'a présenté aucune différence statistiquement significative entre les différents sites et les différentes campagnes d'échantillonnage le long de ce travail. En revanche, plusieurs différences significatives ont été notées pour le CF. En effet, une augmentation du CF a été observées au mois d'Aout (dans la station EN chez l'espèce *Barbus callensis* et au niveau de toutes les stations chez l'espèce *Abramis brama*), au mois d'Octobre (dans la station BH chez l'espèce *Barbus Callensis* et dans la station RH pour l'espèce *Abramis brama*) et durant le mois de Janvier (dans la station RH chez l'espèce *Barbus callensis*). Ces augmentations peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que les changements saisonniers dans les éléments nutritifs, la disponibilité de la nourriture et la physiologie des poissons. Les résultats obtenus au mois d'Aout peuvent d'une part être attribués à la période de reproduction (Mai-Juillet pour les deux espèces utilisées dans cette étude). Comme il a été démontré dans la littérature que les poissons réduisent ou arrêtent l'alimentation pendant la période de frai (**Slotte, 1999; Gardner, 2013**). Théoriquement, après la fin de la période de frai, qui coïncide avec le mois d'Aout, les poissons reprennent leur nourriture, ce qui entraîne une augmentation de leur poids. L'augmentation de la température peut d'autre part contribuer à l'augmentation des CF ainsi observée. De tels effets ont été déjà observés par (**Wootton, 1990; Mann, 1991; Hernandez et al., 2003; Wootton, 2011; Eddy et Handy, 2012**). Une autre explication possible est le fait que les individus de l'espèce *Abramis brama* capturés durant les mois d'Août d'Octobre dans la station RH et les individus de l'espèce *Barbus callensis* capturés au niveau de la station EN durant le mois d'Août, dans la station BH durant le mois d'Octobre et dans la station RH durant le mois de janvier sont plus âgés que les poissons capturés aux cours des autres campagnes et/ou aux autres stations d'échantillonnage.

Les enzymes de biotransformation, en particulier les CYPs, ont été utilisées avec succès comme biomarqueurs pour surveiller la qualité de l'environnement aquatique (Quesada-García et al., 2013; Barhoumi et al., 2014; Asker et al., 2016; Yılmaz et al., 2016). La majorité de ces études comparent les sites contaminés avec des sites de référence ou des sites vierges. Cependant, dans le présent travail, tenant compte de la taille énorme du lac du barrage de Beni Haroun et de la grande distance entre les sites d'échantillonnage, on a considéré que les comparaisons peuvent être effectuées sans établir un site de référence vierge externe. De plus, les différences dans les propriétés physico-chimiques (par exemple, pH, température, teneur en matière organique, etc...) entre les eaux du Beni Haroun et d'autres milieux extérieurs peuvent ajouter de nouveaux facteurs de variabilité qui peuvent confondre l'interprétation des résultats. Par conséquent, on a considéré que dans cette étude, l'induction possible des CYPs ne peut être estimée que par une comparaison entre les activités enzymatiques des CYPs des espèces étudiées avec les données publiées antérieurement chez les espèces cibles de cette étude et d'autres espèces sentinelles, mais aussi en comparant les niveaux des activités enzymatiques dépendantes des CYPs dans différentes stations et différentes campagnes de prélèvement.

D'après la littérature, les niveaux physiologiques de l'activité EROD varient de $11,5 \pm 6,5$ à $72,07 \pm 33,8$ pmol / mg / min dans l'espèce *Barbus callensis* (Vindimian et al., 1991 ; Aarab et al., 2004) et de 6,6 à 7,7 pmol / mg / min chez l'espèce *Abramis brama* (Whyte et al., 2000; Koponen et al., 2003). Ces valeurs sont comparables avec celles observées durant les mois de Mars, de Mai et de Janvier chez l'espèce *Barbus callensis* et celles signalées dans les stations RH et EN durant le mois de Mars et dans toutes les stations durant les mois de Mai et Août chez l'espèce *Abramis brama*. Néanmoins, l'augmentation de l'activité EROD durant le mois d'Octobre chez les deux espèces et au niveau de la station BH pendant le mois de Mars chez l'espèce *Abramis brama* suggère une éventuelle exposition des poissons aux inducteurs de l'activité EROD. Un tel résultat est en accord avec les travaux antérieurs. Ainsi, Hugla et Thomé (1999) ont préalablement signalé une forte induction de l'activité EROD dans le foie du barbeau commun (*B. barbus*) exposé aux PCBs dans des conditions contrôlées. Machala et al. (2000) et Koponen et al. (2003) ont également rapporté une induction de l'activité EROD dans brème (*Abramis brama*) provenant des milieux pollués par les PCBs et les dioxines.

Les valeurs les plus élevées (plus de 600 pmol/mg/min comme maximum) de l'activité EROD observées chez l'espèce *Barbus callensis* dans la présente étude sont similaires à celles détectées dans le foie de carpe commune (*Cyprinus carpio*), une espèce

appartient à la même famille que le barbeau (cyprinidés), collectée dans les différentes régions de la rivière Ebro polluée par des composés organochlorés (**Lavado et al., 2006**) et à celles observées dans les foies des truites arc-en-ciel capturées dans des fermes contaminées par des faibles concentrations d'une mixture des POPs (**Quesada-García et al., 2013**). De plus, les niveaux maximaux observés chez l'espèce *Abramis brama* sont proches de 100 pmol / mg / min et sont comparables à celles rapportées pour d'autres espèces comme la truite arc-en-ciel (**Quesada-García et al., 2015**), la dorade (*Sparus aurata*) (**Ortiz-Delgado et al., 2007**) et le maigre (*Argyrosomus regius*) (**Wunderlich et al., 2015**). On peut donc considérer que l'induction observée dans le barbeau (*Barbus Callensis*) et la brème (*Abramis brama*) est due aux traces des POPs présents dans l'eau et/ou les sédiments du barrage de Beni Haroun.

Il convient de remarquer que les niveaux de l'activité EROD détectés chez l'espèce *B. callensis* sont plus élevés à ceux observés chez l'espèce *A. brama* échantillonnées dans les mêmes endroits et durant les mêmes campagnes de prélèvement. Ces derniers ont atteint des valeurs beaucoup plus élevées chez l'espèce *B. callensis* (plus de 600 pmol/mg/min comme maximum, bien que dans plusieurs sites d'échantillonnage, les valeurs proches à 200 ou 300 pmol / mg / min étaient normales). À vrai dire, l'activité EROD ne dépend pas seulement de la présence des groupes particuliers des polluants, mais elle est aussi modulée par un certain nombre de facteurs, y compris le contenu en graisse corporelle, le sexe ou l'alimentation (**Whyte et al., 2000; Navas et Segner, 2001; Jorgensen et al., 2002; Andreas et al., 2003**). Ces facteurs peuvent expliquer en partie les différences observées entre les deux espèces. Cependant, les différences interspécifiques peuvent également jouer un rôle important dans les différences ainsi observées. En ce qui concerne l'utilité des espèces dans les programmes de biomonitoring, il faut souligner que les deux espèces présentent une induction suffisamment forte pour détecter la présence des polluants. Toutefois, l'énorme gamme des valeurs observées dans le barbeau doit être considérée comme un facteur positif pour l'utiliser comme espèce sentinelle de choix dans la surveillance de la qualité de l'environnement aquatique en Afrique du nord.

Généralement et à l'exception des valeurs observées chez l'espèce *A. brama* capturée durant le mois de Mars dans la station BH. Une augmentation continue de l'activité EROD a été observée en allant du mois de Mars jusqu'au mois d'Octobre en atteignant son maximum dans tous les sites d'échantillonnage durant le mois d'Octobre. Par ailleurs cette activité a été réduite dans tous les sites d'échantillonnage durant le mois de Janvier chez l'espèce *B. callensis*. Plusieurs facteurs tels que la température et les précipitations peuvent, en effet,

expliquer les résultats obtenus.

La température est connue par son influence sur les activités enzymatiques y compris l'EROD non seulement par son effet direct sur l'activité métabolique, mais aussi par son influence sur la biodisponibilité, l'absorption et/ou l'élimination des polluants par les organismes aquatiques (avec une accumulation accrue à des températures plus élevées et une élimination plus lente aux faibles températures). Cette dernière peut influencer la disponibilité des ligands au récepteur AhR et par conséquent l'activité EROD (**Whyte et al., 2000; Wunderlich et al., 2015**). Dans ce contexte, l'augmentation de la température de l'eau du barrage peut expliquer l'augmentation de l'activité EROD observée durant les mois de Mai et d'Août. Toutefois, la diminution de celle-ci peut être responsable des résultats obtenus au mois de Janvier. Des résultats similaires ont été observés dans des travaux antérieurs (**Lyons et al., 2011; Wunderlich et al., 2015**) démontrant une activité EROD dépendante de la température. Par exemple ; **Wunderlich et al. (2015)** ont noté une augmentation d'activité EROD dans les foies de l'espèce *Plagioscion squamosissimus* avec une parallèle augmentation de la température. En revanche, **Lyons et al. (2011)** ont signalé une diminution de l'activité EROD chez la morue (*Gadus morhua*) avec la diminution de la température.

Les précipitations peuvent d'autre part contribuer à l'explication des résultats obtenus durant la présente étude. Ainsi, la période sèche favorisant la concentration des polluants par les eaux/et ou les sédiments peut justifier l'augmentation de l'activité EROD observée au mois d'Août. Par ailleurs, la période humide peut expliquer les résultats observés au mois d'Octobre. Vu que la saison de premières pluies dans notre zone d'étude commence à la fin de mois de Septembre 2015, après une longue période sèche, tous les polluants qui se sont accumulés dans le bassin versant du barrage peuvent être introduits dans le lac du barrage via les ruissellements et mener à une augmentation de l'activité EROD au mois d'Octobre. Dans ce contexte, l'activité EROD la plus élevée a été détectée au niveau de la station BH. Cette dernière constitue le point de sortie du lac et collecte donc des sédiments et les inducteurs de l'activité EROD des stations situées en amont.

Des études antérieures ont affirmé que le sexe est l'un des facteurs les plus importants influençant l'activité EROD chez les poissons (**Whyte et al., 2000**). Dans le présent travail, les différences les plus importantes entre les sexes dans l'activité EROD hépatique de l'espèce *B. callensis* sont signalées au mois d'Août (voir la figure supplémentaire S1 annexes), avec des niveaux plus élevés chez les femelles par rapport aux mâles. Ce qui coïncide avec la fin de la période de frai (Mai-Juillet) de cette espèce et donc avec une diminution de la

concentration sanguine des œstrogènes contrôlant l'ovulation et le frai. Puisque il a été démontré que les œstrogènes peuvent entraîner une diminution de l'activité EROD (**Navas et Segner, 2001**), la réduction de leur concentration peut être responsable de l'augmentation observée de l'activité EROD. Cette observation est en accord avec une étude récente de **Wunderlich et al. (2015)** qui ont noté une augmentation de l'activité EROD hépatique des femelles de l'espèce *Plagioscion quamosissimus* (provenant du réservoir Barra Bonita Brésil) à la fin de la période de frai. Par ailleurs, les niveaux de l'activité EROD élevés observés chez les femelles pendant le mois d'Août peuvent aussi être dus en partie à la taille élevée des femelles qui peuvent probablement être plus âgées que les mâles. Un tel effet a été observé par **Hugla et al. (1995)** dans le barbeau commun (*B. barbatus*), où les poissons adultes collectés dans un site contaminé par les PCBs avaient une activité EROD plus élevée que les juvéniles. De même, **Yilmaz et al. (2016)** ont observé une augmentation de l'activité EROD avec l'augmentation de la taille chez l'espèce *Mullus barbatus* capturée dans la baie de Mersin (Turquie).

Comme a été rapporté précédemment par (**Andersson et al., 2007; Ortiz-Delgado et al., 2007; Nahrgang et al., 2010**), dans la présente étude, les niveaux de l'activité EROD dans les branchies étaient plus faibles que dans le foie des deux espèces étudiées. Cette différence semble être liée à la plus grande quantité des protéines CYP1A présentes dans le foie, qui est le principal organe responsable du métabolisme des xénobiotiques chez les poissons (**Hinton et al., 2001**). Cependant, en dépit de la faible activité catalytique associée à la CYP1A dans les branchies, par rapport au foie. Les branchies constituent un site important de biotransformation et une première barrière dans laquelle le métabolisme d'un certain nombre des xénobiotiques peut être initié lors de leur passage à travers l'épithélium branchial (**Jonsson et al., 2003; Ortiz-Delgado et al., 2008; Oliva et al., 2014**). Dans la présente étude, les valeurs de l'activité EROD branchiale suivent une tendance opposée à celles de l'EROD hépatique avec une augmentation durant le mois de Mai et janvier pour l'espèce *B. callensis* et au mois d'Août pour *A. brama* et une diminution pendant les mois d'Août pour l'espèce *B. callensis* au mois d'Octobre chez les deux espèces. Un tel résultat pourrait s'expliquer par un certain nombre de facteurs. Tout d'abord, il faut souligner que les niveaux de l'activité EROD dans les branchies étaient beaucoup plus faibles que dans le foie, de sorte que, les différences observées peuvent ne pas refléter des fortes variations dans les niveaux de la pollution. On peut supposer que les faibles concentrations des polluants en Mai et en Janvier ont entraîné une induction précoce de l'activité EROD dans les branchies de l'espèce *B. callensis*, de sorte que la quantité des inducteurs atteignant le foie n'était pas suffisamment

élevée pour provoquer une induction importante (**Jonsson et al., 2003**). Ce qui est en accord avec des études antérieures, Ainsi, **Smolowitz et al. (1992)** ont spéculé que le métabolisme du benzo [a] pyrène (BaP) qui est catalysé par le CYP1A au niveau des branchies peut réduire la quantité d'inducteurs actifs atteignant les tissus internes dans le poisson Crapaud (*Opsanus tau*). **Mdegela et al. (2006)** ont également observé des résultats similaires dans une étude effectuée sur le poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*) exposé au BaP. Ce composé est métabolisé au niveau des branchies et seule une petite fraction du B [a] P atteignait le foie. Par ailleurs, la diminution de l'activité EROD au niveau des branchies notée durant le mois d'Août chez l'espèce *B callensis* et pendant le mois d'Octobre chez les deux espèces peut probablement être due à une inhibition de la biotransformation dépendante du CYP1A au niveau des branchies provoquée par des niveaux élevés de polluants qui, cependant, peuvent atteindre le foie. Un tel résultat est en accord avec certains rapports montrant une inhibition de l'activité EROD branchiale par des niveaux élevés des polluants (**Behrens et Segner, 2005 ; Ortiz-Delgado et al., 2008**).

Il est important à signaler dans ce présent travail que l'activité EROD branchiale a augmenté au mois d'Août chez l'espèce *A. brama* et diminué chez l'espèce *B. callensis*. Un tel effet peut s'expliquer par les différences interspécifiques, il semble que l'espèce *B. callensis* est plus sensible que l'espèce *A. brama*. Toutefois, une telle conclusion reste à confirmer.

Contrairement à l'activité EROD, qui a été intensivement utilisée comme biomarqueur d'exposition des poissons aux traces des polluants, l'activité BFCOD a été appliquée à cet effet dans seulement peu d'études (**voir par exemple (Della Torre et al., 2010; Wassmur et al., 2010; Fernandes et al., 2013; Quesada-García et al., 2011)** et seuls quelques-unes entre elles sont des études de terrain (**Della Torre et al., 2010; Quesada-García et al., 2013**). Dans la présente étude, les valeurs de l'activité BFCOD s'étalent de 25 ± 1 (BH, Août) à 247 ± 3 (BH, Octobre) pmol/mg/min chez l'espèce *B. Callensis* et de 13.09 ± 3.81 (EN, Mars) à 110.55 ± 6.85 (BH, Mars) pmol/mg/min chez l'espèce *A. brama*. Selon la littérature, les valeurs physiologiques basales des activités de BFCOD rapportées dans les autres espèces des poissons varient de 2 à 20 pmol/mg/min pour la truite arc-en-ciel (**Hasselberg et al. 2008 ; Wassmur et al., 2010**), de 4.93 à 35.98 pmol/mg/min dans la Semelle sénégalaise (*Solea senegalensis*, **Koenig et al., 2013; Solé et al., 2014**), de 53,8 à 57,5 pmol/mg/min dans le Choquemort (*Fundulus heteroclitus*, **Hegelund et Celander, 2003**) et de 40 à 50 pmol/mg/min dans la carpe crucienne (*Carassius auratus*, **Xie et al., 2016**). Dans une étude menée sur la truite arc-en-ciel cultivée, **Quesada-García et al. (2013)** ont observé des valeurs maximales de BFCOD de 102 ± 28 pmol/mg/min qui ont été

considérées comme le résultat d'une induction causée par des polluants chimiques présents en trace dans les eaux, car ces valeurs ont diminué à 26 ± 7 pmol/mg/min après avoir transféré les animaux pendant 15 jours dans des eaux non contaminées. De plus, l'activité BFCOD dans le mulot rouge (*Mullus barbatus*) dans le site de référence était de 9 ± 3 pmol/mg/min et a augmenté jusqu'à 32 ± 6 pmol/mg/min dans les poissons provenant d'une zone polluée par les HAPs (Della Torre et al., 2010). À notre connaissance, il n'y a pas de données antérieures sur l'activité BFCOD chez les espèces *B.callensis* et *A. brama*. Compte tenu des valeurs observées dans les autres espèces, les faibles niveaux détectés dans le présent travail chez l'espèce *A. brama* dans les stations RH et EN durant le mois de Mars et dans toutes les stations pendant le mois de Mai et ceux notés chez l'espèce *B.callensis* durant le mois d'Août dans tous les sites d'échantillonnage pourraient être considérés comme physiologiques. Tandis que les valeurs observées durant les autres campagnes de prélèvement peuvent refléter une induction.

Chez les mammifères, l'activité CYP3A (BFCOD) est inductible par des corticostéroïdes et des analogues synthétiques, mais aussi par divers médicaments thérapeutiques (Curi-Pedrosa et al., 1994, Van Der Oost et al., 1996). Par ailleurs, chez les poissons, l'activité BFCOD et le CYP3A sont inductibles par une variété des médicaments comme le clotrimazol (Li et al., 2008; Burkina et al., 2016). L'augmentation de l'activité BFCOD observée chez les deux espèces en Octobre dans le présent travail était concomitante à celle de l'EROD et affirme de ce fait l'idée que l'augmentation générale de l'activité enzymatique observée au cours de ce mois pourrait être associée à la présence des xénobiotiques dans le lac du barrage. Les variations de l'activité BFCOD dans les autres mois, au-dessus des niveaux basales sont difficiles à expliquer. Probablement, ils sont liés à la présence des xénobiotiques dans les eaux et/ ou les sédiments, mais peuvent aussi être dues au rôle joué par les CYP3A dans le métabolisme des stéroïdes endogènes comme la testostérone et la progestérone (Wheeler et al., 2005; Mortensen et Arukwe, 2007; Zhao et al., 2013).

Tenant compte du comportement différent de la brème et du barbeau, l'augmentation des activités de détoxification (EROD et BFCOD) observée dans BH durant le mois de Mars chez l'espèce *Abramis brama* mais pas chez l'espèce *Barbus Callensis* peut suggérer la présence de certains polluants dans les sédiments de la station BH durant le mois de Mars qui n'étaient accessibles qu'à une espèce benthopélagique comme la brème, avec un contact plus élevé avec les sédiments. Cependant, la nature de ces polluants et la raison de leur présence à ce moment et à un site particulier restent difficiles à expliquer.

Dans les branchies, les valeurs de l'activité BFCOD étaient autour d'un dixième de celles observées dans le foie et avec quelques exceptions, aucune variation n'a été signalée le long de la période d'échantillonnage ou entre les sites d'échantillonnage. Cela peut être dû au rôle secondaire de cette activité enzymatique dans les branchies, en tant que première ligne de front contre la pollution.

Afin de confirmer nos résultats obtenus dans les tissus des poissons, nous avons mesuré les activités EROD et BFCOD dans des lignées cellulaires des poissons en culture exposées aux extraits des sédiments prélevés dans les mêmes stations et durant les mêmes campagnes d'échantillonnage que les poissons. Seulement quelques extraits des sédiments ont pu provoquer une induction suffisamment élevée de l'activité EROD qui permet calculer les β NF-Eqs. Les valeurs les plus élevées enregistrées dans le présent travail sont d'environ 1,95 ng de β NF-Eq mg des sédiments secs. Ces valeurs sont dans la même gamme que celles rapportées par **Quesada-García et al. (2015)** en utilisant une approche similaire dans les sédiments provenant d'une rivière faiblement contaminée par POPs située en Castille et Léon (Espagne) et celles observées par **Boronat et al. (2009)** dans les sédiments des lacs de haute montagne européens.

Il est important à souligner que les extraits des sédiments qui présentent les niveaux de β NF-Eq les plus élevés sont ceux prélevés au niveau des mêmes stations et durant les mêmes campagnes d'échantillonnage où l'activité EROD maximale hépatique et/ou branchiale chez le barbeau et/ou la brème a été observée. Ce fait consolide l'idée que les inductions observées sont dues à la présence des xénobiotiques accumulés dans les eaux et les sédiments. Dans une approche similaire utilisant la truite arc-en-ciel, **Valdehita et al. (2012)** ont observé une forte induction de l'activité EROD hépatique avec une parallèle induction de cette activité dans les cellules RTG-2 causées par des extraits de sédiments échantillonnés dans les mêmes stations que la truite.

Dans la présente étude, aucun extrait de sédiments n'a réussi d'induire l'activité BFCOD dans des cellules PLHC1 *in vitro*. Il est possible que les inducteurs de BFCOD ne sont pas extractibles par le méthanol utilisé pour le processus d'extraction dans notre approche ou que l'activité BFCOD n'a pas été induite dans les foies par les polluants présents dans les sédiments mais par leurs métabolites ou par d'autres substances.

La détermination de la nature exacte des composés responsables des inductions observées dans la présente étude est hors de la portée de notre travail, mais probablement certains groupes de polluants jouent un rôle clés. Les inducteurs prototypes de l'activité EROD comprennent un certain nombre de POPs tels que les HAPs, les PCBs ou les dioxines

(Whyte et al., 2000; van der Oost et al., 2003; Lyons et al., 2010). Ces substance sont également connus par leur effet inducteur de l'activité BFCOD (Creusot et al.2015). Ainsi, dans les travaux antérieurs Quesada-García et al. (2013) et Valdehita et al. (2012), ont constaté que l'induction de l'activité EROD dans la truite arc en ciel pourrait être liée à la présence des traces des HAPs. Compte tenu de la présence répandue des HAPs qui sont continuellement diffusés dans l'environnement, on peut considérer qu'ils sont responsables en grande partie aux inductions observées. Cependant, il existe un certain nombre d'autres substances qui peuvent contribuer à l'induction de l'activité EROD (Jos et al., 2007), y compris les pesticides (Babín et al., 2005; Casado et al., 2006; Li et al., 2013; Lin et al., 2014) et /ou les produits pharmaceutiques (Martín-Díaz et al., 2009; Fernández-Cruz et al., 2011; Li et al., 2008b ; Li et al., 2012). Par ailleurs, l'induction de l'activité BFCOD est normalement associée à l'exposition aux produits pharmaceutiques (Creusot et al., 2015, Burkina et al., 2016; González-Mira et al., 2016). Les pesticides peuvent rejoindre le lac du barrage étudié suite au lessivage des terres agricoles situées dans le bassin versant du barrage tandis que les produits pharmaceutiques sont probablement présents dans les eaux usées qui se trouvent tôt au tard dans le lac du barrage. Ces produits chimiques pourraient contribuer à augmentation des activités EROD et BFCOD observée durant le présent travail.

Conclusion

L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer le risque de contamination des eaux et des sédiments du plus grand barrage en Algérie, le barrage de Beni Haroun, par les métaux lourds et les polluants organiques persistants. Pour cela nous avons suivi une méthodologie basée sur l'utilisation intégrée des analyses physico-chimiques, des biomarqueurs et des bio-essais. Dans laquelle nous avons effectué des mesures des paramètres physico-chimiques, des dosages des métaux lourds (Pb, Cd et Cr) dans les eaux, les sédiments et les poissons d'une part et de la recherche de la présence des polluants organiques persistants dans les eaux et les sédiments du barrage d'autre part, suivie par des mesures biochimiques effectuées sur 3 espèces des poissons choisies comme espèces sentinelles. Pour compléter le présent travail, il s'est avéré indispensable d'appliquer la technique des bio-essais qui porte sur le test des extraits des sédiments sur les lignées cellulaires des poissons (PLHC1 et RTG2).

À l'issue de cette étude, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- Le barrage Beni Haroun est contaminé par les métaux lourds et les polluants organiques persistants cette contamination se traduit essentiellement par :
- Des concentrations du Pb et du Cd dans les eaux, qui dépassent largement les normes Algériennes et internationales des eaux douces et des eaux destinées à la consommation humaine.
- Des fortes concentrations du Cd et du Pb dans les muscles de l'espèce *Cyprinus carpio* qui dépassent largement les valeurs limites (FAO, CE, et WHO) des concentrations des métaux dans les poissons destinés à la consommation humaine.
- Ces résultats montrent que les sédiments du barrage Beni Haroun sont modérément pollués par le Cr, par le Cd et par le Pb selon l'EPA et peuvent présenter un risque pour la faune aquatique selon les guides (CBSQG).
- Cette étude a dévoilé aussi la présence de certains les polluants organiques persistants. Il s'agit principalement des hydrocarbures polycycliques aromatiques, des phtalates et des composés organochlorés susceptibles d'être des métabolites des pesticides, mais aussi l'existence d'autres substances qui ne sont pas des POPs, mais peuvent présenter un risque pour les organismes aquatiques et celle de l'homme. Il s'agit des organophosphorés qui peuvent être des métabolites des pesticides.

Les résultats des dosages des biomarqueurs chez l'espèce *Cyprinus carpio* ont montré que cette espèce est soumise à un stress chimique qui se traduit par une inhibition des activités des EROD, d'ACHé et de CaE d'une part et une induction et/ou inhibition de système antioxydant enzymatique et non enzymatique ainsi qu'une augmentation du taux du MDA d'autre part. Cette réponse varie généralement en fonction de tissu, de la saison, du sexe et de la concentration des métaux lourds.

Les résultats des mesures des activités EROD et BFCOD dans les espèces *Abramis brama* et *Barbus callensis* et dans les lignées cellulaires RTG2 et PLHC1 ont montré une contamination du barrage de Beni Haroun par les inducteurs des activités EROD et BFCOD. Ces derniers peuvent entrer dans le barrage via les déchets agricoles, industriels et municipaux. Les changements observés dans les activités EROD et BFCOD corroborent l'idée que les concentrations de ces substances inductrices présentent des variations spatio-temporelles. Ces résultats ont révélé aussi l'utilité de la mesure combinée *in vitro* et *in vivo* des activités EROD et BFCOD dans la bio surveillance des milieux aquatiques.

Cette étude a aussi montré que les espèces *Cyprinus carpio*, *Barbus callensis* et *Abramis brama*, étant des espèces benthiques, interagissent continuellement avec les sédiments où les polluants pourraient s'accumuler, sont des espèces sentinelles de choix qui peuvent être utilisées dans les programmes de biomonitoring des écosystèmes aquatiques. D'autre part en raison de sa répartition généralisée en Algérie, en Tunisie et au Maroc, l'espèce *Barbus callensis* apparaît comme une bonne espèce sentinelle qui peut être utilisée dans les programmes de bio surveillance en Afrique du Nord.

Cette étude a aussi montré que l'utilisation intégrée de l'analyse physico-chimique, des biomarqueurs et des bio-essais est très utile dans la surveillance de l'environnement aquatique.

Cette étude a montré le risque auquel est exposée la population humaine consommatrice des eaux et des poissons du barrage de Beni Haroun. Par conséquent cette étude devra éventuellement suivi par d'autres études complémentaires. Ainsi nous envisageons en perspectives :

- D'évaluer la contamination des eaux et des sédiments du barrage par les substances pharmaceutiques ;
- De faire une étude épidémiologique sur la population consommatrice de l'eau et des poissons du Barrage.

- D'évaluer l'effet des eaux et des sédiments sur le système endocrinien des poissons et des mammifères

Pour protéger la santé des populations de la toxicité des métaux et des POPS et préserver l'eau du barrage de Beni Haroun de toute sorte de pollution.

Il paraît primordial de mettre à terme à cette pollution en adoptant des mesures nécessaires. La restauration de ce barrage impose un plan de réaménagement reposant sur l'emplacement des réseaux d'assainissement permettant de joindre les eaux de rejets aux collecteurs généraux, ou la construction de canaux tout le long des rives des oueds alimentant le barrage pour regrouper toutes les eaux rejetées, les canaux pourront acheminer à l'aval, vers des stations d'épuration qui seront construites. Pour remédier au lessivage agricole, l'utilisation des engrais doit être remplacée par les boues d'épuration et les composts. Il est également nécessaire que l'état impose son autorité au secteur industriel pour qu'il respecte la réglementation en vigueur en matière de protection et de respect de l'environnement. Des mesures d'encouragement sont souhaitables pour pousser les industriels à moderniser leurs procédés industriels, pour qu'il soit plus écologiques. Il faut aussi que le ministère de l'environnement et de l'aménagement de territoire se dote d'une police écologique composée de personnel technique hautement qualifié et très bien équipé pour faire appliquer la loi.

Il est également primordial d'adopter une politique de tri des déchets et ordures et leur recyclage (collectes des piles batteries, matériaux plastique, pneus des véhicules.....). Ceci à un double avantage. Le premier est écologique, le deuxième est économique puisque le tri et le recyclage des déchets créent des emplois comme c'est prouvé dans les pays développés.

Il est aussi important de sensibiliser les citoyens des villages limitrophes du barrage et de les encourager de ne pas jeter les déchets un peu partout dans les rives des Oued alimentant le barrage.

Pour lutter contre l'envasement du barrage le reboisement du bassin versant et la correction torrentielle par la construction des diguettes de pierre sèche s'avèrent indispensables.

Références bibliographiques

- Aarab, N., Champeau, O., Mora, P., Daubeze, M., Garrigues, P., & Narbonne, J. F. (2004). Scoring approach based on fish biomarkers applied to French river monitoring. *Biomarkers*, 9(3), 258-270..
- Abarikwu, S. O., Essien, E. B., Iyede, O., & John, K. (2017). Biomarkers of oxidative stress and health risk assessment of heavy metal contaminated aquatic and terrestrial organisms by oil extraction industry in Ogale, Nigeria. *Chemosphere, in press*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.024>
- Abdel-tawwab, M., El-sayed, G. O., & Shady, S. H. (2017b). Effect of dietary active charcoal supplementation on growth performance, biochemical and antioxidant responses, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental heavy metals exposure. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.016>
- Abdel-Tawwab, M., El-Sayed, G. O., Monier, M. N., & Shady, S. H. (2017a). Dietary EDTA supplementation improved growth performance, biochemical variables, antioxidant response, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) to environmental heavy metals exposure. *Aquaculture*, 473, 478- 486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.006>
- Abele, D., & Puntarulo, S. (2004). Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 138(4), 405- 415. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.05.013>
- Abouhend, A. S., & El-moselhy, K. M. (2015). Spatial and Seasonal Variations of Heavy Metals in Water and Sediments at the Northern Red Sea Coast. *American Journal of Water Resources*, 3(3), 73- 85. <https://doi.org/10.12691/ajwr-3-3-2>
- Abrahamson, A., Andersson, C., Jönsson, M. E., Fogelberg, O., Örberg, J., Brunström, B., & Brandt, I. (2007). Gill EROD in monitoring of CYP1A inducers in fish—a study in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) caged in Stockholm and Uppsala waters. *Aquatic toxicology*, 85(1), 1-8. Abrahamson, A. (2007). *Gill EROD Activity in Fish. Aquatic Toxicology*. <https://doi.org/ISBN 978-91-554-6902-3>
- Adamis, P. D. B., Gomes, D. S., Pinto, M. L. C. C., Panek, A. D., & Eleutherio, E. C. A. (2004). The role of glutathione transferases in cadmium stress. *Toxicology Letters*, 154(1- 2), 81- 88. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.07.003>
- Adriano, D. C. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. 2nd, 2001. Springer- Verlag. New York
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme (Edition Francaise)* ; , 74(7), 636- 643. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.009>
- Al-Ghais, S. M. (2013). Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 74(1), 183- 186. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.005>
- Al-Ghais, S. M., Ahmad, S., & Ali, B. (2000). Differential inhibition of xenobiotic-metabolizing

carboxylesterases by organotins in marine fish. *Ecotoxicology and environmental safety*, 46(3), 258- 64. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1928>

Al-Ghanim, K. A. (2014). Effect of an organophosphate insecticide diazinon on the activity of acetylcholinesterase and lipid peroxidation of a common carp, *cyprinus carpio* L. *Pakistan Journal of Zoology*, 46(1), 161- 166.

Allway B. J. (1995). Heavy metals in soil. Edition Blackie academic & professional. Second Edition.

Almeida, J. A., Diniz, Y. S., Marques, S. F. G., Faine, L. A., Ribas, B. O., Burneiko, R. C., & Novelli, E. L. B. (2002). The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environment International*, 27(8), 673- 679. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00127-1)

Almroth, B. C., Sturve, J., Berglund, Å., & Förlin, L. (2005). Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 73(2), 171- 180. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.03.007>

Alouemine, S. (2006). *Méthodologie de caractérisation des déchets ménagers à Nouakchott (Mauritanie): Contribution à la gestion des déchets et outils d'aide à la décision* (Doctoral dissertation, Limoges). Alouemine, S. O. (2006). *Méthodologie de caractérisation des déchets ménagers à Nouakchott (Mauritanie): contribution à la gestion des déchets et outils d'aide à la décision. These de doctorat* (UNIVERSITE). France.

Amiard-Triquet, C., & Rainbow, P. S. (Eds.). (2009). *Environmental assessment of estuarine ecosystems: a case study*. CRC press.

Amundsen, P. A., Staldvik, F. J., Lukin, A. A., Kashulin, N. A., Popova, O. A., & Reshetnikov, Y. S. (1997). Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia. *Science of the Total Environment*, 201(3), 211- 224. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)84058-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)84058-2)

ANBT (Agence National des Barrage et des Transfert) 2014

Andersson, C., Katsiadaki, I., Lundstedt-enkel, K., & Orberg, J. (2007). Effects of 17 ethynylestradiol on EROD activity , spiggin and vitellogenin in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*), 83, 33- 42. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.008>

Andreas, C., Hofer, R., & Fritz, S. (2003). Fish as bioindicators. *Trace metals and other contaminants in the environment*, 6, 639-676. Fish as bioindicators. In *Bioindicators & Biomonitors Principles, Concepts and Applications* (Elsevier S, p. 639- 676).

Andujar, P., Bensefa-Colas, L., & Descatha, A. (2010). Intoxication aigue et chronique au cadmium. *Revue de Medecine Interne*, 31(2), 107- 115. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2009.02.029>

Araújo, M. C. de, Assis, C. R. D., Silva, L. C., Machado, D. C., Silva, K. C. C., Lima, A. V. A., ... Oliveira, M. B. M. de. (2016). Brain acetylcholinesterase of jaguar cichlid (*Parachromis managuensis*): From physicochemical and kinetic properties to its potential as biomarker of pesticides

and metal ions. *Aquatic Toxicology*, 177, 182- 189. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.05.019>

Arenas-Sánchez, A., Rico, A., & Vighi, M. (2016). Effects of water scarcity and chemical pollution in aquatic ecosystems: State of the art. *Science of the Total Environment*, 572, 390- 403. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.211>

Arockia Vasanthi, L., Revathi, P., Mini, J., & Munuswamy, N. (2013). Integrated use of histological and ultrastructural biomarkers in Mugil cephalus for assessing heavy metal pollution in Ennore estuary, Chennai. *Chemosphere*, 91(8), 1156- 1164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.021>

Arrêté ministériel du 18 janvier 2006 fixant la liste des laboratoires effectuant les analyses de la qualité des eaux minérales et des eaux de sources, Journal officiel de la République algérienne. 2006.

Arslan-Alaton, I., & Olmez-Hanci, T. (2013). *Sources of Environmental Pollution: Persistent Organic Pollutants. New and Future Developments in Catalysis: Catalysis for Remediation and Environmental Concerns*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53870-3.00012-5>

Asker, N., Albertsson, E., Wijkmark, E., Bergek, S., Parkkonen, J., Kammann, U., ... Förlin, L. (2016). Biomarker responses in eelpouts from four coastal areas in Sweden, Denmark and Germany. *Marine Environmental Research*, 120, 32- 43. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.07.002>

Assis de Silva, H. C., & Mela, M. (2014). Fish Neurotoxic Pollutants. In E. A. de Almeida & C. A. de O. Ribeiro (Éd.), *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems* (CRC Press, p. 51- 83).

Atli, G., & Canli, M. (2010). Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(8), 1884- 1889. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.09.005>

Attal, M., & Arab, A. (2013). Estimation de la croissance de la population de. *CIPCA4"TAGHIT (Bechar) – ALGERIA*, (4), 143- 148.

Authman, M. M. N. (2008). *Oreochromis niloticus* as a biomonitor of heavy metal pollution with emphasis on potential risk and relation to some biological aspects. *Global Veterinaria*, 2(3), 104-109. Authman, M. M. . (2008). *Oreochromis Niloticus* as a Biomonitor. *Global Veterinaria*.

Averney, C. H. R. I. D. E. F., Afaurie, M. A. R. C. L., Irard, J. E. A. N. I. G., & Ahmani, R. O. R. (2000). Effects of heavy metals and 3- methylcholanthrene on expression and induction of CYP1A1 and metallothionein levels in trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocyte cultures. *Environmental toxicology and chemistry*, 19(9), 2239-2248.

Azeroual, A. (2003). Monographie Des Poissons Des Eaux Continentales Du Maroc : Systematique, Distribution Et Ecologie, 193.

Azevedo, J. S., Braga, E. S., Silva de Assis, H. C., & Oliveira Ribeiro, C. A. (2013). Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 96, 220- 230. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.021>

Azizullah, A., Khattak, M. N. K., Richter, P., & Häder, D.-P. (2011). Water pollution in Pakistan and its impact on public health — A review. *Environment International*, 37(2), 479- 497. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.10.007>

Babín, M., Casado, S., Chana, A., Herradón, B., Segner, H., Tarazona, J. V., & Navas, J. M. (2005). Cytochrome P4501A induction caused by the imidazole derivative Prochloraz in a rainbow trout cell line. *Toxicology in Vitro*, 19(7), 899- 902. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.037>

Bagnyukova, T. V., Lushchak, O. V., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2007). Oxidative stress and antioxidant defense responses by goldfish tissues to acute change of temperature from 3 to 23. °C. *Journal of Thermal Biology*, 32(4), 227- 234. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2007.01.004>

Bánfalvi, G. (2011). Heavy metals, trace elements and their cellular effects. *Cellular Effects of Heavy Metals*. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0428-2_1

Barata, C., Lekumberri, I., Vila-Escalé, M., Prat, N., & Porte, C. (2005). Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities and susceptibility to oxidative stress in the tricoptera larvae *Hydropsyche exocellata* from the Llobregat river basin (NE Spain). *Aquatic Toxicology*, 74(1), 3- 19. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.04.002>

Barceló, D., & Sabater, S. (2010). Water quality and assessment under scarcity: Prospects and challenges in Mediterranean watersheds. *Journal of Hydrology*, 383(1- 2), 1- 4. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.01.010>

Barhoumi, B., Clérandeau, u, C., Gourves, P. Y., Le Menach, K., Megdiche, Y. El, Peluhet, L., ... Cachot, J. (2014). Pollution biomonitoring in the Bizerte lagoon (Tunisia), using combined chemical and biomarker analyses in grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae). *Marine Environmental Research*, 101(1), 184- 195. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.07.002>

Barhoumi, S., Messaoudi, I., Gagné, F., & Kerkeni, A. (2012). Spatial and seasonal variability of some biomarkers in *Salaria basilisca* (Pisces: Blenniidae): Implication for biomonitoring in Tunisian coasts. *Ecological Indicators*, 14(1), 222- 228. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.06.025>

Barron, M. G., Charron, K. A., Stott, W. T., & Duvall, S. E. (1999). Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(11), 2506- 2511. <https://doi.org/10.1002/etc.5620181117>

Basha, P. S., & Rani, A. U. (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and environmental safety*, 56(2), 218-221

Beg, M. U., Al-Jandal, N., Al-Subiai, S., Karam, Q., Husain, S., Butt, S. A., ... Al-Husaini, M. (2015). Metallothionein, oxidative stress and trace metals in gills and liver of demersal and pelagic fish species from Kuwait's marine area. *Marine Pollution Bulletin*, 100(2), 662- 672. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.058>

Behrens, A., & Segner, H. (2001). Hepatic biotransformation enzymes of fish exposed to non-point source pollution in small streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 8(3- 4),

281- 297. <https://doi.org/10.1023/A:1012927505504>

Behrens, A., & Segner, H. (2005). Cytochrome P4501A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanised area: Results of a five-year-study. *Environmental Pollution*, 136(2), 231- 242. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.010>

Bektaş, N., Ağim, B. A., & Kara, S. (2004). Kinetic and equilibrium studies in removing lead ions from aqueous solutions by natural sepiolite. *Journal of Hazardous Materials*, 112(1- 2), 115- 122. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.04.015>

Belhoucine, F. (2012). Etude de la biologie de la croissance et de la reproduction d'un poisson téléostéen lemerlu (*Merluccius merluccius* L., 1758) et son utilisation comme indicateur biologique de la pollution par les métaux lourds (Zinc, Plomb et Cadmium) dans la baie d'Oran (thèse de d).

Beliles, R. P. (1994). The metals. *Patty's industrial hygiene and toxicology*, 2(Part C), 2106

Belli, N., Mesbah, L., Chebab, S., Tekouk, M., & Leghouchi, E. (2010). Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium : deux contaminants des eaux souterraines de Oued Nil (Jijel - Algérie). *Revue des sciences de l'eau*, 23(3), 289. <https://doi.org/10.7202/044690ar>

Ben Ameer, W. B., de Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., ... & Borràs, M. (2012). Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). *Marine Pollution Bulletin*, 64(2), 241- 251. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.11.026>

Ben Youssef, N., Nouairi, I., Ben Temime, S., Taamalli, W., Zarrouk, M., Ghorbal, M. H., & Ben Miled Daoud, D. (2005). Effets du cadmium sur le métabolisme des lipides de plantules de colza (*Brassica napus* L.). *Comptes Rendus - Biologies*, 328(8), 745- 757. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2005.05.010>

Benamar, N., Bouderbala, M., & Boutiba, Z. (2010). Evaluation de la concentration en cadmium d'un poisson pélagique commun, *Sardinella aurita*, dans la baie d'Oran, 16- 20.

Benblidia, M., & Thivet, G. (2010). Gestion des ressources en eau: les limites d'une politique de l'offre. *Plan bleu, Les Notes d'analyse du CIHEAM*, (5). Gestion des ressources en eau : les limites d'une politique de l'offre. *Notes d'analyse du CIHEAM*, N°58(November 2009), 1- 15.

Bernd A. Markert, A. M. B. and H. G. Z. (2003). Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In *Bioindicators and biomonitoring* (Elsevier S, p. 3- 39).

Berntssen, M. H. G., Maage, a., & Lundebye, a.-K. (2012). *Contamination of finfish with persistent organic pollutants and metals. Chemical Contaminants and Residues in Food*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857095794.3.498>

Berrebi, P., Kraiem, M. M., & Doadrio, I. (1995). Ecological and Genetic Differentiation of *Barbus-Callensis* Populations in Tunisia. *Journal Of Fish Biology*, 47(5), 850- 864. Consulté à

l'adresse isi:A1995TH63900009

Beyer, J., Petersen, K., Song, Y., Ruus, A., Grung, M., Bakke, T., & Tollefsen, K. E. (2014). Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: A discussion paper. *Marine Environmental Research*, *96*, 81- 91. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.10.008>

Bianco, K., Yusseppone, M. S., Otero, S., Luquet, C., Ríos de Molina, M. del C., & Kristoff, G. (2013). Cholinesterases and neurotoxicity as highly sensitive biomarkers for an organophosphate insecticide in a freshwater gastropod (*Chilina gibbosa*) with low sensitivity carboxylesterases. *Aquatic Toxicology*, *144- 145*, 26- 35. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.025>

Bing, H., Zhou, J., Wu, Y., Wang, X., Sun, H., & Li, R. (2016). Current state, sources, and potential risk of heavy metals in sediments of Three Gorges Reservoir, China. *Environmental Pollution*, *214*, 485

Bisson ,M., Diderich, R., Dujardin, R., Hulot, C., Lacroix, G., Lamy , M.H., Lefevre , J.P., Leveque .S. Magaud , H. , Tissot , S. , 2006. BENZO[a]PYRNE. Fiche de donnes toxicologiques et environnementales des substances chimiques. 44p . INERIS -Dernire mise jour 26/07/2006

Bisson , M., James, A., Hulot, C, Marescaux, N., Marlière, N., 20015.- Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiquesVersion **INERIS** . Dernire mise janvier 2016

Bjerregaard, P., Andersen, C. B. I., & Andersen, O. (2014). *Ecotoxicology of Metals-Sources, Transport, and Effects on the Ecosystem. Handbook on the Toxicology of Metals: Fourth Edition* (Fourth Edi, Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00021-4>

Blázquez et, M., Bosma, P. T., Fraser, E. J., Van Look, K. J. W., & Trudeau, V. L. (1998). Fish as models for the neuroendocrine regulation of reproduction and growth. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, *119*(3), 345- 364. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(98\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(98)00023-1)

Blickley, T. M., Matson, C. W., Vreeland, W. N., Rittschof, D., Di Giulio, R. T., & McClellan-Green, P. D. (2014). Dietary CdSe/ZnS quantum dot exposure in estuarine fish: Bioavailability, oxidative stress responses, reproduction, and maternal transfer. *Aquatic Toxicology*, *148*, 27- 39. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.12.021>

Bodin, N., Burgeot, T., Stanisiere, J. Y., Bocquené, G., Menard, D., Minier, C., ... & Budzinski, H. (2004). Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, *138*(4), 411- 427. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.04.009>

Boelsterli, U. A. (2007). *Mechanistic toxicology: the molecular basis of how chemicals disrupt biological targets*. CRC Press.12

Bonacci, S., Browne, M. A., Dissanayake, A., Hagger, J. A., Corsi, I., Focardi, S., & Galloway, T. S. (2004). Esterase activities in the bivalve mollusc *Adamussium colbecki* as a biomarker for pollution

monitoring in the Antarctic marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 49(5- 6), 445- 455. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.033>

Borkovic-Mitic, S., Pavlovic, S., Perendija, B., Despotovic, S., Gavric, J., Gacic, Z., & Saicic, Z. (2013). Influence of some metal concentrations on the activity of antioxidant enzymes and concentrations of vitamin e and SH-groups in the digestive gland and gills of the freshwater bivalve *Unio tumidus* from the Serbian part of Sava River. *Ecological Indicators*, 32, 212- 221. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.03.024>

Boronat, S., Garcia-Reyero, N., Fonts, R., FernÁndez, P., Grimalt, J. O., & Piña, B. (2009). Biological activity of aryl hydrocarbon receptor ligands in sediments from remote European lakes. *Freshwater Biology*, 54(12), 2543- 2554. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02285.x>

Bouchrit, R. (2008). « La gestion des ressources en eau en Algérie : Situation , défis et apport de l ' approche systémique ».

Bouraie, M. M. El, Barbary, A. A. El, Yehia, M. M., & Motawea, E. A. (2010). Heavy metal concentrations in surface river water and bed sediments at Nile Delta in Egypt, 61(1).

Bozcaarmutlu, A., & Arinç, E. (2004). Inhibitory effects of divalent metal ions on liver microsomal 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity of leaping mullet. *Marine Environmental Research*, 58(2- 5), 521- 524. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.03.040>

Bozcaarmutlu, A., Sapmaz, C., Aygun, Z., & Arinç, E. (2009). Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. *Marine Environmental Research*, 67(4- 5), 167- 176. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.12.009>

Brack, W., Ait-Aissa, S., Burgess, R. M., Busch, W., Creusot, N., Di Paolo, C., ...& Krauss, M. (2016). Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments - An in-depth overview. *Science of the Total Environment*, 544, 1073- 1118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.102>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1- 2), 248- 254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Breu, F., Guggenbichler, S., & Wollmann, J. (2008). Handbook of The Toxicology of Metal. Academic Press Vasa, 599. Consulté à l'adresse <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>

Bruslé, J., & Quignard, J. P. (2013). *Biologie des Poissons d ' Eau douce européens*. Lavoisier..(Tec & Doc, Vol. 22dition).

Burgeot, T., & Bessinetton, C. (1999). *Des organismes sous stress* (Vol. 14). Editions Quae.

Burke, M. D., & Mayer, R. T. (1974). Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metabolism and Disposition*, 2(6), 583-588.

Burkina, V., Zamaratskaia, G., Oliveira, R., Fedorova, G., Grabicova, K., Schmidt-Posthaus, H., ... Zlabek, V. (2016). The sub-lethal toxic effects and bioconcentration of the human pharmaceutical atenolol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Chemosphere*, 159, 10- 22. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.05.020>

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

Canlı, M., Ay, O. , & Kalay, M. (1998). Levels of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan river, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22(2), 149- 157.

Cao, X., Song, Y., Kai, J., Yang, X., & Ji, P. (2012). Evaluation of EROD and CYP3A4 activities in earthworm *Eisenia fetida* as biomarkers for soil heavy metal contamination. *Journal of Hazardous Materials*, 243, 146- 151. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.012>

Cappello, T., Brandão, F., Guilherme, S., Santos, M. A., Maisano, M., Mauceri, A., ... & Pereira, P. (2016). Insights into the mechanisms underlying mercury-induced oxidative stress in gills of wild fish (*Liza aurata*) combining 1H NMR metabolomics and conventional biochemical assays. *Science of the Total Environment*, 548- 549, 13- 24. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.008>

Casado, S., Alonso, M., Herradón, B., Tarazona, J. V., & Navas, J. M. (2006). Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor By Carbaryl: Computational Evidence of the Ability of Carbaryl To Assume a Planar Conformation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(12), 3141. <https://doi.org/10.1897/06-131R.1>

Chambers, F. L. (1987). *A textbook of modern toxicology. Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 8) WILEY & SONS. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(87\)90110-6](https://doi.org/10.1016/0165-6147(87)90110-6)

Chanda, S. M., Mortensen, S. R., Moser, V. C., & Padilla, S. (1997). Tissue-specific effects of chlorpyrifos on carboxylesterase and cholinesterase activity in adult rats: an in vitro and in vivo comparison. *Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology*, 38(2), 148- 157. <https://doi.org/10.1006/faat.1997.2329>

Chapman, P. M., Wang, F., & Caeiro, S. S. (2013). Assessing and managing sediment contamination in transitional waters. *Environment International*, 55, 71- 91. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.02.009>

Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Huang, D., & Zhang, J. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 33(6), 745- 755. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.05.003>

Chen, W. J., & Mayden, R. L. (2009). Molecular systematics of the Cyprinoidea (Teleostei: Cypriniformes), the world's largest clade of freshwater fishes: Further evidence from six nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(2), 544- 549.

<https://doi.org/10.1016/j.ympcv.2009.01.006>

Cherghou, S., Khodari, M., M Brnabid, & Badri, A. (2002). Contribution à l'étude de régime alimentaire du barbeau (*Barbus barbus callensis* Valenciennes, 1842) d'un cours d'eau du Moyen-Atlas(Maroc): Oued Boufekrane. *Revue des sciences de l'eau*, 15, 153- 163.

Cherghou, S., Khodari, M., Yaâkoubi, F., & Badri, M. B. A. (2012). Contribution à l'étude du régime alimentaire du barbeau (*Barbus barbus callensis* Valenciennes , 1842) d'un cours d'eau du Moyen-Atlas (Maroc) : Oued Boufekrane Contribution to study a barbel { *Barbus barbus callensis* Valenciennes , 1842) diet i, 15, 153- 163.

Cherif, E., Olivier, P., Wifek, H., & Mohamed Nejib, Y. D. (2015). Effects of Cadmium Exposure on Reproduction and Survival of the Planktonic Copepod *Centropages ponticus*. *Marine Science Research & Development*, 5(2), 2- 5. <https://doi.org/10.4172/2155-9910.1000159>

Chiang, G., Munkittrick, K. R., Urrutia, R., Concha, C., Rivas, M., Diaz-Jaramillo, M., & Barra, R. (2012). Liver ethoxyresorufin-O-deethylase and brain acetylcholinesterase in two freshwater fish species of South America; the effects of seasonal variability on study design for biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 147- 155. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.008>

China National Standards Management Department. (2001). Safety Qualification for Agricultural Product for Non-environmental Pollution Aquatic Products. GB 18406.4e2001. Beijing, China

Chouachi, B., & BenHassine, O. . (1998). Le barbeau *Barbus callensis* Valenciennes, 1842(poisson, Teleosteen) de la lagune de l'ichkeul. *Arch. Inst. Pasteur.*, 75(211- 218).

Chuiko, G. M., Zhelnin, Y., & PoD'Gornaya, V. A. (1997). Seasonal fluctuations in brain acetylcholinesterase activity and soluble protein content in roach (*Rutilus rutilus* L.): A freshwater fish from Northwest Russia. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 117(3), 251- 257. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(97\)00068-6](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(97)00068-6)

Claiborne, A. (1985). In: Greenwald R.A. (EDIT). Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. CRC Press, 283-284.

Colin, N., Porte, C., Fernandes, D., Barata, C., Padrós, F., Carrassón, M., ... Maceda-Veiga, A. (2015). Ecological relevance of biomarkers in monitoring studies of macro-invertebrates and fish in Mediterranean rivers. *Science of the Total Environment*, 540, 307- 323. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.099>

Copat, C., Brundo, M. V., Arena, G., Grasso, A., Oliveri Conti, G., Ledda, C., ...& Ferrante, M. (2012). Seasonal variation of bioaccumulation in *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) and related biomarkers of exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 31- 37. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.006>

Cortes-Diaz, M. J. A., Rodríguez-Flores, J., Castañeda-Peñalvo, G., Galar-Martínez, M., Islas-Flores, H., Dublán-García, O., & Gómez-Oliván, L. M. (2017). Sublethal effects induced by captopril on *Cyprinus carpio* as determined by oxidative stress biomarkers. *Science of The Total Environment*, 605- 606, 811- 823. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.208>

Cossio, M. L. T., Giesen, L. F., Araya, G., Pérez-Cotapos, M. L. S., Vergara, R. L., Manca, M., ... & Héritier, F. (2002). *Environmental Sampling and Analysis of metals. CRC Press LLC* Uma ética para quantos? (Vol. XXXIII). <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 27- 42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>

Creusot, N., Brion, F., Piccini, B., Budzinski, H., Porcher, J. M., & Aït-Aïssa. S. (2015). BFCOD activity in fish cell lines and zebrafish embryos and its modulation by chemical ligands of human aryl hydrocarbon and nuclear receptors. *Environmental science and pollution research international*, 22(21), 16393- 16404. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3882-8>

Crivelli, A. (2004). *Barbus callensis*, 8235, 1995. The IUCN Red List of Threatened Species™

Cunha, C., Mesquita, N., Dowling, T., Gilles, A., & Coelho, M. M. (2002). Phylogenetic relationships of Eurasian and American cyprinids using cytochrome b sequences. *Journal of Fish Biology*, 61(4), 929- 944. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2105>

Curi-Pedrosa, R., Daujat, M., Pichard, L., Ourlin, J. C., Clair, P., Gervot, L., ... & Fourtanier, G. (1994). Omeprazole and lansoprazole are mixed inducers of CYP1A and CYP3A in human hepatocytes in primary culture. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 269(1), 384-392

Curtis, V. (2014). *Water and Health. The Lancet* (Vol. 362). Springer. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)15041-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15041-6)

Da Rocha, A. M., Salomão de Freitas, D. P., Burns, M., Vieira, J. P., de la Torre, F. R., & Monserrat, J. M. (2009). Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 150(4), 512- 520. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.07.012>

Dai, W., Liu, S., Fu, L., Du, H., & Xu, Z. (2012). Lead (Pb) accumulation, oxidative stress and DNA damage induced by dietary Pb in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 43(2), 208- 214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02817.x>

Dajet, J. (1994). Systématique et Biogéographie. In C. Lévêque, M. N. Bruton, & G. W. Ssentongo (Éd.), *Biologie et écologie des poissons d'eau douce Africains* (ORSTEM, p. 490).

Dana B. Barr, Richard Y. Wang, and L. L. N., & Learning. (2007). Biologic monitoring of exposure to environmental chemicals throughout the life stages: requirements and issues for consideration for the National Children's Study. *Environmental health perspectives*, John Wiley, 345- 381..

Darko, G., Akoto, O., & Oppong, C. (2008). Persistent organochlorine pesticide residues in fish, sediments and water from Lake Bosomtwi, Ghana. *Chemosphere*, 72(1), 21- 24. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.02.052>

- Das, S., & Mukherjee, D. (2013). Effect of cadmium chloride on secretion of 17 β -estradiol by the ovarian follicles of common carp, *Cyprinus carpio*. *General and Comparative Endocrinology*, 181(1), 107- 114. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.10.010>
- Dautremepuits, C., Marcogliese, D. J., Gendron, A. D., & Fournier, M. (2009). Gill and head kidney antioxidant processes and innate immune system responses of yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to different contaminants in the St. Lawrence River, Canada. *Science of the Total Environment*, 407(3), 1055- 1064. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.004>
- David, A. Wricht, & Welbourn, P. (2002). Environmental Toxicology. In P. G. C. Campbell, R. M. Harrison, & S. J. de Mora (Éd.), *Environmental Toxicology* (Cambridge).
- David, M., Munaswamy, V., Halappa, R., & Marigoudar, S. R. (2008). Impact of sodium cyanide on catalase activity in the freshwater exotic carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92(1), 15- 18. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.03.013>
- Davutluoglu, O. I., Seckin, G., Kalat, D. G., Yilmaz, T., & Ersu, C. B. (2010). Speciation and implications of heavy metal content in surface sediments of Akyatan Lagoon-Turkey. *Desalination*, 260(1- 3), 199- 210. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.04.031>
- De la Casa-Resino, I., Hernandez-Moreno, D., López-Beceiro, A., Rigueira, L., Míguez, M. P., Pérez-López, M., & Fidalgo, L. E. (2014). The effect of gender on biomarkers of environmental contamination of Roe deer (*Capreolus capreolus*). *Wildlife Biology in Practice*, 10(2), 51- 61. <https://doi.org/10.2461/wbp.2014.10.7>
- De la Torre, F. R., Ferrari, L., & Salibián, A. (2002). Freshwater pollution biomarker: Response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 131(3), 271- 280. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00014-5](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00014-5)
- de la Torre, F. R., Salibián, A., & Ferrari, L. (2007). Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a freshwater fish. *Chemosphere*, 68(8), 1582- 1590. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.033>
- De Lima, D., Roque, G. M., & De Almeida, E. A. (2013). In vitro and in vivo inhibition of acetylcholinesterase and carboxylesterase by metals in zebrafish (*Danio rerio*). *Marine Environmental Research*, 91, 45- 51. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.11.005>
- De Oliveira, L. F., Santos, C., & dos Reis Martinez, C. B. (2016). Biomarkers in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* confined downstream a domestic landfill leachate discharge. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(14), 13931- 13942. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6567-7>
- Della Torre, C., Corsi, I., Nardi, F., Perra, G., Tomasino, M. P., & Focardi, S. (2010). Transcriptional and post-transcriptional response of drug-metabolizing enzymes to PAHs contamination in red mullet (*Mullus barbatus*, Linnaeus, 1758): A field study. *Marine Environmental Research*, 70(1), 95- 101. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.03.009>
- Dellali, M., Romeo, M., & Aissa, P. (2001). Suivi annuel de l'activité de catalase chez des moules

et des palourdes originaires de la lagune de Bizerte. *Oceanologica Acta*, 24(3), 263- 271. [https://doi.org/10.1016/S0399-1784\(01\)01145-8](https://doi.org/10.1016/S0399-1784(01)01145-8)

Demirak, A., Yilmaz, F., Levent Tuna, A., & Ozdemir, N. (2006). Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere*, 63(9), 1451- 1458. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.09.033>

Deribe, E., Rosseland, B. O., Borgstrøm, R., Salbu, B., Gebremariam, Z., Dadebo, E., ... & Eklo, O. M. (2011). Bioaccumulation of persistent organic pollutants (POPs) in fish species from Lake Koka, Ethiopia: The influence of lipid content and trophic position. *Science of the Total Environment*, 410- 411, 136- 145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.09.008>

Dhanakumar, S., Solaraj, G., & Mohanraj, R. (2015). Heavy metal partitioning in sediments and bioaccumulation in commercial fish species of three major reservoirs of river Cauvery delta region, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 145- 151. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.11.032>

DiGiulio, R. T., & Meyer, J. N. (2008). Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in. Di Giulio, R. T., & Hinton, D. E. (Eds.). (2008). *The toxicology of fishes*. Crc Press, 274- 308. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(91\)90171-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(91)90171-3)

Dima, J. B., Sequeiros, C., & Zaritzky, N. E. (2015). Hexavalent chromium removal in contaminated water using reticulated chitosan micro/nanoparticles from seafood processing wastes. *Chemosphere*, 141, 100- 111. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.030>

Directive 98/83/CE du conseil du 3 novembre 1998., relative à la qualité des eaux destiné est à la consommation humaine, Publication des communautés Européennes, Luxembourg. 1998.

Dixit, R., Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U. B., Sahu, A., Shukla, R., ... Paul, D. (2015). Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment: An Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes, 2189- 2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>

Doherty, V., Ogunkuade, O., & Kanife, U. (2010). Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in some selected fishes in Lagos, Nigeria. *American-Eurasian Journal of agricultural and environmental science*, 7(3), 359- 365. Consulté à l'adresse [http://www.idosi.org/aejaes/jaes7\(3\)/18.pdf](http://www.idosi.org/aejaes/jaes7(3)/18.pdf)

Domingo., M. N. ; J. L. D. (2013). Sources of Human Exposure. In Carpenter, D. O. (2013). Carpenter, D. O. (2013). *Effects of persistent and bioactive organic pollutants on human health*. John Wiley & Sons, 8- 26.

Doong, R. an, Lee, S. hui, Lee, C. chee, Sun, Y. chang, & Wu, S. (2008). Characterization and composition of heavy metals and persistent organic pollutants in water and estuarine sediments from Gao-ping River, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin*, 57(6- 12), 846- 857. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.12.015>

Dragun, Z., Krasnići, N., Strižak, Ž., & Raspor, B. (2012). Lead concentration increase in the hepatic and gill soluble fractions of European chub (*Squalius cephalus*)-an indicator of increased Pb

exposure from the river water. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(6), 2088- 2095. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0706-y>

Dural, M., Göksu, M. Z. L., & Özak, A. A. (2007). Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry*, 102(1), 415- 421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.001>

EC no 629/2008. Parlamento Europeo. (2008). EC no 629/2008. *Official journal of the European Union*, 3.7.2008(L 173), 2006- 2009.

EC. (2014). Commission Regulation (EU) No 488/2014 of amending Regulation (EC). No. 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs. Off. J. Eur. Union Available from URL. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0488&from=EN>.

Eddy, F. B., & Handy, R. D. (2012). *Ecological and environmental physiology of fishes*. OUP Oxford.

Eduljee., G. H. (2001). Budget and source inventories: Issues and Challenges. In S. Harrad (Harrad, S. (Ed.). (2001). *Persistent organic pollutants: Environmental behaviour and pathways of human exposure*. Springer Science & Business Media.. 1- 29.

Eid, A., & Zawia, N. (2016). Consequences of lead exposure, and it's emerging role as an epigenetic modifier in the aging brain. *NeuroToxicology*, 56(April), 254- 261. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.04.006>

Elia, A. C., Anastasi, V., & Dörr, A. J. M. (2006). Hepatic antioxidant enzymes and total glutathione of *Cyprinus carpio* exposed to three disinfectants, chlorine dioxide, sodium hypochlorite and peracetic acid, for superficial water potabilization. *Chemosphere*, 64(10), 1633- 1641. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.01.035>

Elkady, A. A., Sweet, S. T., Wade, T. L., & Klein, A. G. (2015). Distribution and assessment of heavy metals in the aquatic environment of Lake Manzala, Egypt. *Ecological Indicators*, 58, 445- 457. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.05.029>

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88- 95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)

Elnabris, K. J., Muzyed, S. K., & El-Ashgar, N. M. (2013). Heavy metal concentrations in some commercially important fishes and their contribution to heavy metals exposure in palestinian people of Gaza Strip (Palestine). *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 13(1), 44- 51. <https://doi.org/10.1016/j.jaubas.2012.06.001>

Emons, H. (2002). Artefacts and facts about metal(loid)s and their species from analytical procedures in environmental biomonitoring. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 21(6- 7), 401- 411. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00606-4](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00606-4)

Enis Yonar, M., Yonar, S. M., Ural, M. şener, Silici, S., & Düşükcan, M. (2012). Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the

oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*. *Food and Chemical Toxicology*, 50(8), 2703- 2708. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.032>

EPA (Environmental Protection Agency), 2002. Risk assessment: technical background information. RBG Table, Available from <http://www.epa.gov/reg3hwmd/risk> (online update 29.01.136)

Eriyamremu, G. E., Osagie, V. E., Omoregie, S. E., & Omofoma, C. O. (2008). Alterations in glutathione reductase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation of tadpoles (*Xenopus laevis*) exposed to Bonny Light crude oil and its fractions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1), 284- 290. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.08.009>

Escartín, E., & Porte, C. (1997). The use of Cholinesterase and Carboxylesterase Activities From *Mytilus Galloprovincialis* in Pollution Monitoring. *Environmental Toxicology*, 16(10), 2090- 2095. <https://doi.org/10.1897/1551->

Espín, S., Martínez-López, E., Jiménez, P., María-Mojica, P., & García-Fernández, A. J. (2016). Interspecific differences in the antioxidant capacity of two Laridae species exposed to metals. *Environmental Research*, 147, 115- 124. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.01.029>

Espín, S., Martínez-López, E., León-Ortega, M., Martínez, J. E., & García-Fernández, A. J. (2014). Oxidative stress biomarkers in Eurasian eagle owls (*Bubo bubo*) in three different scenarios of heavy metal exposure. *Environmental Research*, 131, 134- 144. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.015>

Estellano, V. H., Pozo, K., Příbylová, P., Klánová, J., Audy, O., & Focardi, S. (2017). Assessment of seasonal variations in persistent organic pollutants across the region of Tuscany using passive air samplers. *Environmental Pollution*, 1- 8. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.092>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) .(2017).Cultured Aquatic Species Information Programme *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) Fisheries and Aquaculture Department disponible en ligne le 15/08/2017 sur http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Cyprinus_carpio/en

FAO/WHO, (1989). Evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series 776

FAO. (1983). Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery product. *Library*, 746, 104.

Farkas, A., Salánki, J., & Specziár, A. (2003). Age- and size-specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama L.* populating a low-contaminated site. *Water Research*, 37(5), 959- 964. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00447-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00447-5)

Farombi, E. O., Adelowo, O. A., & Ajimoko, Y. R. (2007). Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 4(2), 158- 165. <https://doi.org/10.3390/ijerph2007040011>

Farrell, A. P., Wood, C. M., & Brauner, C. J. (2012). Homeostasis and toxicology of non-essential metals.

Fatima, M., Usmani, N., Firdaus, F., Zafeer, M. F., Ahmad, S., Akhtar, K., ... & Mobarak Hossain, M. (2015). In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 176- 177, 17- 30. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.07.004>

Faverney, C. R. D., Lafaurie, M., Girard, J. P., & Rahmani, R. (2000). Effects of heavy metals and 3- methylcholanthrene on expression and induction of CYP1A1 and metallothionein levels in trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocyte cultures. *Environmental toxicology and chemistry*, 19(9), 2239- 2248.

Feng, L., Li, W., Liu, Y., Jiang, W.-D., Kuang, S.-Y., Wu, P., ... & Zhou, X.-Q. (2017). Protective role of phenylalanine on the ROS-induced oxidative damage, apoptosis and tight junction damage via Nrf2, TOR and NF- κ B signalling molecules in the gill of fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 60, 185- 196. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.048>

Fernandes, D., Dimastrogiovanni, G., Blázquez, M., & Porte, C. (2013). Metabolism of the polycyclic musk galaxolide and its interference with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Environmental Pollution*, 174, 214- 221. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.033>

Fernández-Cruz, M. L., Valdehita, A., Alonso, M., Mann, E., Herradón, B., & Navas, J. M. (2011). Biological and chemical studies on aryl hydrocarbon receptor induction by the p53 inhibitor pifithrin- α and its condensation product pifithrin- β . *Life Sciences*, 88(17- 18), 774- 783. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.02.019>

Ferreira, M., Caetano, M., Costa, J., Pousão-Ferreira, P., Vale, C., & Reis-Henriques, M. A. (2008). Metal accumulation and oxidative stress responses in, cultured and wild, white seabream from Northwest Atlantic. *Science of the Total Environment*, 407(1), 638- 646. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.058>

Ferreira, M., Moradas-Ferreira, P., & Reis-Henriques, M. A. (2005). Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary, Portugal. *Aquatic Toxicology*, 71(1), 39- 48. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.10.009>

Figueiredo-Fernandes, A., Fontainhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Rocha, E., & Reis-Henriques, M. A. (2006). Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85(2), 97- 103. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.11.001>

Flajshans, M., & Hulata, G. (2006). Common carp - *Cyprinus carpio*. *Genimpact*, (4), 32- 39.

Flammarion, P., Migeon, B., & Garric, J. (1998). Statistical analysis of cyprinid ethoxyresorufin-O-deethylase data in a large French watershed. *Ecotoxicology and environmental safety*, 40(1- 2), 144- 153. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1655>

Fleury, C., Mignotte, B., & Vayssière, J.-L. (2002). Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie*, 84(2), 131- 141. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01369-X](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01369-X)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), (1983). Manual of methods in aquatic environment research, part 9, analysis of métaux and organochlorine in fish. FAO-Technical paper (212), FAO Rome section 2, pp.14-20.

Forget, J., Beliaeff, B., & Bocquené, G. (2003). Acetylcholinesterase activity in copepods (*Tigriopus brevicornis*) from the Vilaine River estuary, France, as a biomarker of neurotoxic contaminants. *Aquatic Toxicology*, 62(3), 195- 204. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00084-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00084-X)

Förstner, U., & Wittmann, G. T. W. (1981). *Metal Pollution in the Aquatic Environment* (Springer-V). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-69385-4> e-ISBN-13:

Fowler, B. A., & A. (2012). Biomarkers in Toxicology and Risk Assessment. In P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, & D. J. Sutton (Éd.), *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology* (German Fed, Vol. Volume 3:, p. 459- 470). Springer Science & Business Media Berlin Germany. <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4>

Frank M., Butterworth, Villalobos-Pietrini, R., & Gonsebatt, M. E. (2001). Introduction in. Butterworth, F. M., Gunatilaka, A., & Gonsebatt, M. E. (Eds.). (2012). *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2: a handbook* (Vol. 56). Springer Science & Business Media. In F. M. Butterworth, A. Gunatilaka, & M. E. Gonsebatt (Éd.), *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2: a handbook* (Springer (S, p. 1- 9). New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1305-6>

Franklin, M. R., & Yos., G. S. (2000). Biotransformation: A Balance between Bioactivation and Detoxification. In P. L. Williams, R. C. James, & S. M. Roberts (Éd.), *Principles of toxicology : environmental and industrial applications* (by John Willy (, p. 57- 87). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370469-6.00001-5>

Frasco, M. F., & Guilhermino, L. (2002). Effects of dimethoate and beta-naphthoflavone on selected biomarkers of *Poecilia reticulata*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26(2), 149- 156. <https://doi.org/10.1023/A:1025457831923>

Frasco, M. F., Fournier, D., Carvalho, F., & Guilhermino, L. (2005). Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers*, 10(5), 360- 375. <https://doi.org/10.1080/13547500500264660>

Fredrich, F., Ohmann, S., Curio, B., & Kirschbaum, F. (2003). Spawning migrations of the chub in the River Spree, Germany. *Journal of Fish Biology*, 63(3), 710- 723. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00184.x>

Frontmatter, S. E., & Manahan, S. (2000). Manahan, Stanley E. « Frontmatter ». *Environmental Chemistry*, 8th ed, 743.

- Gagné, F. (2014). *Biochemical Ecotoxicology: Principals and Methods*. Elsevier .
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Gao, Q., Li, Y., Cheng, Q., Yu, M., Hu, B., Wang, Z., & Yu, Z. (2016). Analysis and assessment of the nutrients, biochemical indexes and heavy metals in the Three Gorges Reservoir, China, from 2008 to 2013. *Water Research*, 92, 262- 274. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.055>
- García-Berthou, E. (2001). Size- and depth-dependent variation in habitat and diet of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Sciences*, 63(4), 466- 476. <https://doi.org/10.1007/s00027-001-8045-6>
- Gardner, C. (2013). *The behaviour and ecology of adult common bream Abramis brama (L.) in a heavily modified lowland river* (Doctoral dissertation, University of LIncoln).
- Garg, S., Gupta, R. K., & Jain, K. L. (2009). Sublethal effects of heavy metals on biochemical composition and their recovery in Indian major carps. *Journal of Hazardous Materials*, 163(2- 3), 1369- 1384. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.07.118>
- Garner, P. (2010, May). Habitat use by 0+ cyprinid fish in the River Great Ouse, East Anglia. In *Freshwater Forum* (Vol. 8, No. 1).
- Garrigues, P., Barth, H., Walker, C. H., & Narbonne, J. F. (2001). *Biomarkers in marine organisms: a practical approach*. Elsevier. Garrigues, P. O. (2001). Biomarkers in Marine Organisms: A pratical Approach, 550.
- Gavrić, J., Anđelković, M., Tomović, L., Prokić, M., Despotović, S., Gavrilović, B., ... & Saičić, Z. (2017). Oxidative stress biomarkers, cholinesterase activity and biotransformation enzymes in the liver of dice snake (*Natrix tessellata Laurenti*) during pre-hibernation and post-hibernation: A possible correlation with heavy metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 138(September 2016), 154- 162. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.12.036>
- Genin, B., Chauvin, C., & Ménard, F. (2003). *Cours d'eau et indices biologiques: pollution, méthodes, IBGN*. Educagri éditions.
- Gérard, M. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *Rapport d'information n° 261 fait pour le Sénat au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifique et technologique*.
- Gerhardt, A. (2002). Bioindicator species and their use in biomonitoring. *Environmental monitoring*, 1, 77-123
- Giarratano, E., Gil, M. N., & Malanga, G. (2014). Biomarkers of environmental stress in gills of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* (Nuevo Gulf, Northern Patagonia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 111- 119. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.003>
- Giles, N., Street, M., & Wright, R. M. (1990). Diet composition and prey preference of tench, *Tinca tinca* (L.), common bream, *Abramis brama* (L.), perch, *Perca fluviatilis* L. and roach, *Rutilus rutilus* (L.), in two contrasting gravel pit lakes: potential trophic overlap with wildfowl. *Journal of*

Fish Biology, 37(6), 945- 957. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb03598.x>

Ginebreda, A., & Prat, N. (2016). Experiences from Surface Water Quality Monitoring

Goksøyr, A., & Förlin, L. (1992). The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquatic Toxicology*, 22(4), 287- 311. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(92\)90046-P](https://doi.org/10.1016/0166-445X(92)90046-P)

Golombieski, J. I., Marchesan, E., Camargo, E. R., Salbego, J., Baumart, J. S., Loro, V. L., ...& Baldisserotto, B. (2008). Acetylcholinesterase enzyme activity in carp brain and muscle after acute exposure to diafuran. *Scientia Agricola*, 65(4), 340- 345. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000400003>

González-Mira, Var, I., Solé, M., & Torreblanca, A. (2016). Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature-dependent manner. *Environmental Science and Pollution Research*, 1- 15. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7293-x>

Gotoh, S., Ohno, M., Yoshinari, K., Negishi, M., & Kawajiri, K. (2015). Nuclear receptor-mediated regulation of cytochrome P450 genes. In *Cytochrome P450* (pp. 787-812). Springer International Publishing. Nuclear Receptor-Mediated Regulation of Cytochrome P450 Genes. In A. R. O. de Montellano (Éd.), *Cytochrome P450*, (pringer In). Switzerland 2015. https://doi.org/DOI 10.1007/978-3-319-12108-6_10

Gräns, J. (2015). *Chemical mixtures and interactions with detoxification mechanisms and biomarker responses in fish*.

Guerreno, M., María Fernanda López Armengola, C. M. L., & Venturinoa, A. (2016). Comparative study of toxicity and biochemical responses induced by sublethal levels of the pesticide azinphosmethyl in two fish species from North-Patagonia, Argentina. *Aquatic Toxicology*, 177, 365- 372. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.06.015>

Guimarães, L., Gravato, C., Santos, J., Monteiro, L. S., & Guilhermino, L. (2009). Yellow eel (*Anguilla anguilla*) development in NW portuguese estuaries with different contamination levels. *Ecotoxicology*, 18(4), 385- 402. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0294-x>

Gunderson, M. P., Oberdörster, E., & Guillette, L. J. (2004). Phase I and II liver enzyme activities in juvenile alligators (*Alligator mississippiensis*) collected from three sites in the Kissimmee-Everglades drainage, Florida (USA). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 139(1- 3), 39- 46. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.09.005>

Güngördü, A., & Ozmen, M. (2011). Assessment of seasonal and sex-related variability of biomarkers in carp (*Cyprinus carpio* L.) from Karakaya Dam Lake, Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 31(3), 347- 356. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.12.004>

Güngördü, A., & Ozmen, M. (2012). Water quality evaluation of two interconnected dam lakes with field-captured and laboratory-acclimated fish, *Cyprinus carpio*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(2), 763- 776. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2000-3>

Güngördü, A., Erkmen, B., & Kolankaya, D. (2012). Evaluation of spatial and temporal changes in

biomarker responses in the common carp (*Cyprinus carpio L.*) for biomonitoring the Meriç Delta, Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(3), 431- 439. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.01.003>

Gupta, P. K. (2016). *Fundamentals of Toxicology: Essential Concepts and Applications*. Academic Press.

Habig, W. H., Pabst, J. ., & Jakoby, W. (1974). Glutathione S-transferases. The first step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249(22), 7130- 7140.

Hagemeyer, C. E., Bürck, C., Schwab, R., Knoth, R., & Meyer, R. P. (2010). 7-Benzyloxyresorufin-O-dealkylase activity as a marker for measuring cytochrome P450 CYP3A induction in mouse liver. *Analytical Biochemistry*, 398(1), 104- 111. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.11.004>

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1991). *Free radicals in biology and medicine*: 540 pp. 1989. Price: \$98 US hardcover; \$39.95 US softbound; \$50£ Outside US.

Hampel, M., Blasco, J., & Díaz1, M. L. M. (2016). Biomarkers and Effects M. In *Marine Ecotoxicology: Current Knowledge and Future Issues*. Academic Press. . 121- 165.

Hannachi, A., Gharzouli, R., & Y, D. T. (2014). Gestion et valorisation des eaux uses en algerie, *LARHYSS Journal ISSN 1112-3680*, (19). 51- 62.

Harmon, S. M. (2015). *The Toxicity of Persistent Organic Pollutants to Aquatic Organisms*. *Comprehensive Analytical Chemistry* . Elsevier.,67, 587-613 <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63299-9.00018-1>

Harrad, S. (2009). *Persistent Organic Pollutants*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470684122>

Hasselberg, L., Grøsvik, B. E., Goksøyr, A., & Celander, M. C. (2005). Interactions between xenoestrogens and ketoconazole on hepatic CYP1A and CYP3A, in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative hepatology*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-4-2>

Hasselberg, L., Westerberg, S., Wassmur, B., & Celander, M. C. (2008). Ketoconazole, an antifungal imidazole, increases the sensitivity of rainbow trout to 17 β -ethynylestradiol exposure. *Aquatic Toxicology*, 86(2), 256- 264. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.11.006>

He, X., Nie, X., Yang, Y., Liu, X., Pan, D., Cheng, Z., & Liang, X. (2012). Multi-biomarker responses in fishes from two typical marine aquaculture regions of South China. *Marine Pollution Bulletin*, 64(11), 2317- 2324. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.09.002>

Hegelund, T., & Celander, M. C. (2003). Hepatic versus extrahepatic expression of CYP3A30 and CYP3A56 in adult killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Aquatic Toxicology*, 64(3), 277- 291. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00057-2)

Henczová, M., Deér, A. K., Filla, A., Komlósi, V., & Mink, J. (2008). Effects of Cu²⁺ and Pb²⁺ on different fish species: Liver cytochrome P450-dependent monooxygenase activities and FTIR spectra.

Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology, 148(1), 53- 60.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.03.010>

Hernandez, M. D., Egea, M. A., Rueda, F. M., Martinez, F. J., & Garcia Garcia, B. (2003). Seasonal condition and body composition changes in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) raised in captivity. *Aquaculture*, 220(1- 4), 569- 580. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00638-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00638-5)

Hernández-Moreno, D., Soler-Rodríguez, F., Míguez-Santiyán, M. P., & Pérez-López, M. (2008). Hepatic monooxygenase (CYP1A and CYP3A) and UDPGT enzymatic activities as biomarkers for long-term carbofuran exposure in tench (*Tinca tinca* L). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 43(5), 395- 404. <https://doi.org/10.1080/03601230802062117>

Hernández-Ruiz, E., Alvarado-Flores, J., Rubio-Franchini, I., Ventura-Juárez, J., & Rico-Martínez, R (2016). Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species. *Chemosphere*, 158, 107- 115. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.067>

Heshmati, A., Karami-Momtaz, J., Nili-Ahmadabadi, A., & Ghadimi, S. (2017). Dietary exposure to toxic and essential trace elements by consumption of wild and farmed carp (*Cyprinus carpio*) and Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) in Iran. *Chemosphere*, 173, 207- 215. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.009>

Hinrichsen, D., & Tacio, H. (2002). The coming freshwater crisis is already here. *The linkages between population and water*. Washington, DC: Woodrow Wilson International Center for Scholars, 1-26. The Coming Freshwater Crisis is Already Here. *Wilson Center*, 1- 26.

Hinton, D.E., Segner, H., Braunbeck, T., (2001). Toxic responses of the liver. In: Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds.), *Target Organ Toxicity of Marine and Freshwater Teleosts*. Taylor & Francis, London, New York, pp. 224–268. <http://dx.doi.org/10.1007/978-4431-85709-9>.

HLPE. (2015). L'eau, enjeu pour la sécurité alimentaire mondiale, 151. Consulté à l'adresse http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/hlpe/hlpe_documents/HLPE_Reports/HLPE-Report-9_FR.pdf

Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P., & Wellby, I. (Eds.). (2008). *Diseases of carp and other cyprinid fishes*. John Wiley & Sons. D. Hoole, Bucke, P. Burgess, I. W. (2001). *Disease of carp and other cyprinid fishes* (Fishing News).

Hou, D., He, J., Lü, C., Ren, L., Fan, Q., Wang, J., & Xie, Z. (2013). Distribution characteristics and potential ecological risk assessment of heavy metals (Cu, Pb, Zn, Cd) in water and sediments from Lake Dalinouer, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93(April), 135- 144. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.03.012>

Huang, D. J., Zhang, Y. M., Song, G., Long, J., Liu, J. H., & Ji, W. H. (2007). Contaminants-induced oxidative damage on the carp *Cyprinus carpio* collected from the Upper Yellow River, China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 128(1- 3), 483- 488. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9341-3>

Hugla, J. L., & Thomé, J. P. (1999). Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure,

hepatic monooxygenases, and reproductive success in the barbel. *Ecotoxicology and environmental safety*, 42(3), 265- 73. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1761>

Husak, V. V., Mosiichuk, N. M., Maksymiv, I. V., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2016). Oxidative stress responses in gills of goldfish, *Carassius auratus*, exposed to the metribuzin-containing herbicide Sencor. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 163- 169. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.05.028>

Jabeen, F., & Chaudhry, A. S. (2010). Monitoring trace metals in different tissues of *Cyprinus carpio* from the Indus River in Pakistan. *Environmental Monitoring and Assessment*, 170(1- 4), 645- 656. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1263-4>

Janssen, P. A. H., Lambert, J. G. D., & Goos, H. J. T. (1995). The annual ovarian cycle and the influence of pollution on vitellogenesis in the flounder, *Pleuronectes flesus*. *Journal of Fish Biology*, 47(3), 509- 523. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1995.tb01918.x>

Javed, M., Ahmad, I., Usmani, N., & Ahmad, M. (2016a). Ecotoxicology and Environmental Safety Bioaccumulation , oxidative stress and genotoxicity in fi sh (*Channa punctatus*) exposed to a thermal power plant ef fl uent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 127, 163- 169. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.007>

Javed, M., Ahmad, I., Usmani, N., & Ahmad, M. (2016b). Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.080>

Jean-Claude, Amiard; Amiard-Triquet, C. (2015). Quality Standard Setting and Environmental Monitoring. *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks*, 51- 71. . <https://doi.org/10.1007/BF02538101>

Jedamski-Grymlas, J., Kammann, U., Tempelmann, A., Karbe, L., & Siebers, D. (1995). Biochemical responses and environmental contaminants in breams (*Abramis brama L.*) caught in the river Elbe. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. <https://doi.org/10.1006/eesa.1995.1042>

Jeziarska, B., & Witeska, M. (2005). The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In *Soil and water pollution monitoring, protection and remediation* (pp. 107-114). Springer, Dordrecht. In I. Twardowska, H. E. Allen, M. M. Häggblom, & S. Stefaniak (Éd.), *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation* (Springer, p. 107- 114).

Jin, M. H., Hong, C. H., Lee, H. Y., Kang, H. J., & Han, S. W. (2008). Enhanced TGF- β 1 is involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced oxidative stress in C57BL/6 mouse testis. *Toxicology Letters*, 178(3), 202- 209. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.03.015>

Johnson, L. L., Anulacion, B. F., Arkoosh, M. R., Burrows, D. G., da Silva, D. A. M., Dietrich, J. P., ...& Ylitalo, G. M. (2013). Effects of legacy persistent organic pollutants (POPs) in fish—current and future challenges. *Fish Physiology*, 33, 53-140. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398254-4.00002-9>

Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease.

Toxicology, 283(2- 3), 65- 87. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>

Jönsson, M. E., Brunström, B., & Brandt, I. (2009). The zebrafish gill model: Induction of CYP1A, EROD and PAH adduct formation. *Aquatic Toxicology*, 91(1), 62- 70. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.10.010>

Jönsson, M., Abrahamson, A., Brunström, B., Brandt, I., Ingebrigtsen, K., & Jørgensen, E. H. (2003). EROD activity in gill filaments of anadromous and marine fish as a biomarker of dioxin-like pollutants. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 136(3), 235- 243. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2003.09.005>

Jørgensen, E. H., Foshaug, H., Andersson, P., Burkow, I. C., & Jobling, M. (2002). Polychlorinated biphenyl toxicokinetics and P4501A responses in anadromous Arctic charr during winter emaciation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(8), 1745- 1752. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210829>

Jos, A., Segner, H., Herradon, B., Repetto, G., & Navas, J. M. (2007). Induction of EROD activity by 1-phenylimidazole and β -naphthoflavone in rainbow trout cultured hepatocytes: A comparative study. *Toxicology in vitro*, 21(7), 1307-1310.

Josefsson, S. (2011). *Fate and transport of POPs in the aquatic environment: with focus on contaminated sediments* (Doctoral dissertation, Kemiska institutionen).

Kadi, A. (1997). La gestion de l'eau en Algérie. *Hydrological Sciences Journal*, 42(2), 191- 197. <https://doi.org/10.1080/02626669709492019>

Kadji, H. D., Kadji, B., Benslimane, S., Exbraayat, J.-M., Mokrane, I.-O., Chevalier, & Christine. (2012). Description histologique des différents stades de développement ovocytaire de *Barbus Callensis* Valenciennes, 1842) dans l'oued soumam (Algérie). *Revue française d'histolotechnologie*, 25, 13- 21.

Kalra, J., Mantha, S. V., & Prasad, K. (1994). Oxygen free radicals: key factors in clinical diseases. *Lab Medical International*, 11(1), 16

Kammann, U., Brinkmann, M., Freese, M., Pohlmann, J. D., Stoffels, S., Hollert, H., & Hanel, R. (2014). PAH metabolites, GST and EROD in European eel (*Anguilla anguilla*) as possible indicators for eel habitat quality in German rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(4), 2519- 2530. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2121-z>

Kelderman, P., & Osman, A. A. (2007). Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). *Water research*, 41(18), 4251-4261.

Kennedy, I. R., Ahmad, N., Beasley, H., Chapman, J., Hobbs, J., Simpson, B., & Woods, N. Kennedy, I. R., Ahmad, N., Beasley, H., Chapman, J., Hobbs, J., Simpson, B., ... Chapmanjepsangovau, E. (1998). Quality assurance in pesticide sampling and analysis. *Occasional Paper*, 14, 98 *Quality Assurance in Pesticide Sampling and Analysis. Analysis* (Land and W).

Kerambrun, E., Henry, F., Marechal, A., Sanchez, W., Minier, C., Filipuci, I., & Amara, R. (2012). Ecotoxicology and Environmental Safety A multibiomarker approach in juvenile turbot , *Scophthalmus maximus* , exposed to contaminated sediments. *Ecotoxicology and Environmental*

Safety, 80, 45- 53. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.02.010>

Kim, B. M., Rhee, J. S., Jeong, C. B., Seo, J. S., Park, G. S., Lee, Y. M., & Lee, J. S. (2014). Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (hsp) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 166, 65- 74. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.07.005>

Kim, H. N., Park, K. S., Lee, S. K., & Gu, M. B. (2008). Gene expression characteristics in the Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) liver after exposure to endocrine disrupting chemicals. In *Advanced Environmental Monitoring* (pp. 338-347). Springer Netherlands.

Kim, R. O., Kim, B. M., Hwang, D. S., Au, D. W. T., Jung, J. H., Shim, W. J., ... Lee, J. S. (2013). Evaluation of biomarker potential of cytochrome P450 1A (CYP1A) gene in the marine medaka, *Oryzias melastigma* exposed to water-accommodated fractions (WAFs) of Iranian crude oil. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 157(2), 172- 182. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.11.003>

Koeman, J. H., Köhler-Günther, A., Kurelec, B., Riviere, J. L., Versteeg, D., & Walker, C. H. (1993). Applications and objectives of biomarker research. In *Biomarkers* . Springer, Berlin, Heidelberg. 1-13

Koenig, S., & Solé, M. (2012). Natural variability of hepatic biomarkers in Mediterranean deep-sea organisms. *Marine Environmental Research*, 79, 122- 131. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.06.005>

Koenig, S., Fernández, P., & Solé, M. (2012). Differences in cytochrome P450 enzyme activities between fish and crustacea: Relationship with the bioaccumulation patterns of polychlorobiphenyls (PCBs). *Aquatic Toxicology*, 108(2), 11- 17. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.10.016>

Koenig, S., Guillén, K., & Solé, M. (2013). Comparative xenobiotic metabolism capacities and pesticide sensitivity in adults of *Solea solea* and *Solea senegalensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 157(4), 329- 336. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2013.03.002>

Koltowski, M., Charmas, B., Skubiszewska-Zieba, J., & Oleszczuk, P. (2017). Effect of biochar activation by different methods on toxicity of soil contaminated by industrial activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136, 119- 125. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.033>

Koponen, K., Huuskonen, S., Ritola, O., Venäläinen, R., Tarhanen, J., & Lindström-Seppä, P. (2003). Muscle chemical content and hepatic biotransformation in bream (*Abramis brama*) and asp (*Aspius aspius*) in a PCB-contaminated lake. *Boreal Environment Research*, 8(3), 203- 213.

Kostić, J., Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Aborgiba, M., Gačić, Z., Paunović, M., ... Vuković-Gačić, B. (2017). The impact of multiple stressors on the biomarkers response in gills and liver of freshwater breams during different seasons. *Science of the Total Environment*, 601- 602, 1670- 1681. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.273>

Krumova, K., & Cosa, G. (2016). Overview of Reactive Oxygen Species. Wang, P., Lu, X.,

Schneider, H. J., Jin, J., Shahinpoor, M., Ngai, T., ... & Vollmer, D. *Smart materials for advanced environmental applications*. Royal Society of Chemistry.. 252. <https://doi.org/10.1039/9781782622130-FP007>

Kubrak, O. I., Husak, V. V., Rovenko, B. M., Poigner, H., Kriews, M., Abele, D., & Lushchak, V. I. (2013). Antioxidant system efficiently protects goldfish gills from Ni²⁺-induced oxidative stress. *Chemosphere*, 90(3), 971- 976. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.044>

Kuklina, I., Kouba, A., & Kozák, P. (2013). Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(6), 5043- 5053. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2924-2>

Küster, E. (2005). Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment. *Aquatic Toxicology*, 75(1), 76- 85. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.07.005>

Lackner, R. (1998). « Oxidative stress » in fish by environmental pollutants. In Braunbeck, T., Hinton, D. E., & Streit, B. (Eds.). *Fish ecotoxicology* (Vol. 86). Springer Science & Business

Lagadic, L., Caquet, T., & Amiard, J. C. (1997). Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement. *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 393-401.

Lam, P. K. S., & Wu, R. S. S. (2003). Use of biomarkers in environmental monitoring. *Stap workshop on the use of bioindicators, biomarkers and analytical methods for the analysis of POPs indeveloping countries*. STAP/GEF, (December), 78pp.

Landis, W. (2005). *Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems*. Crc Press.

Lavado, R., Ureña, R., Martin-Skilton, R., Torreblanca, A., Del Ramo, J., Raldúa, D., & Porte, C. (2006). The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *Environmental Pollution*, 139(2), 330- 339. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.003>

Legeay, A., Achard-Joris, M., Baudrimont, M., Massabuau, J. C., & Bourdineaud, J. P. (2005). Impact of cadmium contamination and oxygenation levels on biochemical responses in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*, 74(3), 242- 253. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.05.015>

Leung, H. M., Leung, A. O. W., Wang, H. S., Ma, K. K., Liang, Y., Ho, K. C., ... & Yung, K. K. L. (2014). Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China. *Marine Pollution Bulletin*, 78(1- 2), 235- 245. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.028>

Levine, S. L., & Oris, J. T. (1999). CYP1A expression in liver and gill of rainbow trout following waterborne exposure: implications for biomarker determination. *Aquatic Toxicology*, 46(3), 279-287.

Li, D., Yang, X. Le, Zhang, S. J., Lin, M., Yu, W. J., & Hu, K. (2008). Effects of mammalian CYP3A inducers on CYP3A-related enzyme activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*):

Possible implications for the establishment of a fish CYP3A induction model. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 147(1), 17- 29. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.07.003>

Li, L., Zheng, B., & Liu, L. (2010). Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: Definitions, approaches and trends. *Procedia Environmental Sciences*, 2, 1510- 1524. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2010.10.164>

Li, S., Xu, Z., Cheng, X., & Zhang, Q. (2008). Dissolved trace elements and heavy metals in the Danjiangkou Reservoir, China. *Environmental Geology*, 55(5), 977- 983. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-1047-5>

Li, X., & Qian, P. (2016). Identification of an exposure risk to heavy metals from pharmaceutical-grade rubber stoppers. *Journal of Food and Drug Analysis*, (November), 2- 9. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.07.008>

Li, Y., Wang, Y. Bin, Gou, X., Su, Y. B., & Wang, G. (2006). Risk assessment of heavy metals in soils and vegetables around non-ferrous metals mining and smelting sites, Baiyin, China. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 18(6), 1124- 1134. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(06\)60050-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(06)60050-8)

Li, Z., Lu, G., Yang, X., & Wang, C. (2012). Single and combined effects of selected pharmaceuticals at sublethal concentrations on multiple biomarkers in *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21(2), 353- 361. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0796-9>

Lin, C. H., Chou, P. H., & Chen, P. J. (2014). Two azole fungicides (carcinogenic triadimefon and non-carcinogenic myclobutanil) exhibit different hepatic cytochrome P450 activities in medaka fish. *Journal of Hazardous Materials*, 277, 150- 158. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.083>

Lin, Q., Chen, S., Chao, Y., Huang, X., Wang, S., & Qiu, R. (2017). Carboxylesterase-involved metabolism of di-n-butyl phthalate in pumpkin (*Cucurbita moschata*) seedlings. *Environmental Pollution*, 220, 421- 430. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.084>

Ling , Jin, Caroline, Gaus, Beate, I. E. (2015). Understanding Toxicological Implications of Mixtures of Persistent Organic Pollutants in Marine Wildlife. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 67, p. 58- 79). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63299-9.00006-5>

Lionetto, M. G., Caricato, R., Giordano, M. E., Pascariello, M. F., Marinosci, L., & Schettino, T. (2003). Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Marine Pollution Bulletin*, 46(3), 324- 330. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00403-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00403-4)

Liu, S., Liu, X., Liu, M., Yang, B., Cheng, L., Li, Y., & Qadeer, A. (2016). Levels, sources and risk assessment of PAHs in multi-phases from urbanized river network system in Shanghai. *Environmental Pollution*, 219, 555- 567. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.010>

Losi, M. E., Amrhein, C., & Frankenberger Jr, W. T. (1994). Environmental biochemistry of chromium. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 91-121). Springer New York.

- Louiz, I., Ben Hassine, O. K., Palluel, O., Ben-Attia, M., & Aït-Aïssa. (2016). Spatial and temporal variation of biochemical biomarkers in *Gobius niger* (Gobiidae) from a southern Mediterranean lagoon (Bizerta lagoon, Tunisia): Influence of biotic and abiotic factors. *Marine Pollution Bulletin*, 107(1), 305- 314. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.045>
- Lu, G. H., Wang, C., & Zhu, Z. (2009). The dose-response relationships for EROD and GST induced by polyaromatic hydrocarbons in *carassius auratus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(2), 194- 199. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9622-3>
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1), 13- 30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- Lushchak, V. I., & Bagnyukova, T. V. (2006). Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 143(1), 30- 35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.11.017>
- Lyons, B. P., Thain, J. E., Stentiford, G. D., Hylland, K., Davies, I. M., & Vethaak, A. D. (2010). Using biological effects tools to define Good Environmental Status under the European Union Marine Strategy Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 60(10), 1647- 1651. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.06.005>
- Lyons, M. C., Wong, D. K. H., Mulder, I., Lee, K., & Burrige, L. E. (2011). The influence of water temperature on induced liver EROD activity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to crude oil and oil dispersants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4), 904- 910. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.12.013>
- Maceda-Veiga, A., Monroy, M., Viscor, G., & De Sostoa, A. (2010). Changes in non-specific biomarkers in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) exposed to sewage effluents in a Mediterranean stream (Catalonia, NE Spain). *Aquatic Toxicology*, 100(3), 229- 237. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.07.014>
- Machala, M., Hilscherova, K., Kubinova, R., Urlich, R., Vykusova, B., & Kolarova, J. (2000). Biochemical markers of dioxine –like toxicity and oxidative stress in Hepatic Microsoms of Bream (*Abramis Brama*) and Perch (*Perca Fluviatlis*) in the Elbe river. *Veterinary Medicine - Czech*, 7, 195- 199.
- Mackintosh, T. J., Davis, J. A., & Thompson, R. M. (2016). Tracing metals through urban wetland food webs. *Ecological Engineering*, 94(September), 200- 213. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.057>
- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N., Vinagre, C., & Diniz, M. S. (2013). Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 166(2), 237- 243. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.06.008>
- MAFF.(2000). (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food). Moni- toring and surveillance of non-radioactive contaminants in the aquatic environment and activities regulating the disposal of

wastes at sea, 1997. In Aquatic Environment Monitoring Report No. 52. Center for Environment, Fisheries and Aquaculture Science, Lowestoft, UK.

Mager, E. M. (2011). Lead, *Fish Physiology*

31(11), 185- 236. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(11\)31026-6](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(11)31026-6)

Mahaffey, K. R. (1990). Environmental lead toxicity: Nutrition as a component of intervention. *Environmental Health Perspectives*, 89, 75- 78. <https://doi.org/10.2307/3430900>

Mancosu, N., Snyder, R., Kyriakakis, G., & Spano, D. (2015). Water Scarcity and Future Challenges for Food Production. *Water*, 7(3), 975- 992. <https://doi.org/10.3390/w7030975>

Mann, R. H. . (1991). *Growth and production*.in Winfield, I., & Nelson, J. S. (Eds.). (2012). *Cyprinid fishes: systematics, biology and exploitation* (Vol. 3). Springer Science & Business Media. . <https://doi.org/10.1007/978-94-011-3092-9>

Marigómez, I., Soto, M., Orbea, A., Cancio, I., & P. Cajaraville, M. (2004). Biomonitoring of environmental pollution along the Basque coast, using molecular, cellular and tissue-level biomarkers: an integrative approach. *Elsevier Oceanography Series*, 70(C), 335- 364. [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(04\)80052-7](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(04)80052-7)

Markert, B. A., Breure, A. M., & Zechmeister, H. G. (2003). Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, 6, 3-39.

Martin, J., & Meybeck, M. (1979). Sampling procedures An outline of sampling procedures is given in Table I . Whenever possible , 7, 173- 206.

Martín-Díaz, M. L., Blasco, J., Sales, D., & DelValls, T. A. (2004). Biomarkers as tools to assess sediment quality. Laboratory and field surveys. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 23(10- 11), 807- 818. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.012>

Martín-Díaz, M. L., Gagné, F., & Blaise, C. (2009). The use of biochemical responses to assess ecotoxicological effects of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) after injection in the mussel *Elliptio complanata*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(2), 237- 242. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.04.009>

Martínez-Álvarez, R. M., Morales, A. E., & Sanz, A. (2005). Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1- 2), 75- 88. <https://doi.org/10.1007/s11160-005-7846-4>

Massó, E. L., Corredor, L., & Antonio, M. T. (2007). Oxidative damage in liver after perinatal intoxication with lead and/or cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21(3), 210- 216. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2007.03.002>

Mathieu, C., & Pieltain, F. (1998). *Analyse physique des sols*. Tec & Doc Lavoisier.

Mathieu, C., Pieltain, F., & Jeanroy, E. (2003). *Analyse chimique des sols: Méthodes choisies*. Tec & doc.

- McCarthy, J. F., & Shugart, L. R. (1990). Biomarkers of environmental contamination.
- McGeer, J. C., Niyogi, S., & Scott Smith, D. (2011). Cadmium. *Fish Physiology*, 31(PART B), 125- 184. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(11\)31025-4](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(11)31025-4)
- Mdegela, R., Myburgh, J., Correia, D., Braathen, M., Ejobi, F., Botha, C., ...& Skaare, J. U. (2006). Evaluation of the gill filament-based EROD assay in African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) as a monitoring tool for waterborne PAH-type contaminants. *Ecotoxicology*, 15(1), 51- 59. <https://doi.org/10.1007/s10646-005-0041-5>
- Mebarki, A. (1984). *Ressources en eau et aménagement en Algérie. Le bassin du Kebir Rhumel (Algérie). Doctorat troisième cycle*. Office des Publications Universitaires.
- Mebarki, A. (2005). *Hydrologie des bassins versants de l'est Algérien : Ressources en eau, aménagement et environnement. Thèse de doctorat d'état. Université Mentouri de Constantine. Thèse de doctorat d'état. Université Mentouri- Constantine*.
- Mejdoub, Z., Fahde, A., Lout, M., & Kabine, M. (2017). Ocean & Coastal Management Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary s pollution in coastal areas of Casablanca. *Ocean & Coastal Management journal*, 136, 95- 103. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2016.11.018>
- Melghit, M., Afri-mehennaoui, F. Z., & Sahli, L. (2015). Impact of Wastewaters on the Physico-Chemical Quality of Waters: Case Study of the Rhumel River, Hammam Grouz and Beni Haroun Dams, 4, 625- 630. <https://doi.org/10.17265/2162-5263/2015.12.001>
- Menéndez-Helman, R. J., Ferreyroa, G. V., dos Santos Afonso, M., & Salibián, A. (2015). Circannual rhythms of acetylcholinesterase (AChE) activity in the freshwater fish *Cnesterodon decemmaculatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 236- 241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.017>
- Menezes, S., Soares, A. M. V. M., Guilhermino, L., & Peck, M. R. (2010). Can the activities of acetylcholinesterase and glutathione s-transferases of *crangon crangon* (L.) be used as biomarkers of fuel oil exposure? *Water, Air, and Soil Pollution*, 208(1- 4), 317- 322. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0169-7>
- Messaoudi, I., Barhoumi, S., Saad, K., & Kerken, A. (2009). Study on the sensitivity to cadmium of marine fish *Salaria basilisca* (Pisces: Blennidae). *Journal of Environmental Sciences*, 21(11), 1620- 1624. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62464-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62464-X)
- Mierzejewski, J., Haney, D.C., & van den Hurk, P. (2014). Biomarker responses in sunfish species and largemouth bass from the Saluda River, South Carolina. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 110, 8–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.003>.
- Miller, K. A., Addison, R. F., & Bandiera, S. M. (2004). Hepatic CYP1A levels and EROD activity in English sole: Biomonitoring of marine contaminants in Vancouver Harbour. *Marine Environmental Research*, 57(1- 2), 37- 54. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(03\)00059-X](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(03)00059-X)

Mills, C.A. (1991). Reproduction und life history. In Ian J. Winfield & J. S. Nelson (Éd.), *Cyprinid fishes , biology and exploitation* Springer, Dordrecht. 502- 533). <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

Millstone, E. (1997). *Lead and Public Health*. American Council on Science and Health. *Editorial*, May, 23. *American Council of Science and Health*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51554-4.00032-8>

Mimeche, F., Biche, M., Ruiz-Navarro, A., & Oliva-Paterna, F. (2013). The population structure, age and growth of *Luciobarbus callensis* (Cyprinidae) in a man-made lake in the Maghreb (NE Algeria). *Limnetica*, 32(2), 391- 404.

Miyamoto, S., Ai, H. ofumi A., & Erao, J. unji T. (2010). Enzymatic Antioxidant Defenses. In G. Aldini, K.-J. Yeum, E. Niki, & R. Russell (Éd.), *Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage: Principles and Practical Applications*, 21- 33. <https://doi.org/10.1002/9780813814438>

Mohamed, A. A. A. E. (2011). *Etude du mode d'action neurotoxique d'un répulsif, le Deet utilisé seul et en association avec un insecticide sur l'acetylcholinesterase des dum neurones d'un insecte la blatte periplaneta americana* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).

Mohanty, D., & Samanta, L. (2016). Chemosphere Multivariate analysis of potential biomarkers of oxidative stress in *Notopterus notopterus* tissues from Mahanadi River as a function of concentration of heavy metals. *Chemosphere*, 155, 28- 38. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.035>

Mohiuddin, K. M., Zakir, H. M., Otomo, K., Sharmin, S., & Shikazono, N. (2010). Geochemical distribution of trace metal pollutants in water and sediments of downstream of an urban river. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7(1), 17- 28. <https://doi.org/10.1007/BF03326113>

Monjerezi, C. C. K. and M. (2012). *Water Pollution* (InTech). Croatia Copyright.

Monod, G., Devaux, A., Valotaire, Y., & Cravedi, J.-P. (1998). Primary cell cultures from fish in ecotoxicology. *Fish Ecotoxicology*, 39- 60. Consulté à l'adresse <https://books.google.com/books?id=5MkACAAAQBAJ&pgis=1>

Morsi, A., Mimeche, F., & Biche, M. (2011). Age structure and growth of Algerian barbel *Luciobarbus callensis* (Valenciennes, 1842) (Cyprinidae) in El-Harrach River (North of Algeria). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 4(4), 469- 473.

Mortensen, A. S., & Arukwe, A. (2007). Effects of 17 β -ethynylestradiol on hormonal responses and xenobiotic biotransformation system of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicology*, 85(2), 113- 123. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.08.004>

Mortimer, D. N. (2013). *Persistent organic pollutants in foods : science , policy and regulation*. *Persistent organic pollutants and toxic metals in foods*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857098917.1.3>

- Nadir, M., & Boualem, R. (2016). Study of Beni Haroun dam pollution (Algeria). *Desalination and Water Treatment*, 57(6), 2766-2774. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.982192>
- Nahrgang, J., Brooks, S. J., Evenset, A., Camus, L., Jonsson, M., Smith, T. J., ... Renaud, P. E. (2013). Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*)-Implications for environmental monitoring in the Barents Sea. *Aquatic Toxicology*, 127(9037), 21- 35. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.01.009>
- Nahrgang, J., Camus, L., Broms, F., Christiansen, J. S., & Hop, H. (2010). Seasonal baseline levels of physiological and biochemical parameters in polar cod (*Boreogadus saida*): Implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 60(8), 1336- 1345. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.03.004>
- Naigaga, I., Kaiser, H., Muller, W. J., Ojok, L., Mbabazi, D., Magezi, G., & Muhumuza, E. (2011). Fish as bioindicators in aquatic environmental pollution assessment: a case study in Lake Victoria wetlands, Uganda. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 36(14), 918-928.
- Napierska, D., Kopecka, J., Podolska, M., & Pempkowiak, J. (2006). Hepatic glutathione S-transferase activity in flounder collected from contaminated and reference sites along the Polish coast. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65(3), 355- 363. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.07.022>
- Natalotto, A., Sureda, A., Maisano, M., Spanò, N., Mauceri, A., & Deudero, S. (2015). Biomarkers of environmental stress in gills of *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) from Balearic Island. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 9- 16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.06.035>
- Navas, J. M., & Segner, H. (2001). Estrogen-mediated suppression of cytochrome P4501A (CYP1A) expression in rainbow trout hepatocytes: Role of estrogen receptor. *Chemico-Biological Interactions*, 138(3), 285- 298. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(01\)00280-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(01)00280-0)
- Nikinmaa, M. (2014). *An introduction to aquatic toxicology. Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) .(2009).** SQUIRT, Screening Quick Reference Tables for in Sediment, http://archive.orr.noaa.gov/bookshelf/122_NEW-SQuiRTs.pdf (first published online: 13.11.08; online update: 23.03.09)
- Nogueira, L., Rodrigues, A. C. F., Trídico, C. P., Fossa, C. E., & De Almeida, E. A. (2011). Oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and armored catfish (*Pterygoplichthys anisitsi*) exposed to diesel oil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 180(1- 4), 243- 255. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1785-9>
- Nordberg, J., & Arnér, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system1 1This review is based on the licentiate thesis « Thioredoxin reductase—interactions with the redox active compounds 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and lipoic acid » by Jonas Nordberg,. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287- 1312. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00724-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00724-9)

Nuran Ercal, B. S. P., Hande Gurer-Orhan, B. S. P., & Nukhet Aykin-Burns, B. S. P. (2001). Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 529- 539. <https://doi.org/10.2174/1568026013394831>

O'Sullivan, G., & Megson, D. (2014). Brief overview: discovery, regulation, properties, and fate of POPs. In *Environmental forensics for persistent organic pollutants* (pp. 1-20).

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351- 358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

Oliva, M., Gravato, C., Guilhermino, L., Galindo-Riaño, M. D., & Perales, J. A. (2014). EROD activity and cytochrome P4501A induction in liver and gills of Senegal sole *Solea senegalensis* from a polluted Huelva Estuary (SW Spain). *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 166, 134- 144. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.07.010>

Oliva, M., Perales, J. A., Gravato, C., Guilhermino, L., & Galindo-Riaño, M. D. (2012). Biomarkers responses in muscle of Senegal sole (*Solea senegalensis*) from a heavy metals and PAHs polluted estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 64(10), 2097- 2108. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.017>

Oliva, M., Vicente, J. J., Gravato, C., Guilhermino, L., & Dolores Galindo- Galindo-Riaño, M. D.(2012b). Oxidative stress biomarkers in Senegal sole, *Solea senegalensis*, to assess the impact of heavy metal pollution in a Huelva estuary (SW Spain): Seasonal and spatial variation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 75(1), 151- 162. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.017>

Oliveira, M., Ahmad, I., Maria, V. L., Pacheco, M., & Santos, M. A. (2010). Antioxidant responses versus DNA damage and lipid peroxidation in golden grey mullet liver: A field study at ria de aveiro (Portugal). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 59(3), 454- 463. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9491-8>

Olsen, R. E., Løvaas, E., Lie, Ø., & Olsen, RE Lovaas, E and Lie, O. (1999). The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, alpha -tocopherol and spermine on fatty acid composition and indices of oxidative stress in juvenile Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 20(Parker 1989), 13 – 29.

OMS 2017 a 2,1 milliards de personnes n'ont pas d'eau potable à domicile et plus du double ne disposent pas d'assainissement sûr en ligne le 15/09/2017 sur <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/fr/>

OMS 2017b. Eau. disponible en ligne le 15/09/2017 sur <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/water-sanitation-hygiene/fr/>

OMS 2017 C. Programme international sur la sécurité des substances chimiques le cadmium disponible en ligne le 10/03/2017 sur http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/fr/

Örnek, A., Özacar, M., & Şengil, İ. A. (2007). Adsorption of lead onto formaldehyde or sulphuric acid treated acorn waste: equilibrium and kinetic studies. *Biochemical engineering journal*, 37(2), 192

- Ortiz-Delgado, J. B., Behrens, A., Segner, H., & Sarasquete, C. (2008). Tissue-specific induction of EROD activity and CYP1A protein in *Sparus aurata* exposed to B(a)P and TCDD. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69(1), 80- 88. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.12.021>
- Ortiz-Delgado, J. B., Segner, H., Arellano, J. M., & Sarasquete, C. (2007). Histopathological alterations, EROD activity, CYP1A protein and biliary metabolites in gilthead seabream *Sparus aurata* exposed to Benzo(a)pyrene. *Histology and Histopathology*, 22(4- 6), 417- 432.
- OSPAR, 2008. Assessment of Environmental Impact of Land Reclamation. OSPAR Commission, London, UK.
- O'Sullivan, G., & Megson, D. (2014). Brief overview: discovery, regulation, properties, and fate of POPs. In *Environmental forensics for persistent organic pollutants* (pp. 1-20).
- Otto, D. M. E., & Moon, T. W. (1996). Phase I and II enzymes and antioxidant responses in different tissues of brown bullheads from relatively polluted and non-polluted systems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31(1), 141- 147. <https://doi.org/10.1007/s002449900089>
- Ould Rouis, S., OuldRouis, A., Micha, J. C., & Ara., A. (2012). Biologie de la reproduction du Cyprinidae, *Barbus callensis* dans le lac de barrage Hamiz (Algérie). *Tropicultura*, 30(2). Biologie de la reproduction du Cyprinidae, *Barbus callensis* dans le lac de barrage Hamiz (Algérie). *TROPICULTURA*, 2(30), 88- 93. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Özmen, H., Kūlahci, F., Çukurovali, A., & Doğru, M. (2004). Concentrations of heavy metal and radioactivity in surface water and sediment of Hazar Lake (Elaziğ, Turkey). *Chemosphere*, 55(3), 401- 408. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.003>
- Ozmen, M., Ayas, Z., Güngördü, A., Ekmekci, G. F., & Yerli, S. (2008). Ecotoxicological assessment of water pollution in Sariyar Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(1), 163- 173. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.011>
- Ozmen, M., Güngördü, A., Kucukbay, F. Z., & Güler, R. E. (2006). Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology*, 15(2), 157- 169. <https://doi.org/10.1007/s10646-005-0045-1>
- Padmini, E., & Usha Rani, M. (2009). Evaluation of oxidative stress biomarkers in hepatocytes of grey mullet inhabiting natural and polluted estuaries. *Science of the Total Environment*, 407(15), 4533- 4541. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.04.005>
- Padmini, E., Usha Rani, M., & Vijaya Geetha, B. (2009). Studies on antioxidant status in Mugil cephalus in response to heavy metal pollution at Ennore estuary. *Environmental Monitoring and Assessment*, 155(1- 4), 215- 225. <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0430-3>
- Palaniappan, P. R., & Karthikeyan, S. (2009). Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in binary solutions with nickel. *Journal of Environmental Sciences*, 21(2), 229- 236. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62256-1](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62256-1)

- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B., & Raisuddin, S. (2003). Biomarkers of oxidative stress: A comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). *Science of the Total Environment*, 309(1- 3), 105- 115. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00006-8)
- Parente, T. E. M., & Hauser-davis, R. A. (2014). The Use of Fish Biomarkers. In de Almeida, E. A., & de Oliveira Ribeiro, C. A. (Eds.). (2013). *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems*. CRC Press. E. A. de Almeida & C. A. de O. Ribeiro (Éd.), *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems* (pCRC Press, p. 164- 181).
- Pariatamby, A., & Kee, Y. L. (2016). Persistent Organic Pollutants Management and Remediation. *Procedia Environmental Sciences*, 31, 842- 848. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.02.093>
- Parlamento Europeo. (2008). EC no 629/2008. *Official journal of the European Union*, 3.7.2008(L 173), 2006- 2009.
- Pascual, P., Pedrajas, J. R., Toribio, F., Lopez-Barea, J., & Peinado, J. (2003). Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-Biological Interactions*, 145(2), 191- 199. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(03\)00002-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(03)00002-4)
- Paulino, M. G., Sakuragui, M. M., & Fernandes, M. N. (2012). Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, 86(1), 1- 7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.08.033>
- Paulino, M. G., Souza, N. E. S., & Fernandes, M. N. (2012). Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 6- 13. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.02.001>
- Pavlov, D. D., Chuiko, G. M., Gerassimov, Y. V., & Tonkopi, V. D. (1992). Feeding behavior and brain acetylcholinesterase activity in bream (*Abramis brama*) as affected by DDVP, an organophosphorus insecticide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 103(3), 563- 568. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(92\)90182-7](https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90182-7)
- Payne, J. F., Mathieu, A., Melvin, W., & Fancey, L. L. (1996). Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*, 32(2), 225- 231. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(95\)00112-Z](https://doi.org/10.1016/0025-326X(95)00112-Z)
- Peakall, D. B. (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology*, 3(3), 157-160.
- Peck, E. C., & Eaton, D. L. (2010). Genetic Polymorphism and Susceptibility to Pesticides. In *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Elsevier Inc..Peck, E. C., & Eaton, D. L.
- Peña-Llopis, S., Ferrando, M. D., & Peña, J. B. (2003). Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*, 65(4), 337- 360. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00148-6](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00148-6)

- Pereira, L. S., Ribas, J. L. C., Vicari, T., Silva, S. B., Stival, J., Baldan, A. P., ... Silva de Assis, H. C. (2016). Effects of ecologically relevant concentrations of cadmium in a freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 130, 29- 36. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.046>
- Persson, Y., Shchukarev, A., Öberg, L., & Tysklind, M. (2008). Dioxins, chlorophenols and other chlorinated organic pollutants in colloidal and water fractions of groundwater from a contaminated sawmill site. *Environmental Science and Pollution Research*, 15(6), 463- 471. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0014-3>
- Petrovic, M., Ginebreda, A., Acuña, V., Batalla, R. J., Elosegi, A., Guasch, H., ... & Barceló, D. (2011). Combined scenarios of chemical and ecological quality under water scarcity in Mediterranean rivers. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 30(8), 1269- 1278. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.012>
- Pfeifer, S., Schiedek, D., & Dippner, J. W. (2005). Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus* sp. from the south-western Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 320(1), 93- 103. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.12.020>
- Pignata, C., Morin, S., Scharl, A., Traversi, D., Schilirò, T., Degan, R., ... & Coste, MPignata, C., Morin, S., Scharl, A., Traversi, D., Schilir??, T., Degan, R., ... Gilli, G. (2013). Application of European biomonitoring techniques in China: Are they a useful tool? *Ecological Indicators*, 29, 489- 500. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.01.024>
- Porte, C., Escartín, E., de la Parra, L. M. G., Biosca, X., & Albaigés, J. (2002). Assessment of coastal pollution by combined determination of chemical and biochemical markers in *Mullus barbatus*. *Marine ecology progress series*, 235, 205-216.
- Popovic, N. T., Howell, T., Babish, J. G., & Bowser, P. R. (2012). Cross-sectional study of hepatic CYP1A and CYP3A enzymes in hybrid striped bass, channel catfish and Nile tilapia following oxytetracycline treatment. *Research in veterinary science*, 92(2), 283-291.
- Press, H. (2002). *Handbook of neurotoxicology* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Pretto, A., Loro, V. L., Morsch, V. M., Moraes, B. S., Menezes, C., Clasen, B., ...& Dressler, V. (2010). Acetylcholinesterase activity, lipid peroxidation, and bioaccumulation in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cadmium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(4), 1008- 1014. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9419-3>
- Pronczuk, J, Damstra, T. (2008). Persistent organic pollutants (POPs): Children's health and the environment. *World Health Organization*, 1- 48. Consulté à l'adresse <http://www.who.int/ceh/capacity/POPs.pdf>
- Qu, R. J., Wang, X. H., Feng, M. B., Li, Y., Liu, H. X., Wang, L. S., & Wang, Z. Y. (2013). The toxicity of cadmium to three aquatic organisms (*Photobacterium phosphoreum*, *Daphnia magna* and *Carassius auratus*) under different pH levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 83- 90. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.05.020>

Quesada-García, A., Valdehita, A., Del Olmo, I., Gómez, M. J., & Navas, J. M. (2015). Detection of Effects Caused by Very Low Levels of Contaminants in Riverine Sediments Through a Combination of Chemical Analysis, in Vitro Bioassays, and Farmed Fish as Sentinel. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(4), 663- 677. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0127-2>

Quesada-García, A., Valdehita, A., Torrent, F., Villarroel, M., Hernando, M. D., & Navas, J. M. (2013). Use of fish farms to assess river contamination: Combining biomarker responses, active biomonitoring, and chemical analysis. *Aquatic Toxicology*, 140- 141, 439- 448. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.007>

Rabiul Islam, G. M., Habib, M. R., Waid, J. L., Rahman, M. S., Kabir, J., Akter, S., & Jolly, Y. N. (2017). Heavy metal contamination of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and prawn feed in Bangladesh: A market-based study to highlight probable health risks. *Chemosphere*, 170, 282- 289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.163>

Radwan, M. A., El-Gendy, K. S., & Gad, A. F. (2010). Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*, 79(1), 40- 46. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.056>

Rainbow, P. S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4- 12), 183- 192. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(95\)00116-5](https://doi.org/10.1016/0025-326X(95)00116-5)

Rajeshkumar, S., Mini, J., & Munuswamy, N. (2013). Effects of heavy metals on antioxidants and expression of HSP70 in different tissues of Milk fish (*Chanos chanos*) of Kaattuppalli Island, Chennai, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98, 8- 18. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.029>

Ramade, F. (1993). *Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement*. Ediscience international.

Ramade, F. (1998). *Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau: biogéochimie et écologie des eaux continentales et littorales*. Ediscience international.

Raven, K. P., & Loeppert, R. H. (1997). Trace element composition of fertilizers and soil amendments. *Journal of Environmental Quality*, 26(2), 551-557.

Ravindra Kumar Gautam, S. K. S. and M. C. C. (2014). unfunctionalized Magnetic Nanoparticles for Heavy Metals Removal from Aqueous Solutions. In E. S. Sharma (Éd.), *Heavy Metals In Water : Presence, Removal and Safety* Royal Society, 91- 135.

Reddy, G. R., Devi, B. C., & Chetty, C. S. (2007). Developmental lead neurotoxicity: alterations in brain cholinergic system. *Neurotoxicology*, 28(2), 402

Registry Agency for Toxic Substances and Disease(ATSDR). (2015). Priority List of Hazardous Substances, Atlanta, Georgia, USA, (October), 9.

Regoli, F., Benedetti, M., & Giuliani, M. E. (2011). Antioxidant defenses and acquisition of

tolerance to chemical stress. *Tolerance to Environmental Contaminants*. CRC Press, 175- 209.

Regoli, F., Giuliani, M. E., Benedetti, M., & Arukwe, A. (2011). Molecular and biochemical biomarkers in environmental monitoring: A comparison of biotransformation and antioxidant defense systems in multiple tissues. *Aquatic Toxicology*, 105(3- 4.), 56- 66. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.06.014>

Reynolds, W. W., & Casterlin, M. E. (1980). The role of temperature in the environmental physiology of fishes. In *Environmental physiology of fishes* (pp. 497-518). Springer, Boston., 497- 519.

Rhainds, M., Levallois, P., Dewailly, É., & Ayotte, P. (1999). Lead, mercury, and organochlorine compound levels in cord blood in Quebec, Canada. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 54(1), 40-47.

Ribalta, C., & Solé, M. (2014). In vitro interaction of emerging contaminants with the cytochrome P450 system of mediterranean deep-sea fish. *Environmental Science and Technology*, 48(20), 12327- 12335. <https://doi.org/10.1021/es5029603>

Ribalta, C., Sanchez-Hernandez, J. C., & Sole, M. (2015). Hepatic biotransformation and antioxidant enzyme activities in Mediterranean fish from different habitat depths. *Science of the Total Environment*, 532, 176- 183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.001>

Richard j.wenning, L. M. (2014). POPs in Marine and Freshwater Environments. In G. O'Sullivan & C. Sandau (Éd.), *Persistent Organic Pollutants Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants* (Elsevier B, p. 357- 397).

Richetti, S. K., Rosemberg, D. B., Ventura-Lima, J., Monserrat, J. M., Bogo, M. R., & Bonan, C. D. (2011). Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain is altered by heavy metal exposure. *NeuroToxicology*, 32(1), 116- 122. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2010.11.001>

Riede, K. (2004). Riede, K. (2004). *Global register of migratory species: from global to regional scales: final report of the R&D-Projekt 808 05 081*. Federal Agency for Nature Conservation.

Rodier, J. E. A. N., Bernard, L., & Nicole, M. (2005). L'Analyse de l'eau: Eaux Naturelles. *Eaux Résiduaires, Eau de Mer*. 8th ed. by Dunod, DL, Paris.

Roméo, M., & Giambérini, L. (2015). 2. History of Biomarkers .. In C. Amiard-Triquet, J.-C. Amiard, & P. Rainbow (Éd.), *Ecological biomarkers: indicators of ecotoxicological effects*. CRC Press., 15- 35. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Rose, R. L., & Hodgso, E. (2004). Metabolism of Toxicants in *A Textbook of Modern Toxicology, Third Edition*, 111-148. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(87\)90110-6](https://doi.org/10.1016/0165-6147(87)90110-6)

Rousseaux, P., Navarro, A., & Vermande, P. (1990). Distribution des sept principaux métaux lourds dans les constituants des ordures ménagères. *Tribune de l'eau*, 42(5), 17-25.

Ruas, C. B. G., dos Santos Carvalho, C., de Araújo, H. S. S., Espíndola, E. L. G., & Fernandes, M. N. (2008). Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-

contaminated river. *Ecotoxicology and environmental safety*, 71(1), 86-93.

Rudneva, I. (2014). *Biomarkers for Stress in Fish Embryos and Larvae*. CRC Press.

Sáenz, L. A., Seibert, E. L., Zanette, J., Fiedler, H. D., Curtius, A. J., Ferreira, J. F., ... & Bainy, A. C. D. (2010). Biochemical biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 796- 804. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.02.015>

Sahu, B. D., Koneru, M., Bijargi, S. R., Kota, A., & Sistla, R. (2014). Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in rats: Involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chemico-Biological Interactions*, 223, 69- 79. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.09.009>

Saïdi, S. A., Azaza, M. S., Windmolders, P., van Pelt, J., & El-Feki, A. (2013). Cytotoxicity evaluation and antioxidant enzyme expression related to heavy metals found in tuna by-products meal: an in vitro study in human and rat liver cell lines. *Experimental and toxicologic pathology*, 65(7), 1025-1033.

Sakuragui, M. M., Paulino, M. G., Pereira, C. D. S., Carvalho, C. S., Sadauskas-Henrique, H., & Fernandes, M. N. (2013). Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. *Environmental Pollution*, 178, 41- 51. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.032>

Saleh, Y. S., & Marie, M. A. S. (2016). Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: A baseline field study. *Marine Pollution Bulletin*, 106(1- 2), 308- 322. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.030>

Salhi, L., Zerief, N., & Mehennaoui, S. (2009). Niveau de contamination par les éléments traces métalliques (ETM), des sédiments des oueds Rhumel et Sakiet Roum , dans la zone industrielle et à Constantine (Algérie), 181- 187.

Salman, J. M., Hassan, F. M., & Abdulameer, S. H. (2015). A Study on the Fate of Some Heavy Metals in Water and Sediments in Lotic Ecosystems, *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 4(2), 36-45.4(2), 36- 45.

Sampath, S., Selvaraj, K. K., Shanmugam, G., Krishnamoorthy, V., Chakraborty, P., & Ramaswamy, B. R. (2017). Evaluating spatial distribution and seasonal variation of phthalates using passive air sampling in southern India. *Environmental Pollution*, 221, 407- 417. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.003>

Sanchez, W., & Porcher, J.-M. (2009). Fish biomarkers for environmental monitoring within the Water Framework Directive of the European Union. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(2), 150- 158. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.10.012>

Sanchez, W., Katsiadaki, I., Piccini, B., Ditche, J. M., & Porcher, J. M. (2008). Biomarker responses in wild three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a useful tool for freshwater

biomonitoring: A multiparametric approach. *Environment International*, 34(4), 490- 498.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.11.003>

Sanchez, W., Piccini, B., Maillot-Maréchal, E., & Porcher, J. M. (2010). Comparison of two reference systems for biomarker data analysis in a freshwater biomonitoring context. *Environment International*, 36(4), 377- 382. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.02.006>

Sander, L. C., Schantz, M. M., & Wise, S. A. (2013). *Environmental Analysis : Persistent Organic Pollutants *. Liquid Chromatography*. Elsevier . <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415806-1.00013-9>

Sanni, S., Lyng, E., Pampanin, D. M., & Smit, M. G. D. (2016). II. Species sensitivity distributions based on biomarkers and whole organism responses for integrated impact and risk assessment criteria. *Marine environmental research*, 127, 11-23. *Marine Environmental Research*, (December).
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.12.003>

Santhoshkumar, P., & Shivanandappa, T. (1999). In vitro sequestration of two organophosphorus homologs by the rat liver. *Chemico-Biological Interactions*, 119- 120, 277- 282.
[https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(99\)00037-X](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(99)00037-X)

Santonen, T., Aitio, A., Fowler, B. a, & Nordberg, M. (2015). *Biological Monitoring and Biomarkers. Handbook on the Toxicology of Metals*. Academic.. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3203-6.00016-8>

Sastry, K. V., & Subhadra, K. (1982). Effect of cadmium on some aspects of carbohydrate metabolism in a freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Toxicology Letters*, 14(1- 2), 45- 55.
[https://doi.org/10.1016/0378-4274\(82\)90008-X](https://doi.org/10.1016/0378-4274(82)90008-X)

Sattar, A. A., & Demmak, A. M. (2014). Algeria Water Sector M&E Rapid Assessment Report. *African Water facility*.

Sayed, A. E. D. H., El-Sayed, Y. S., & El-Far, A. H. (2017). Hepatoprotective efficacy of *Spirulina platensis* against lead-induced oxidative stress and genotoxicity in catfish; *Clarias gariepinus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143(March), 344- 350.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.013>

Scharenberg, W., Gramann, P., & Pfeiffer, W. H. (1994). Bioaccumulation of heavy metals and organochlorines in a lake ecosystem with special reference to. *The Science of the Total Environment* 155, 3(94), 187- 197.

Schlenk, D., Celander, M., Gallagher, E. P., George, S., James, M., Kullman, S. W., ... & Willett, K. (2008). Biotransformation in fishes. *The toxicology of fishes*, 153-234

Schlezing, J. J., Struntz, W. D. J., Goldstone, J. V., & Stegeman, J. J. (2006). Uncoupling of cytochrome P450 1A and stimulation of reactive oxygen species production by co-planar polychlorinated biphenyl congeners. *Aquatic Toxicology*, 77(4), 422- 432.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.01.012>

Sen, A., & Semiz, A. (2007). Effects of metals and detergents on biotransformation and detoxification enzymes of leaping mullet (*Liza saliens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*,

68(3), 405- 411. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.08.007>

Serpaud, B., Al-Shukry, R., Casteignau, M., & Matejka, G. (1994). Adsorption des métaux lourds (Cu, Zn, Cd et Pb) par les sédiments superficiels d'un cours d'eau: rôle du pH, de la température et de la composition du sédiment. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 7(4), 343-365.

Sfakianakis, D. G., Renieri, E., Kentouri, M., & Tsatsakis, A. M. (2015). Effect of heavy metals on fish larvae deformities: a review. *Environmental research*, 137, 246-255.

Shackley, S. E., King, P. E., & Gordon, S. M. (1981). Vitellogenesis and Trace-Metals in a Marine Teleost. *Journal of Fish Biology*, 18(3), 349- 352.

Sharaf, H. M., & Shehata, A. M. (2015). Heavy metals and hydrocarbon concentrations in water, sediments and tissue of Cyclope neritea from two sites in Suez Canal, Egypt and histopathological effects. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 13(1), 14

Shenai-Tirodkar, P. S., Gauns, M. U., Mujawar, M. W. A., & Ansari, Z. A. (2017). Antioxidant responses in gills and digestive gland of oyster *Crassostrea madrasensis* (Preston) under lead exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142(March), 87- 94. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.056>

Silva, K. C. C., Assis, C. R. D., Oliveira, V. M., Carvalho, L. B., & Bezerra, R. S. (2013). Kinetic and physicochemical properties of brain acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect of pesticides and metal ions. *Aquatic Toxicology*, 126, 191- 197. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.11.001>

Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). Heavy metals and living systems: an overview. *Indian journal of pharmacology*, 43(3), 246.

Siwela, A. H., Nyathi, C. B., & Naik, Y. S. (2010). A comparison of metal levels and antioxidant enzymes in freshwater snails, *Lymnaea natalensis*, exposed to sediment and water collected from Wright Dam and Lower Mguza Dam, Bulawayo, Zimbabwe. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(7), 1728- 1732. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.001>

Slooff, W., Van Kreijl, C. F., & Baars, A. J. (1983). Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic Toxicology*, 4(1), 1-14.

Slotte, A. (1999). Effects of fish length and condition on spawning migration in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.). *Sarsia*, 84(2), 111- 127. <https://doi.org/10.1080/00364827.1999.10420439>

Smolowitz, R. M., Schultz, M. E., & Stegeman, J. J. (1992). Cytochrome P4501A induction in tissues, including olfactory epithelium, of topminnows (*poeciliopsis* spp.) by waterborne benzo[a]pyrene. *Carcinogenesis*, 13(12), 2395- 2402. <https://doi.org/10.1093/carcin/13.12.2395>

Sno , R. (2006). *B iomarkers in monitoring*. Report number 5205-2006.Norwegian Institute forWater Research

- Solé, M., & Sanchez-Hernandez, J. C. (2015). An in vitro screening with emerging contaminants reveals inhibition of carboxylesterase activity in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, *169*, 215- 222. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.001>
- Solé, M., Antó, M., Baena, M., Carrasson, M., Cartes, J. E., & Maynou, F. (2010). Hepatic biomarkers of xenobiotic metabolism in eighteen marine fish from NW Mediterranean shelf and slope waters in relation to some of their biological and ecological variables. *Marine Environmental Research*, *70*(2), 181- 188. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.04.008>
- Solé, M., de la Parra, L. M. G., Alexandre-Grimaldo, S., & Sardá, F. (2006). Esterase activities and lipid peroxidation levels in offshore commercial species of the NW Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, *52*(12), 1708- 1716. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.07.015>
- Solé, M., Fortuny, A., & Mañanós, E. (2014). Effects of selected xenobiotics on hepatic and plasmatic biomarkers in juveniles of *Solea senegalensis*. *Environmental Research*, *135*, 227- 235. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.09.024>
- Solé, M., Lima, D., Reis-Henriques, M. A., & Santos, M. M. (2008). Stress biomarkers in juvenile Senegal sole, *Solea senegalensis*, exposed to the water-accommodated fraction of the « Prestige » fuel oil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *80*(1), 19- 23. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9289-1>
- Solé, M., Lobera, G., Lima, D., Reis-Henriques, M. A., & Santos, M. M. (2008). Esterases activities and lipid peroxidation levels in muscle tissue of the shanny *Lipophrys pholis* along several sites from the Portuguese Coast. *Marine Pollution Bulletin*, *56*(5), 999- 1007. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.01.016>
- Solé, M., Mañanós, E., & Blázquez, M. (2016). Vitellogenin, sex steroid levels and gonadal biomarkers in wild *Solea solea* and *Solea senegalensis* from NW Mediterranean fishing grounds. *Marine Environmental Research*, *117*, 63- 74. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.03.010>
- Soudani, N., Sefi, M., Ben Amara, I., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2010). Protective effects of Selenium (Se) on Chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(4), 671- 678. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.10.002>
- Souid, G., Souayed, N., Yaktiti, F., & Maaroufi, K. (2013). Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of *Sparus aurata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *89*, 1- 7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.015>
- Sroda, S., & Cossu-Leguille, C. (2011). Seasonal variability of antioxidant biomarkers and energy reserves in the freshwater gammarid *Gammarus roeseli*. *Chemosphere*, *83*(4), 538- 544. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.023>
- Srogi, K. (2007). Overview of Analytical Methodologies for Dioxin Analysis. *Analytical Letters*, *40*(9), 1647- 1671. <https://doi.org/10.1080/00032710701385748>
- Stagg, R., McIntosh, A., & Gubbins, M. J. (2016). Determination of CYP1A-dependent mono-oxygenase activity in dab by fluorimetric measurement of EROD activity in S9 or microsomal liver

fractions. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, (57), 21.

Stara, A., Machova, J., & Velisek, J. (2012). Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2), 334- 343. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.12.019>

Stefano, B., Ilaria, C., & Silvano, F. (2008). Cholinesterase activities in the scallop *Pecten jacobaeus*: Characterization and effects of exposure to aquatic contaminants. *Science of the Total Environment*, 392(1), 99- 109. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.029>

Stegeman, J. J., & Lech, J. J. (1991). Cytochrome P-450 monooxygenase systems in aquatic species: Carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspectives*, 90, 101- 109. <https://doi.org/10.2307/3430851>

Stegeman, J.J., Brouwer, M., Di Giulio, R.T., Forlin, L., Fowler, B.A.,

Sanders, B.M., & Van Veld, P.A.(1992). Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: Hugget, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Jr., & Bergman, H.L. (Eds.), *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Lewis

Stephensen, E., Sturve, J., & Förlin, L. Stephensen, E., Sturve, J., & Förlin, L. (2002). Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 133(3), 435- 442. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00129-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00129-1)

Stepić, S., Hackenberger, B. K., Hackenberger, D. K., Velki, M., & Lončarić, Ž. (2012). Impact of oxidative stress indicated by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and protein carbonyl levels (PC) on ethoxyresorufin-o- deethylase (EROD) induction in common carp (*Cyprinus carpio*). *Water, Air, and Soil Pollution*, 223(8), 4785- 4793. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1234-1>

Stockholm Convention . (2015). POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS. Consulté à l'adresse <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/tabid/673/Default.aspx>

Stoliar, O. B., & Lushchak, V. I. (2012). Environmental pollution and oxidative stress in fish. In *Oxidative Stress-Environmental Induction and Dietary Antioxidants*. InTech.

Stouthart, A. J. H. ., Spanings, F. A. ., Lock, R. A. ., & Bonga, S. E. W. (1995). Effects of water pH on chromium toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 32(1), 31- 42. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00079-6](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00079-6)

Stouthart, A. J. H. X., Spanings, F. A. T., Lock, R. A. C., & Bonga, S. W. (1994). Effects of low water pH on lead toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 30(2), 137-151.

Subhashini, S. S., Velan, M., & Kaliappan, S. (2013). Biosorption of lead by *Kluyveromyces marxianus* immobilized in alginate beads. *Journal of environmental biology*, 34(5), 831

Sundaramoorthy, P., Chidambaram, A., Ganesh, K. S., Unnikannan, P., & Baskaran, L. (2010).

Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. *Comptes Rendus - Biologies*, 333(8), 597- 607. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.03.002>

Sureda, A., Box, A., Tejada, S., Blanco, A., Caixach, J., & Deudero, S. (2011). Biochemical responses of *Mytilus galloprovincialis* as biomarkers of acute environmental pollution caused by the Don Pedro oil spill (Eivissa Island, Spain). *Aquatic Toxicology*, 101(3- 4), 540- 549. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.12.011>

Suthar, S., Nema, A. K., Chabukdhara, M., & Gupta, S. K. (2009). Assessment of metals in water and sediments of Hindon River, India: Impact of industrial and urban discharges. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1), 1088-1095.

Sutton, K., & Zaimeche, S. (1992). Water resource problems in Algeria . *Méditerranée*, 76, 35- 43. Consulté à l'adresse https://www.restec.or.jp/geoss_ap2/pdf/0415/wg2/sr1/10.pdf

Swall, L. M., and Tjeerdema, R. S. (1991). Tissue distribution and temperature dependence of xenobiotic hydrolysis in the dungeness crab (*Cancer magister*). *Aquatic toxicology*, 20, 1-12

Tan, J., & Obbard, J. P. (2011). Singapore: Exposure to persistent organic pollutants and human health risks.

Tao, Y., Yuan, Z., Wei, M., & Xiaona, H. (2012). Characterization of heavy metals in water and sediments in Taihu Lake, China. *Environmental monitoring and assessment*, 184(7), 4367- 82. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2270-9>

Targońska, K., Zarski, D., Kupren, K., Palińska-Zarska, K., Mamcarz, A., Kujawa, R., ... Kucharczyk, D. (2014). Influence of temperature during four following spawning seasons on the spawning effectiveness of common bream, *Abramis brama* (L.) under natural and controlled conditions. *Journal of Thermal Biology*, 39(1), 17- 23. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2013.11.005>

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutto, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology*. Springer Basel. 133-164.

Tekin-Ozan, S., & Kir, I. (2008). Seasonal variations of heavy metals in some organs of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) from Beyşehir Lake (Turkey). *Environmental monitoring and assessment*, 138, 201- 206. <https://doi.org/10.1007/s10661-007-9765-4>

Teubner, D., Paulus, M., Veith, M., & Klein, R. (2015). Biometric parameters of the bream (*Abramis brama*) as indicators for long-term changes in fish health and environmental quality—data from the German ESB. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(3), 1620- 1627. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3008-3>

Thibaut, R., Schnell, S., & Porte, C. (2006). The interference of pharmaceuticals with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in carp liver: An in-vitro study. *Environmental Science and Technology*, 40(16), 5154- 5460. <https://doi.org/10.1021/es0607483>

Tierney, K. B., Kennedy, C. J., Gobas, F., Gledhill, M., & Sekela, M. (2014). Organic contaminants and fish. *Fish Physiology*. Academic Press, 33, 1-52.

Timbrell, J. (1996). *Biochemical toxicology. Critical reviews in biochemistry and molecular biology* (Vol. 31). <https://doi.org/10.3109/10409239609110574>

Tlili, S., Jebali, J., Banni, M., Haouas, Z., Mlayah, A., Helal, A. N., & Boussetta, H. (2010). Multimarker approach analysis in common carp *Cyprinus carpio* sampled from three freshwater sites. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168(1- 4), 285- 298. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1112-5>

Todd, A. C., Wetmur, J. G., Moline, J. M., Godbold, J. H., Levin, S. M., & Landrigan, P. J. (1996). Unraveling the chronic toxicity of lead: An essential priority for environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 104(SUPPL. 1), 141- 146. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104s1141>

Torres, M. A., Barros, M. P., Campos, S. C. G., Pinto, E., Rajamani, S., Sayre, R. T., & Colepicolo, P. (2008). Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1), 1- 15. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.05.009>

Tsangaris, C., Papathanasiou, E., & Cotou, E. (2007). Assessment of the impact of heavy metal pollution from a ferro-nickel smelting plant using biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(2), 232- 243. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.03.011>

Turja, R., Höher, N., Snoeijs, P., Baršienė, J., Butrimavičienė, L., Kuznetsova, T., ... & Lehtonen, K. K. (2014). A multibiomarker approach to the assessment of pollution impacts in two Baltic Sea coastal areas in Sweden using caged mussels (*Mytilus trossulus*). *Science of the Total Environment*, 473, 398-409.

Tu, H. T., Silvestre, F., Scippo, M. L., Thome, J. P., Phuong, N. T., & Kestemont, P. (2009). Acetylcholinesterase activity as a biomarker of exposure to antibiotics and pesticides in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1463- 1470. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.008>

UdDin, I., Bano, A., & Masood, S. (2015). Chromium toxicity tolerance of *Solanum nigrum* L. and *Parthenium hysterophorus* L. plants with reference to ion pattern, antioxidation activity and root exudation. *Ecotoxicology and environmental safety*, 113, 271-278

UNEP. (2009). Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, (September), 43. Consulté à l'adresse <http://chm.pops.int/Home/tabid/2121/mctl/ViewDetails/EventModID/7595/EventID/424/xmid/7598/Default.aspx>

UNESCO , 2017. Rareté et qualité de l'eau. disponible en ligne le 16/0/2017. <http://fr.unesco.org/themes/securite-approvisionnement-eau/hydrologie/rarete-qualite-eau>

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2009). National Primary Drinking Water Regulations. EPA 816-F-09-004.

United States Environmental Protection Agency (USEPA).(2006). National Recommended Water Quality Criteria.. Office of Water, Office of Science and Technology

- Uno, T., Ishizuka, M., & Itakura, T. (2012). Cytochrome P450 (CYP) in fish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(1), 1- 13. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.02.004>
- Valdehita, A., Fernández-Cruz, M. L., Torrent, F., Sericano, J. L., & Navas, J. M. (2012). Differences in the induction of cyp1A and related genes in cultured rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Additional considerations for the use of EROD activity as a biomarker. *Journal of Fish Biology*, 81(1), 270- 287. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03338.x>
- Valon, M., Valbona, A., Fahri, G., Qenan, M., Dhurat, K., & Fatmir, C. (2013). Evaluating environmental pollution by applying oxidative stress biomarkers as bioindicators of water pollution in fish. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(5), 1519- 1523.
- van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. E. (2003a). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57- 149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Van Der Oost, R., Opperhuizen, A., Satumalay, K., Heida, H., & Vermeulen, N. P. E. (1996). Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) I. Bioaccumulation: Biota-sediment ratios of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquatic Toxicology*, 35(1), 21- 46. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(96\)00002-1](https://doi.org/10.1016/0166-445X(96)00002-1)
- Van Gestel, C. A. M., & Van Brummelen, T. C. (1996). Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, 5(4), 217-225.
- VanDerOost, R., Porte-Visa, C., & Van-den-Brink, N. W. (2005). Biomarkers in environmental assessment R. In P. J. den Besten & M. Munawar (Éd.), *Ecotoxicological testing of marine and freshwater ecosystems: emerging techniques, trends and strategies*. CRC Press. *Ecotoxicological Testing of Marine and Freshwater Ecosystems Emerging Techniques, Trends, and Strategies* (CRC Press, p. 89- 152).
- Varol, M., & Şen, B. (2012). Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. *Catena*, 92, 1- 10. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2011.11.011>
- Vega-Lopez, A., Ayala-Lopez, G., Posadas-Espadas, B. P., Olivares-Rubio, H. F., & Dzul-Caamal, R. (2013). Relations of oxidative stress in freshwater phytoplankton with heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 165(4), 498- 507. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.026>
- Velma, V., & Tchounwou, P. B. (2010). Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *carassius auratus*. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 698(1- 2), 43- 51. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.03.014>
- Vera Maria F. de Almeida-Val, A. R. C. G., & Pires Lopes, N. (2006). Metabolic and Physiological Adjustments to Low Oxygen and High Temperature in Fishes of the Amazon. In A. L. Val, V. M. De Almeida-Val, & D. J. Randall (Éd.), *Fish Physiology: The Physiology of Tropical Fishes, Volume 21*

(Academic P, p. 443- 491).

Viarengo, A., Bettella, E., Fabbri, R., Burlando, B., & Lafaurie, M. (1997). Heavy metal inhibition of EROD activity in liver microsomes from the bass *Dicentrarchus labrax* exposed to organic xenobiotics: Role of GSH in the reduction of heavy metal effects. *Marine Environmental Research*, 44(1), 1- 11. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(96\)00097-9](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(96)00097-9)

Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., & Koehler, A. (2007). The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(3), 281- 300. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.04.011>

Vieira, C. E. D., Costa, P. G., Lunardelli, B., de Oliveira, L. F., da Costa Cabrera, L., Risso, W. E., ...& Bueno dos Reis Martinez, C. (2016). Multiple biomarker responses in *Prochilodus lineatus* subjected to short-term in situ exposure to streams from agricultural areas in Southern Brazil. *Science of the Total Environment*, 542, 44- 56. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.071>

Vinagre, C., Madeira, D., Narsisco, L., Cabral, H. N., & Diniz, M. (2012). Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile ... *Ecological Indicators*, 23, 274- 279. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.009>

Vindimian, E., Namour, P., Migeon, B., & Garric, J. (1991). In situ pollution induced cytochrome P450 activity of freshwater fish: barbel (*Barbus barbus*), chub (*Leuciscus cephalus*) and nase (*Chondrostoma nasus*). *Aquatic Toxicology*, 21(3- 4), 255- 266. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90076-L](https://doi.org/10.1016/0166-445X(91)90076-L)

Vinodhini, R., & Narayanan, M. (2009). Biochemical changes of antioxidant enzymes in common carp (*Cyprinus Carpio L.*) after heavy metal exposure. *Turkis Journal of Vet Anim Sci*, 33(4), 273- 278. <https://doi.org/10.3906/vet-0711-18>

Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. J., & Valavanidis, A. (2007). Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 54(9), 1361- 1371. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.05.018>

Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P., & Peakall, D. B. (2012). *Principles of ecotoxicology*. CRC press.

Waltham, N. J., Teasdale, P. R., & Connolly, R. M. (2013). Use of flathead mullet (*Mugil cephalus*) in coastal biomonitor studies: Review and recommendations for future studies. *Marine Pollution Bulletin*, 69(1- 2), 195- 205. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.012>

Wan, R., Meng, F., Fu, W., Wang, Q., & Su, E. (2015). Biochemical responses in the gills of *Meretrix meretrix* after exposure to treated municipal effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 78- 85. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.038>

Wang, C., Liu, S., Zhao, Q., Deng, L., & Dong, S. (2012). Spatial variation and contamination

assessment of heavy metals in sediments in the Manwan Reservoir, Lancang River. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 82, 32- 39. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.006>

Wang, X., Wang, L., Ren, Q., Yin, S., Liang, F., & Jia, Y. (2016). Two superoxide dismutases (SODs) respond to bacterial challenge identified in the marbled eel *Anguilla marmorata*. *Aquaculture*, 451, 316- 325. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.025>

Wassmur, B., Gräns, J., Kling, P., & Celander, M. C. (2010). Interactions of pharmaceuticals and other xenobiotics on hepatic pregnane X receptor and cytochrome P450 3A signaling pathway in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 100(1), 91- 100. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.07.013>

Wei, B., & Yang, L. (2010). A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchemical Journal*, 94(2), 99- 107. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.09.014>

Wheeler, J. R., Gimeno, S., Crane, M., Lopez-Juez, E., & Morritt, D. (2005). Vitellogenin: a review of analytical methods to detect (anti) estrogenic activity in fish. *Toxicology mechanisms and methods*, 15(4), 293- 306. <https://doi.org/10.1080/15376520590968789>

Wheelock, C. E., Phillips, B. M., Anderson, B. S., Miller, J. L., Miller, M. J., & Hammock, B. D. (2008). Applications of carboxylesterase activity in environmental monitoring and toxicity identification evaluations (TIEs). *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 195, 117- 178. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77030-7_5

Wheelock, C. E., Severson, T. F., & Hammock, B. D. (2001). Synthesis of new carboxylesterase inhibitors and evaluation of potency and water solubility. *Chemical Research in Toxicology*, 14(12), 1563- 1572. <https://doi.org/10.1021/tx015508+>

Whyte, J. J., Jung, R. E., Schmitt, C. J., & Tillitt, D. E. (2000). Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure. *Critical reviews in toxicology*, 30(4), 347- 570. <https://doi.org/10.1080/10408440091159239>

Wilczek, G., Babczyńska, A., Migula, P., & Wencelis, B. (2003). Activity of esterases as biomarkers of metal exposure in spiders from the metal pollution gradient. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(6), 765- 771.

Williams, E. T., Wang, H., Wrighton, S. A., Qian, Y. W., & Perkins, E. J. (2010). Genomic analysis of the carboxylesterases: Identification and classification of novel forms. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(1), 23- 34. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.05.018>

Winston, G. W., & Di Giulio, R. T. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19(2), 137- 161. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90033-6](https://doi.org/10.1016/0166-445X(91)90033-6)

World Health Organisation and UNICEF. (2006). Water and Sanitation the Urban and rural challenge of the decade, 47.

Wootton, R. (2011). Energy utilisation and growth. In A. Farrel, J. JJ Cech, J. Richards, & E. Stevens (Éd.), *Ecotoxicological testing of marine and freshwater ecosystems: emerging techniques*,

trends and strategies. CRC Press. 1623- 163).

Wootton, R. J. (1990). *Ecology of teleost fishes. Fish and Fisheries Series 1* (Vol. 92). [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90031-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90031-2)

World Health Organization. (1993). International Programme on Chemical Safety (IPCS)–Environmental Health Criteria 155: Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *Geneva, Gland*.

WHO and UNICEF (2006) Meeting the MDG drinking water and sanitation target: the urban and rural challenge of the decade. World

World Health Organization. (2004). *Guidelines for drinking-water quality* (Vol. 1). World Health Organization.

Wunderlich, A. C., Silva, R. J., Zica, É. O. P., Rebelo, M. F., Parente, T. E. M., & Vidal-Martínez, V. M. (2015). The influence of seasonality, fish size and reproductive status on EROD activity in *Plagioscion squamosissimus*: Implications for biomonitoring of tropical/subtropical reservoirs. *Ecological Indicators*, 58, 267- 276. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.05.063>

Xiao, W. W., Feng, L., Kuang, S. Y., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W. D., ... Zhou, X. Q. (2012). Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle and serum for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed grade levels of methionine hydroxy analogue. *Aquaculture Nutrition*, 18(1), 90- 97. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00881.x>

Xie, Z., Lu, G., Hou, K., Qin, D., Yan, Z., & Chen, W. (2016). Bioconcentration, metabolism and effects of diphenhydramine on behavioral and biochemical markers in crucian carp (*Carassius auratus*). *Science of the Total Environment*, 544, 400- 409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.132>

Xiu, M., Pan, L., Jin, Q., & Miao, J. (2015). Gender differences in detoxification metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbon (chrysene) in scallop *Chlamys farreri* during the reproduction period. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 170, 50- 59. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.02.003>

Xu, C., Li, C. Y. T., & Kong, A. N. T. (2005). Induction of phase I, II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. *Archives of pharmacal research*, 28(3), 249-268

Xu, F., Liu, Z., Cao, Y., Qiu, L., Feng, J., Xu, F., & Tian, X. (2017). Assessment of heavy metal contamination in urban river sediments in the Jiaozhou Bay catchment, Qingdao, China. *Catena*, 150, 9- 16. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.11.004>

Xu, X., Cao, Z., Zhang, Z., Li, R., & Hu, B. (2016). Spatial distribution and pollution assessment of heavy metals in the surface sediments of the Bohai and Yellow Seas. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 596- 602. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.079>

Yang, H. N., & Chen, H. C. (1996). Uptake and elimination of cadmium by Japanese eel, *Anguilla*

japonica, at various temperatures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(4), 670- 676. <https://doi.org/10.1007/s001289900098>

Yi, Y., Yang, Z., & Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159(10), 2575- 2585. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.06.011>

Yildirim, N. C., Yildirim, N., Danabas, D., & Danabas, S. (2014). Use of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and cytochrome P450 1A1 in *Capoeta umbla* as biomarkers for monitoring of pollution in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(3), 1169- 1176. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.04.001>

Yilmaz, D., Kalay, M., Donmez, E., & Yilmaz, N. (2016). Assessment of biological effects of environmental pollution in Mersin Bay (Turkey, northeastern Mediterranean Sea) using *Mullus barbatus* and *Liza ramada* as target organisms. *Environmental Pollution journal*, 208, 361- 370. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.10.002> 0269-7491/©

Yologlu, E., & Ozmen, M. (2015). Low concentrations of metal mixture exposures have adverse effects on selected biomarkers of *Xenopus laevis* tadpoles. *Aquatic Toxicology*, 168, 19- 27. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.09.006>

Yonar, M. E., & Sakin, F. (2011). Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(3), 226- 231. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.12.008>

York, N. (2011). The Use of Cholinesterases in Ecotoxicology. In S. Monteiro & A. B. a. A. Boxall (Éd.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Springer S, Vol. 225, p. 29- 61). New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6470-9>

Younis, E. M., Al-Asgah, N. A., Abdel-Warith, A. W. A., & Al-Mutairi, A. A. (2015). Seasonal variations in the body composition and bioaccumulation of heavy metals in Nile tilapia collected from drainage canals in Al-Ahsa, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(4), 443- 447. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.11.020>

Zaid-Chertouk, A. (2011). Le renouveau de l'action publique en Algérie dans le contexte de crise économique mondiale,. In P. B. et L. BernerERNIER (Éd.), *Renewal of public intervention and contemporary crisis. Towards the emergence of a new form of regulation ?* (Publicatio, p. 307).

Zangar, R. C., Davydov, D. R., & Verma, S. (2004). Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 199(3), 316- 331. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.01.018>

Zauke, G. G. P., Ritterhoff, J., & Rinderhagen, M. (2005). Concepts and applications in aquatic biomonitoring—internal review paper. *Aquatic Ecology Group, ICBM, CvO Universitat, Oldenburg, Germany*, 38.

Zeinali, F., Homaei, A., & Kamrani, E. (2015). Sources of marine superoxide dismutases:

Characteristics and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 627- 637. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.053>

Zhang, L., Dong, X., Wang, C., Zuo, Z., & Chen, M. (2017). Bioaccumulation and the expression of hepatic cytochrome P450 genes in marine medaka (*Oryzias melastigma*) exposed to difenoconazole. *Journal of Environmental Sciences*, 52, 98- 104. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.03.011>

Zhang, L., Qiu, L., Wu, H., Liu, X., You, L., Pei, D., ... & Zhao, J. (2012). Expression profiles of seven glutathione S-transferase (GST) genes from *Venerupis philippinarum* exposed to heavy metals and benzo[a]pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 155(3), 517- 527. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.01.002>

Zhang, T., Yang, M., Pan, H., Li, S., Ren, B., Ren, Z., ... Ma, J. (2017). Does time difference of the acetylcholinesterase (AChE) inhibition in different tissues exist? A case study of zebra fish (*Danio rerio*) exposed to cadmium chloride and deltamethrin. *Chemosphere*, 168, 908- 916. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.119>

Zhang, Y., Sun, G., Yang, M., Wu, H., Zhang, J., Song, S., ... Guo, Y. (2011). Chronic accumulation of cadmium and its effects on antioxidant enzymes and malondialdehyde in *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidea). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), 1355- 1362. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.03.002>

Zhao, Y., Luo, K., Fan, Z., Huang, C., & Hu, J. (2013). Modulation of Benzo[a]pyrene Induced Toxic Effects in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) by 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether. *Environmental science and technology*, 47(22), 13068- 76.

Zheng, R., Chen, H., Bo, J., Xie, Q., Hong, F., & Zhang, Y. (2016). Joint effects of crude oil and heavy metals on the gill filament EROD activity of marbled rockfish *Sebastes marmoratus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 116- 122. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.002>

Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2), 135-150.

Zhuang, W., Liu, Y., Chen, Q., Wang, Q., & Zhou, F. (2016). A new index for assessing heavy metal contamination in sediments of the Beijing-Hangzhou Grand Canal (*Zaozhuang Segment*): A case study. *Ecological Indicators*, 69(November), 252- 260. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.04.029>

Zmen, M. U. O., Ener, S. A. S., Ete, A. H. M., & Ucukbay, H. A. K. (1999). In Vitro and in Vivo Acetylcholinesterase-Inhibiting Effect of New Classes of Organophosphorus Compounds, 18(2), 241- 246.

Annexes

Annexe I. Conditionnement du matériel

Avant l'utilisation tout matériel susceptible d'entrer en contact avec l'échantillon doit faire une attention particulière l'emploi de flacons fermé hermétiquement et préalablement décontaminé suivant les protocoles décrits ci-dessous.

Pour le dosage des éléments traces métalliques, les flacon sont rincés à l'acide nitrique 10 %, puis rincés à l'eau distillée , non séchés et fermés

Pour le dosage des polluants organiques persistants POPS les flacons sont décontaminés par nettoyage au méthanol puis à l'acétone.

Annexe II. Résultats de CPG

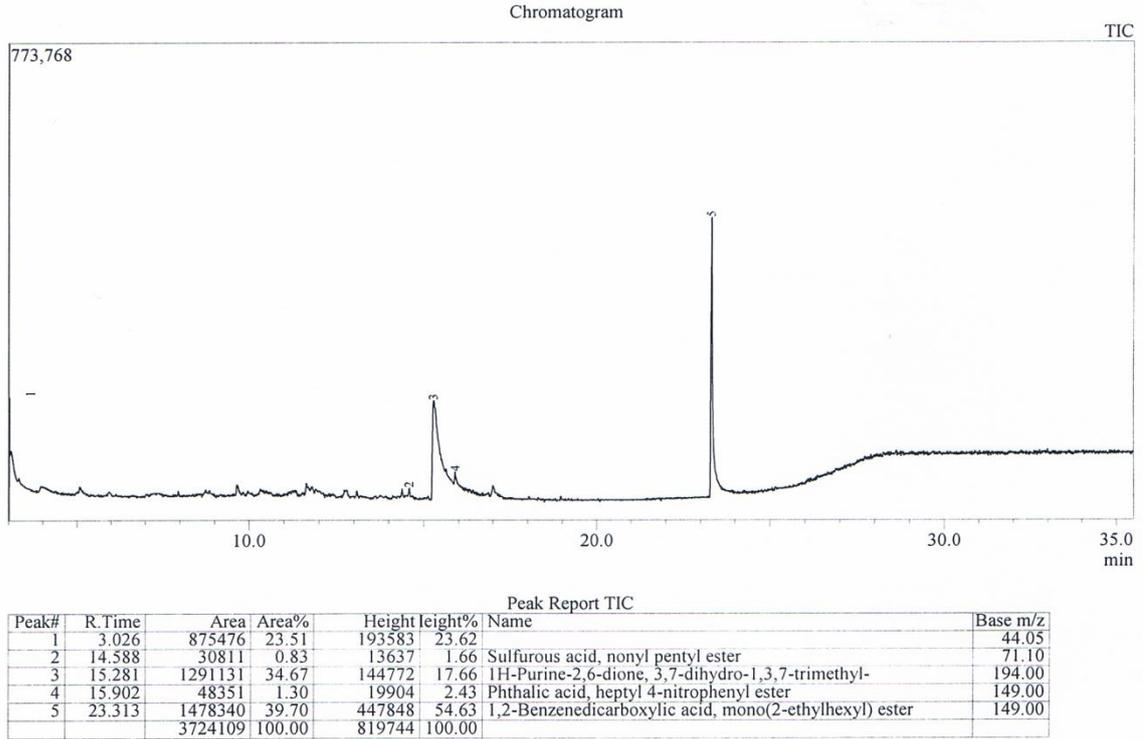


Figure.1. chromatogramme des échantillons de l'eau de la station BH

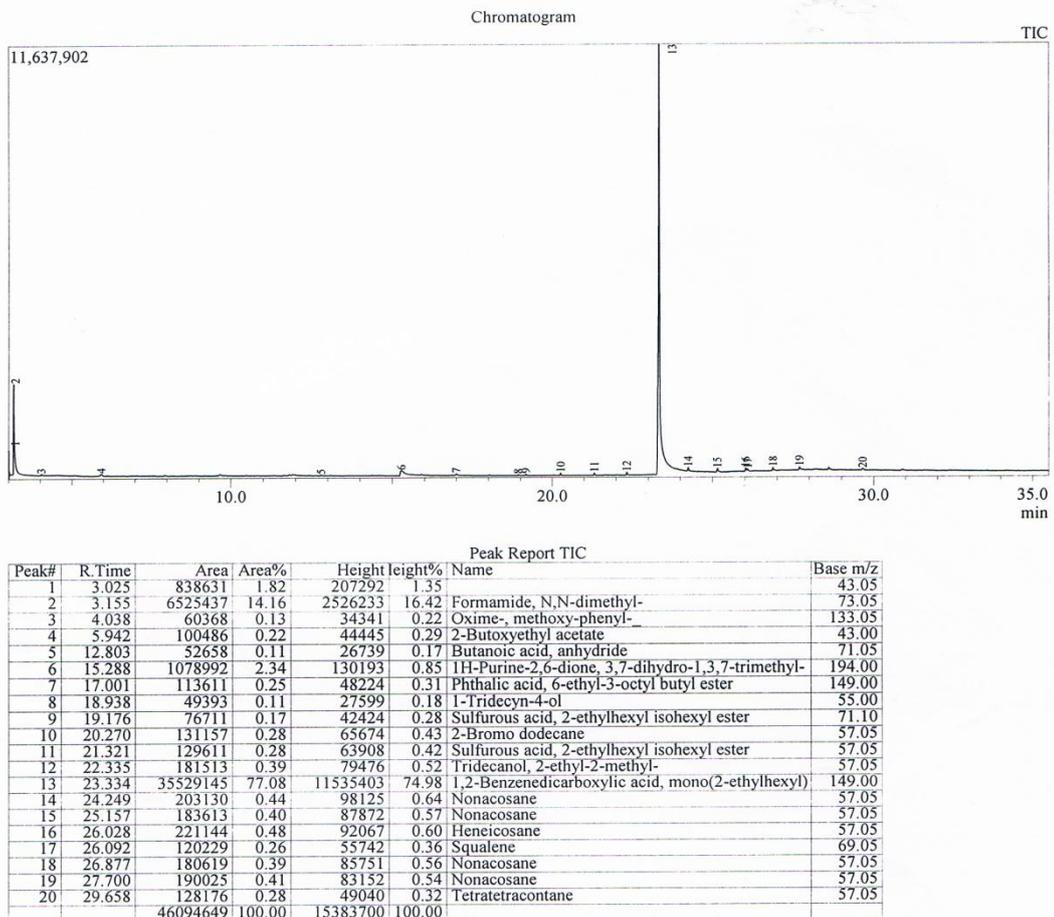
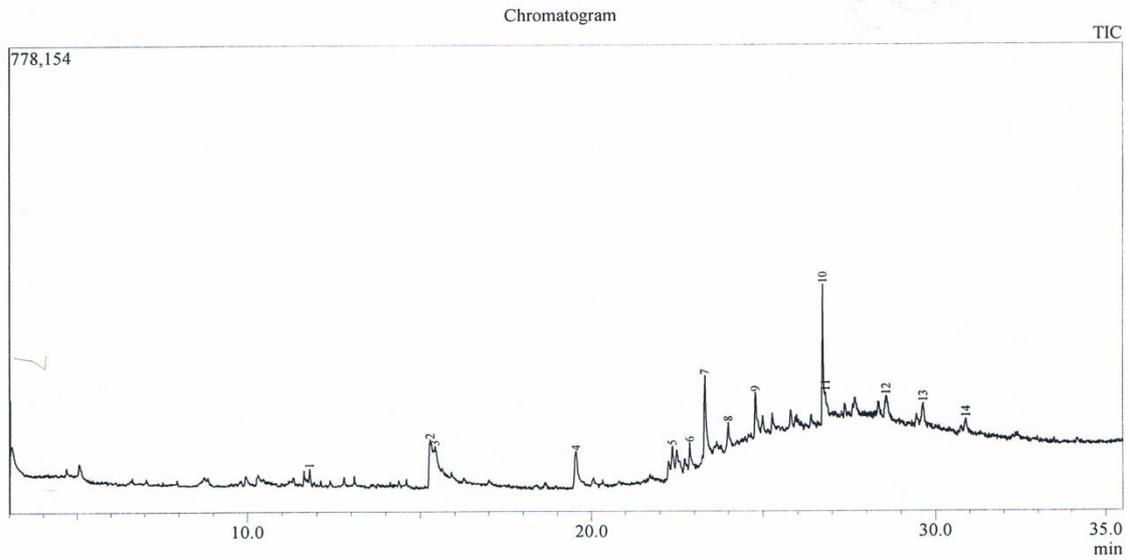


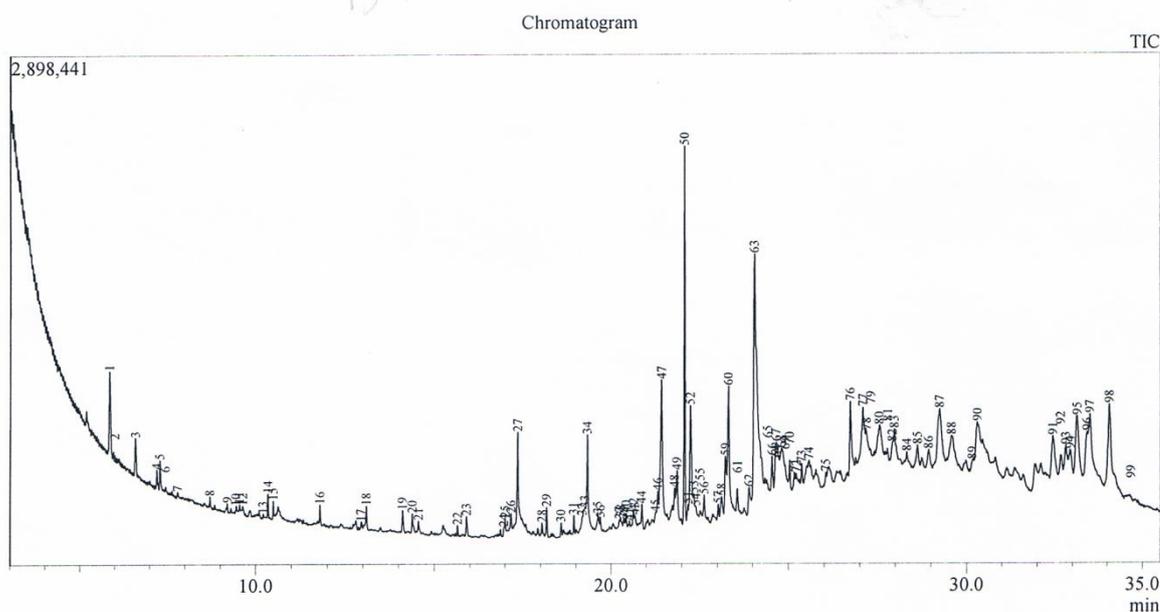
Figure.2. chromatogramme des échantillons de l'eau de la station BH.



Peak Report TIC						
Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	11.801	140297	3.65	29040	3.16	Decane, 1-iodo-
2	15.286	477131	12.40	73635	8.01	
3	15.429	216531	5.63	46163	5.02	
4	19.544	270393	7.03	51137	5.56	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester
5	22.367	167882	4.36	43303	4.71	Undecane, 3,8-dimethyl-
6	22.870	189930	4.93	47570	5.18	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester
7	23.316	437617	11.37	130142	14.16	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester
8	24.000	136903	3.56	42180	4.59	Hexadecane, 1-iodo-
9	24.785	245800	6.39	72726	7.91	Nonacosane
10	26.724	671775	17.45	231093	25.14	Hexatriacontane
11	26.808	167616	4.36	47430	5.16	Heptacosane, 1-chloro-
12	28.568	310104	8.06	39603	4.31	Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-
13	29.641	170902	4.44	38278	4.16	Octatetracontane, 1-iodo-
14	30.891	245915	6.39	26903	2.93	Octatetracontane, 1-iodo-
		3848796	100.00	919203	100.00	

Figure.3. chromatogramme des échantillons de l'eau de la station EN.

Annexes



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
1	5.857	1394422	1.84	476754	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,3,3-trimethyl-	81.10
2	6.000	37216	0.05	35946	Hexane	57.05
3	6.594	553289	0.73	215699	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)-	95.10
4	7.203	238890	0.32	107252	Pentan-2-ol, 4-allyloxy-2-methyl-	43.05
5	7.293	361249	0.48	167030	Ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)-	45.05
6	7.442	61083	0.08	24334	1,3-cis,5-cis-Octatriene	79.05
7	7.797	49877	0.07	29511	Nonane, 3,7-dimethyl-	57.05
8	8.708	93487	0.12	59643	Bornyl acetate	95.10
9	9.208	45880	0.06	42698	(-)-Myrtenyl acetate	91.05
10	9.450	114466	0.15	34143	3,5-Heptanedione, 4-bromo-2,2,6,6-tetramethyl-	180.90
11	9.550	159948	0.21	49758	2,3-Dimethylloxirane-2-carboxylic acid, methyl ester	43.05
12	9.641	91850	0.12	47896		97.10
13	10.208	83995	0.11	24768	Octane, 4-methyl-	43.05
14	10.346	234513	0.31	138126	1-Tridecene	41.05
15	10.492	147824	0.20	95953	Tetradecane	57.05
16	11.800	182174	0.24	108942	Pentadecane	57.05
17	12.958	149846	0.20	34736	Cyclopropane, 1-methyl-1-(1-methylethyl)-2-nonyl-	97.10
18	13.103	289114	0.38	133835	Hexadecane	57.05
19	14.113	327859	0.43	126950	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl pentadecyl ester	97.10
20	14.389	304874	0.40	109823	Heptadecane	57.05
21	14.556	229073	0.30	70835	2-Hexene, 5,5-dimethyl-, (Z)-	57.05
22	15.649	115726	0.15	62017	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	57.05
23	15.908	233868	0.31	112341	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	149.05
24	16.967	105921	0.14	47912	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	74.05
25	17.001	182788	0.24	91869	Dibutyl phthalate	149.05
26	17.165	292830	0.39	93322	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl heptyl ester	97.10
27	17.355	1403228	1.85	521100	n-Hexadecanoic acid	43.05
28	18.042	156144	0.21	72620	10-Methylnonadecane	57.05
29	18.169	378909	0.50	171551	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl pentadecyl ester	97.10
30	18.580	150957	0.20	74363	3-Heptene, 2,2,4,6,6-pentamethyl-	57.05
31	18.940	195663	0.26	103992	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	55.05
32	19.183	74074	0.10	38497	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	57.05
33	19.250	370187	0.49	90083	2-Naphthalenol, decahydro-	94.10
34	19.320	1412636	1.86	515429	Oleic Acid	55.05
35	19.624	174493	0.23	69687		57.05
36	19.700	151022	0.20	63200		194.00
37	20.242	85725	0.11	41348	3-Hydroxy-3-(2,2,4-trimethylcyclohex-3-enyl)propionic acid	262.10
38	20.275	135069	0.18	55548	Undecane, 3,8-dimethyl-	57.05
39	20.358	130203	0.17	45290	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methyl-	106.05
40	20.424	162354	0.21	80486	1-Naphthalenemethanol, decahydro-5-(5-hydroxy-3-methyl-3-penteny	81.10
41	20.525	107897	0.14	38789	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraen	255.20
42	20.637	284677	0.38	98400	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetra	134.15
43	20.683	219153	0.29	74640	1-Naphthalenepentanoic acid, decahydro-.beta.,5,5,8a-tetramethyl-2-n	137.10
44	20.871	525149	0.69	142909		97.10
45	21.258	160036	0.21	53194	Phosphite, tris(2,4-dimethylpent-3-yl-	99.15
46	21.326	458929	0.61	165510	Heicicosane	57.05
47	21.426	3090117	4.08	781438	2-Propen-1-one, 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl-, (E)-	270.10
48	21.799	318904	0.42	139883	Bis(2-ethylhexyl) methylphosphonate	97.10
49	21.862	746637	0.99	260523	1-Naphthalenecarboxylic acid, decahydro-1,4a-dimethyl-6-methylene-	121.10
50	22.074	4156743	5.49	2144549	Hexatriacontane	57.05
51	22.174	246634	0.33	105786	2,4,4,6,6,8,8-Heptamethyl-1-nonene	113.15
52	22.237	2650228	3.50	665703		256.10

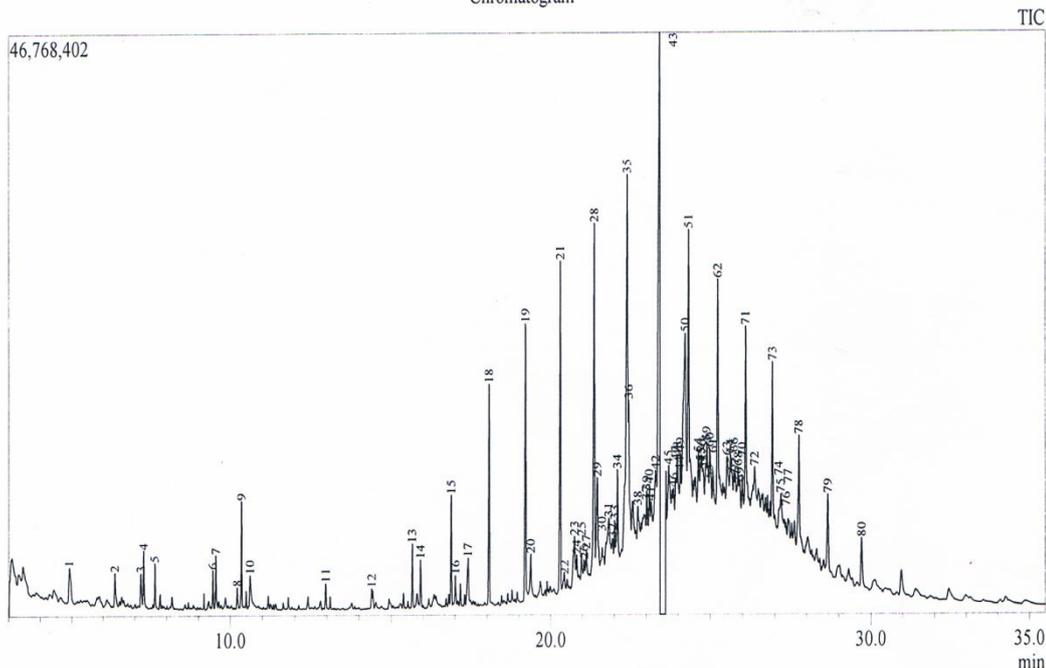
Annexes

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
53	22.342	394729	0.52	157076	Heneicosane	57.05
54	22.400	276030	0.36	81225		115.10
55	22.517	257015	0.34	49620		175.10
56	22.625	341463	0.45	134217	Androstan-3-ol, 9-methyl-, acetate, (3.beta.,5.alpha.)-	108.05
57	23.024	179488	0.24	81040	9-Hexacosene	97.10
58	23.120	481118	0.64	118983	1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-2-hydroxy-.alpha.,2	107.10
59	23.233	1226436	1.62	338409	Naringenin	153.05
60	23.314	2469334	3.26	731144	Di-n-octyl phthalate	149.05
61	23.570	518360	0.68	130553	1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.	41.05
62	23.899	624440	0.82	148726	Naringenin	153.05
63	24.048	9675732	12.77	1456615	Naringenin	153.05
64	24.250	1121108	1.48	277074		71.10
65	24.417	1036123	1.37	115696		194.00
66	24.539	1000473	1.32	257870	Phenol, 3-pentadecyl-	108.10
67	24.657	2313660	3.05	323869	4H-1-Benzopyran-4-one, 3,5,7-trihydroxy-2-phenyl-	270.10
68	24.805	2044087	2.70	271395	4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-6,7-dimethc	314.15
69	24.908	360811	0.48	165916		148.10
70	25.035	656235	0.87	180620	Bis(2-ethylhexyl) methylphosphonate	97.10
71	25.166	250081	0.33	95032	Heneicosane	57.05
72	25.216	157713	0.21	80446		254.10
73	25.369	414562	0.55	115331	Tetrapentacontane, 1,54-dibromo-	113.15
74	25.567	834338	1.10	106430		93.10
75	26.042	79787	0.11	43700	Tetratetracontane	57.05
76	26.731	1458519	1.93	407071	4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-6,7-dimethc	314.10
77	27.086	1537059	2.03	284371	1-Pentanone, 1-[(5.alpha.)-androstan-17-yl]-	344.10
78	27.183	735112	0.97	153757	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl pentadecyl ester	97.10
79	27.308	167928	0.22	51826		267.10
80	27.544	1765025	2.33	195410	9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3.beta.,4.al	43.05
81	27.783	363465	0.48	49959		343.10
82	27.908	314197	0.41	97697	Urs-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	218.20
83	27.965	721615	0.95	174196	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl octadecyl ester	97.10
84	28.316	119169	0.16	55662	Borinic acid, diethyl-, (2-ethyl-1,3,2-dioxaborolan-4-yl)methyl ester	113.15
85	28.615	388912	0.51	108263	Lupa-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	69.05
86	28.931	404097	0.53	92383	Lupa-13(18),22-dien-3-ol, acetate	203.15
87	29.240	2078475	2.74	290976	6.beta.Bicyclo[4.3.0]nonane, 5.beta.-iodomethyl-1.beta.-isopropenyl-4	109.10
88	29.574	1047286	1.38	138980		122.15
89	30.158	125522	0.17	27813		205.15
90	30.304	1086681	1.43	176083	9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3.beta.)-	107.10
91	32.440	1619679	2.14	241651	9,19-Cyclolanost-23-ene-3,25-diol, (3.beta.,23E)-	135.15
92	32.663	672139	0.89	130100	9,19-Cyclolanost-23-ene-3,25-diol, (3.beta.,23E)-	135.10
93	32.808	1228024	1.62	182373	6.beta.Bicyclo[4.3.0]nonane, 5.beta.-iodomethyl-1.beta.-isopropenyl-4	122.10
94	32.925	685893	0.91	156784	(-)-Caryophyllene-(11)	93.10
95	33.131	2393425	3.16	344064		135.10
96	33.408	1398946	1.85	243340	9,19-Cyclolanost-23-ene-3,25-diol, (3.beta.,23E)-	107.10
97	33.494	1793193	2.37	333784	Thunbergol	122.15
98	34.050	2545449	3.36	450846	9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3.beta.)-	107.10
99	34.242	368640	0.49	48050		189.10
		75759403	100.00	19053037		

Figure.4. chromatogramme des échantillons de s sédiments de la station BH

Annexes

Chromatogram



Peak Report TIC

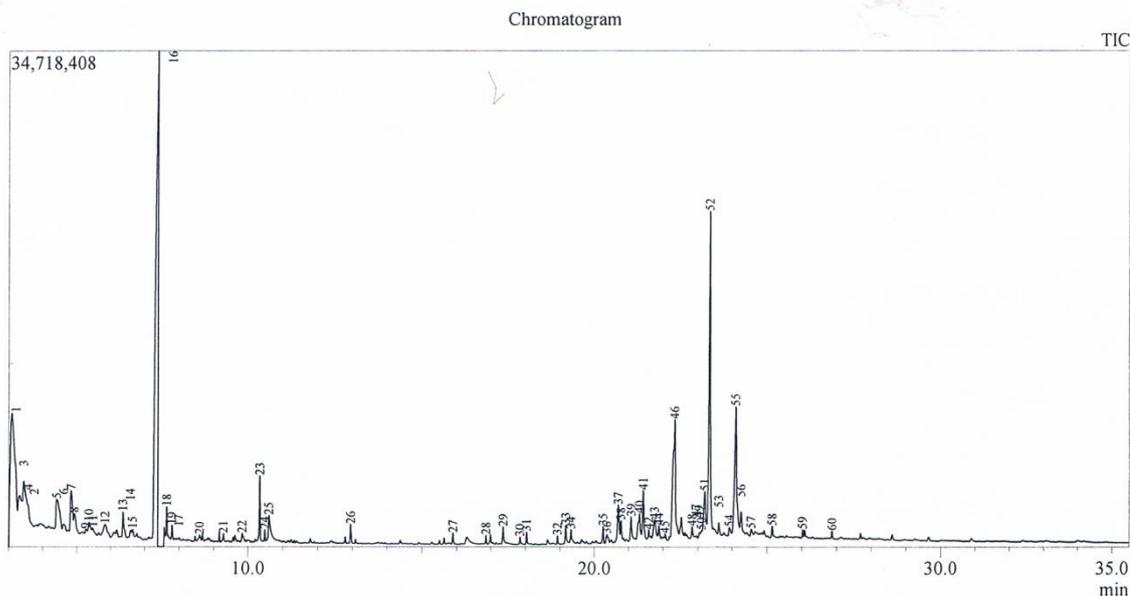
Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
1	4.922	12068214	0.51	2711202	2-Hexanone, 5-methyl-	43.00
2	6.371	7264474	0.31	2600379	Dodecane	43.05
3	7.190	7109866	0.30	2666351	2,4-Dimethyl-2,4-pentanediol	59.00
4	7.281	9126461	0.39	4433393	Ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)-	45.05
5	7.636	6111648	0.26	3512345	1-Tridecene	43.05
6	9.459	5280582	0.22	3004974	Methyl 3-(dichloromethyl)-4,4-dichloro-2-butenolate	180.85
7	9.552	8114149	0.34	4182433	2,3-Dimethyloxirane-2-carboxylic acid, methyl ester	43.00
8	10.214	3640859	0.15	1664489	Benzene, 1,2-bis(hexyloxy)-4-nitro-	43.00
9	10.351	14717249	0.62	8534651	3-Octadecene, (E)-	97.10
10	10.617	7176341	0.30	2394627	Benzaldehyde, 2-hydroxy-4-methyl-	136.05
11	12.968	3638581	0.15	2021762	1-Nonadecene	43.05
12	14.394	4587428	0.19	1387866	Heptadecane	57.05
13	15.656	9519507	0.40	5050962	Octadecane	43.05
14	15.916	6671494	0.28	3709340	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	149.05
15	16.881	16878914	0.71	8711867	Eicosane	57.05
16	17.014	4144867	0.17	2239455	Dibutyl phthalate	149.00
17	17.407	9932848	0.42	3544980	n-Hexadecanoic acid	43.05
18	18.068	33908131	1.43	17482293	Eicosane	57.05
19	19.212	51598126	2.18	22044616	Tetracosane	57.05
20	19.372	11309705	0.48	3378775	9-Octadecenoic acid, (E)-	55.00
21	20.316	60430637	2.55	26328145	Tetracosane	57.05
22	20.442	4502852	0.19	1110886		97.10
23	20.752	14501031	0.61	3827288	4-Hexen-1-ol, 6-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-4-methyl-, (E)-	137.15
24	20.826	6715454	0.28	2398780	1H-Indene, 2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-, trans-	191.15
25	20.979	10846407	0.46	2631810	Nonacosane	57.05
26	21.061	7223385	0.30	2234095		57.05
27	21.124	10038926	0.42	3081852	1-Naphthalenepentanoic acid, 1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-beta,2,5,5	109.10
28	21.380	93464163	3.95	29419075	Tricosane	57.05
29	21.468	38674531	1.63	9134423	2-Propen-1-ol, 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl-, (E)-	270.10
30	21.617	28574758	1.21	3594791	Scleral (sclareolide lactol)	69.05
31	21.832	45434227	1.92	6254161	1-Bromo-4-bromomethyldecane	41.00
32	21.950	27323426	1.15	4742838	Heneicosane, 11-decyl-	71.10
33	22.009	17533016	0.74	6243363	Nonacosane	57.05
34	22.102	43466505	1.84	10366119	3-Methyltricosane	57.05
35	22.409	183540110	7.75	34306070	Tetracosane	57.05
36	22.453	58703595	2.48	16238459	2,4a,8,8-Tetramethyldecahydrocyclopropa[d]naphthalene	69.05
37	22.570	45263911	1.91	8274186	9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3.beta.,4.alpha)	97.10
38	22.733	138308069	5.84	7994392	Pentatriacontane	57.05
39	23.011	28600639	1.21	9467157	Hexatriacontane	57.05
40	23.096	41454932	1.75	10062299	13,17,21-Trimethylheptatriacontane	57.05
41	23.151	32307783	1.36	8748809	Cyclohexane, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-	82.10
42	23.300	78719815	3.32	11365690	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)	189.10
43	23.423	186938601	7.89	46750949	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ditridecyl ester	149.05
44	23.625	25163899	1.06	11302663	17-Pentatriacontene	57.05
45	23.704	66619982	2.81	11303083	Tetatriacontane	57.05
46	23.855	56989555	2.41	8661895	Oxalic acid, isohexyl tetradecyl ester	85.10
47	23.925	29351157	1.24	9018634		71.10
48	23.979	44558923	1.88	10463364	Pentatriacontane	57.05
49	24.070	34533616	1.46	10260046		57.05
50	24.222	137666956	5.81	18957848	2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	189.10
51	24.333	81420419	3.44	26653283	Tetrapentacontane	57.05
52	24.392	33949761	1.43	7651816		57.05

Annexes

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
53	24.542	42710072	1.80	5491747	Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol	97.10
54	24.633	29579668	1.25	7076196	Tetracontane	57.05
55	24.700	14062534	0.59	5965636	Oxalic acid, cyclohexylmethyl tetradecyl ester	97.10
56	24.733	14351507	0.61	6377600	Hentriacontane	57.05
57	24.783	14124579	0.60	4851843	Docosane, 2,4-dimethyl-	85.10
58	24.850	15211694	0.64	4741071		70.10
59	24.894	23123113	0.98	6511069	Triacotane	57.05
60	24.987	19640882	0.83	5506910	Tetratetracontane	57.05
61	25.084	9536610	0.40	3109313	n-Heptadecylcyclohexane	82.10
62	25.234	39531943	1.67	16661614	Triacotane	57.05
63	25.522	12841228	0.54	3464734	Tetratriacontane	57.05
64	25.629	12146014	0.51	3766923		57.05
65	25.675	4524317	0.19	2411637		85.10
66	25.734	5847729	0.25	2695136		57.05
67	25.783	6332268	0.27	2483987	Tetracosane	57.05
68	25.866	9693818	0.41	3150050	Octadecane, 3-methyl-	57.05
69	25.917	3944747	0.17	1964724	Cyclopentane, decyl-	68.05
70	25.991	5643091	0.24	2508245	n-Heptadecylcyclohexane	82.10
71	26.103	34014317	1.44	13992085	Triacotane	57.05
72	26.373	4713169	0.20	1889224	Triacotane	57.05
73	26.940	26926559	1.14	12446950	Triacotane	57.05
74	27.125	5647992	0.24	1244553	1-Tetracosanol	83.10
75	27.195	9137915	0.39	2740053	Tetratriacontane	57.05
76	27.358	4320823	0.18	747106	Oxalic acid, cyclohexylmethyl octadecyl ester	97.10
77	27.416	4936734	0.21	1338008		57.05
78	27.757	20938071	0.88	8317116	Hexatriacontane	57.05
79	28.658	17122205	0.72	5943797	Hexatriacontane	57.05
80	29.709	12456742	0.53	3881575	Pentatriacontane	57.05
		2368680826	100.00	625403931		

Figure.5. chromatogramme des échantillons des sédiments de la station BH

Annexes



Peak Report TIC

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
1	3.094	92926310	14.38	9086121	Benzene, 1,3-dimethyl-	91.10
2	3.329	17584478	2.72	2740475	o-Xylene	91.05
3	3.442	25774877	3.99	3427465		57.05
4	3.575	3726767	0.58	1417351		57.05
5	4.412	14072133	2.18	2030935	2-Butanol, 3-methyl-, acetate	43.00
6	4.616	2065455	0.32	397343	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	105.10
7	4.837	11783399	1.82	2859189	Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl-	57.05
8	4.926	6150931	0.95	1321451		43.05
9	5.258	1097759	0.17	279949	Hexanoic acid, 3-oxo-, ethyl ester	71.05
10	5.360	3556937	0.55	771957	Acetophenone	105.05
11	5.475	1348539	0.21	362756	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	57.05
12	5.841	2943727	0.46	559203	2-Butanol, 3-(2,2-dimethylpropoxy)-	71.05
13	6.361	5583453	0.86	1753465	Undecane	57.05
14	6.583	1671890	0.26	481509	2-Hydroxypentadecyl propanoate	57.05
15	6.647	1497014	0.23	554730	2,6-Dimethyl-6-nitro-2-hepten-4-one	83.05
16	7.375	169894337	26.30	34374124	Ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)-	57.05
17	7.567	2515499	0.39	1262690	1,6-Anhydro-2,4-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranose	57.05
18	7.638	5291152	0.82	2583826	1-Dodecanol	55.05
19	7.795	3959143	0.61	1070575	Dodecane	57.05
20	8.593	1495087	0.23	423951	1,3,2,5-Dimethylene-l-rhamnitol	57.05
21	9.290	1143271	0.18	529210	Triacetin	43.00
22	9.834	1825298	0.28	554513	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	71.05
23	10.339	8156886	1.26	4535556	1-Pentadecene	55.05
24	10.482	1105462	0.17	767420	Tetradecane	57.05
25	10.603	6994657	1.08	1709116	Benzaldehyde, 2-hydroxy-4-methyl-	136.05
26	12.956	2271236	0.35	1295229	1-Nonadecene	83.10
27	15.894	1492554	0.23	764570	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	149.05
28	16.855	1040533	0.16	586984	Eicosane	57.05
29	17.356	2770672	0.43	1148762	n-Hexadecanoic acid	73.05
30	17.840	1015730	0.16	492076	Phthalic acid, methyl octyl ester	163.05
31	18.035	1529748	0.24	811522	Eicosane	57.05
32	18.926	1055197	0.16	570787	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	55.05
33	19.169	2878126	0.45	1221153	Eicosane	57.05
34	19.318	1585754	0.25	778014	9-Octadecenoic acid, (E)-	55.05
35	20.266	2295460	0.36	1142073	Tetracosane	57.05
36	20.369	1662636	0.26	568435	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-	107.10
37	20.708	6911702	1.07	2441572	4-Hexen-1-ol, 6-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-4-methyl-, (E)-	137.15
38	20.781	2991638	0.46	1331192	1H-Indene, 2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-, trans-	191.15
39	21.076	4352851	0.67	1635525	1-Naphthalenepentanoic acid, 1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro- β -,2,5,5	109.10
40	21.316	9069758	1.40	1854449	Eicosane	57.05
41	21.428	10530172	1.63	3481848	2-Propen-1-one, 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl-, (E)-	270.10
42	21.588	2136104	0.33	721040	4a,7,7,10a-Tetramethyl-dodecahydro-benzo[f]chromen-3-one	69.05
43	21.756	8267628	1.28	1437059	2-Propenoic acid, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-	163.05
44	21.878	3275870	0.51	1012821	Thunbergol	121.10
45	22.061	2121427	0.33	439778	3-Methyltricosane	57.05
46	22.336	45703455	7.07	8312081	2,4a,8,8-Tetramethyldecahydrocyclopropa[d]naphthalene	69.05
47	22.529	4858358	0.75	1369937	9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3 β ,4 α)	189.15
48	22.841	1731704	0.27	744794	Longifolenaldehyde	109.10
49	23.042	1009764	0.16	306047	Tetrapentacontane, 1,54-dibromo-	57.05
50	23.108	1001599	0.16	376389		82.10
51	23.208	12675370	1.96	2953034	2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	189.15
52	23.348	63041442	9.76	22321414	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	149.05

Annexes

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Name	Base m/z
53	23.618	2134688	0.33	822252	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.)]	121.10
54	23.926	1879095	0.29	562155	Naringenin	153.05
55	24.104	39367137	6.09	8857751	Cedran-diol, 8S,14-	153.05
56	24.257	4394616	0.68	1426965	Triacontane, 1-bromo-	57.05
57	24.553	1226936	0.19	418224	Hexasiloxane, tetradecamethyl-	73.05
58	25.154	1451282	0.22	733214	Nonacosane	57.05
59	26.028	1046350	0.16	546827	Nonacosane	57.05
60	26.874	1063829	0.16	526429	Hexatriacontane	57.05
		646004882	100.00	149867282		

Figure.6. chromatogramme des échantillons des sédiments de la station EN.

Annexe III. Matériel supplémentaire.**Table S1**

Water temperature and pH in Beni Haroun dam lake waters along the study period.

Month	Sampling site	Temperature (°C)	pH
March 2015	RH	14.1±0.3	7.4
	BH	16.1±0.5	7.5
	EN	17.5±0.1	7.4
May 2015	RH	23.1±0.3	7.7
	BH	24.2±0.1	7.8
	EN	21.1±0.1	7.6
August 2015	RH	26.2±0.1	8.0
	BH	25.7±0.1	8.3
	EN	24.9±0.1	8.0
October 2015	RH	19.8±0.1	7.7
	BH	19.1±0.1	7.7
	EN	18.7±0.1	7.9
January 2016	RH	8.2±0.1	7.5
	BH	10.1±0.1	7.4
	EN	9.2±0.1	7.6

Table S2

Weight, length, condition factor(CF) and hepatosomatic index (HSI) of female and male barbel (*Barbuscallensis*) used in this study.

Month	Station	Sex	n	Weight (g)	Length (cm)	CF	HSI
March 2015	RH	M	1	473	25.5	1.82	1.26
		F	4	416±40.8	24.3±0.6	1.70±0.13	1.21±0.03
		Tot	5	438.8±43.9	24.8±0.6	1.75±0.14	1.23±0.02
	BH	M	1	399	23.5	1.30	1.03
		F	4	569.33±95.7	25.0±1.2	2.22±0.29	1.03±0.09
		Tot	5	501.2±69.0	24.4±0.8	2.02±0.21	1.03±0.06
	EN	M	3	487.33±36.3	24.0±0.8	2.02±0.09	1.06±0.11**
		F	2	453±16.2	23.5±0.4	1.92±0.02	1.32±0.02**
		Tot	5	473.6±21.8	23.8±1.0	1.98±0.058	1.17±0.09
May 2015	RH	M	3	392.66±36.1	27.3±1.3	1.43±0.08	0.90±0.05*
		F	3	600±47.8	31.0±0.04	1.92±0.09	0.65±0.02*
		Tot	6	496.33±42.3	29.2±0.7	1.68±0.1	0.77±0.05 ^a
	BH	M	4	477.25±48.6	30.0±0.8	1.57±0.12	0.92±0.05
		F	2	688.0±134.0	33.5±2.8	2.02±0.23	0.69±0.05
		Tot	6	547.5±49.0	31.2±0.9	1.72±0.11	0.84±0.05
	EN	M	4	473±40.0	28.5±0.9	1.64±0.08	0.85±0.05
		F	1	703.0	34.0	2.06	0.94
		Tot	5	519±53.4	29.6±1.2	1.73±0.10	0.87±0.05 ^a
August 2015	RH	M	4	210.33±25.6	18±1.2	1.15±0.07**	1.86±0.11*
		F	2	564.5±4.5	29.5±0.4	1.91±0.01**	1.08±0.02*
		Tot	6	376.55±76.2	22.6±2.5	1.45±0.16 ^{Aa}	1.55±0.10 ^{Ab}
	BH	M	4	286±8.9	22.5±0.4	1.27±0.16**	1.13±0.03*
		F	2	710.75±54.0	30.75±1.5	2.31±0.14**	0.94±0.02*
		Tot	6	569.16±95.9	28±2.0	1.96±0.23 ^a	1.01±0.04
	EN	M	3	632.0±81.1	28.66±1.9	2.18±0.18	0.91±0.03
		F	3	1156.0±13.0	41±0.8	2.82±0.24	0.87±0.02
		Tot	6	841.6±121.05	33.6±2.9	2.43±0.16 ^B	0.90±0.02 ^B
October 2015	RH	M	2	914.5±5.2	37.5±0.6	2.43±0.02**	1.01±0.03
		F	3	563.5±77.5	30.5±1.8	1.82±0.15**	1.10±0.05
		Tot	5	680.5±88.75	32.83±1.9	2.02±0.16	1.07±0.04 ^A
	BH	M	4	775.25±45.4	34.75±0.3	2.23±0.13	0.98±0.03
		F	2	870±23.0	35.5±0.6	2.45±0.02	0.93±0.01
		Tot	6	806.83±38.8	35±0.3	2.30±0.10 ^{Ab}	0.96±0.02 ^B
	EN	M	6	404.2±38.9	26.75±0.6	1.50±0.12	1.33±0.03
		F	2	525.0±4.1	27.5±0.4	1.90±0.01	1.25±0.01
		Tot	8	434.4±32.1	26.93±0.3	1.60±0.10 ^B	1.31±0.02 ^{Cb}
January 2016	RH	M	6	708.0±5.8	30.27±0.3	2.33±0.01	1.10±0.02
		F	0				
		Tot	6	708.0±5.8	30.27±0.3	2.33±0.01 ^{Ab}	1.10±0.02
	BH	M	3	356.7±16.7	27.66±1.0	1.28±0.02***	1.33±0.05*
		F	3	745.7±17.6	35.33±1.3	2.11±0.03***	0.96±0.04*
		Tot	6	551.2±79.4	31.5±1.6	1.70±0.17 ^B	1.15±0.08
	EN	M	6	547.0±63.1	30.3±0.9	1.8±0.15	0.98±0.02
		F	0				
		Tot	6	547.0±63.1	30.3±0.9	1.77±0.15 ^B	0.98±0.02

Values are presented as mean± SEM. M, males.F, females.Tot, totals (i.e males and females).n is the number of fish. Different superscript capital letters denote significant ($p<0.05$) differences among sampling sites at a given sampling time. Different superscript lowercase letters denote significant ($p<0.05$) differences among sampling times for a same sampling place. Differences between males and females are indicated by asterisks (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$).

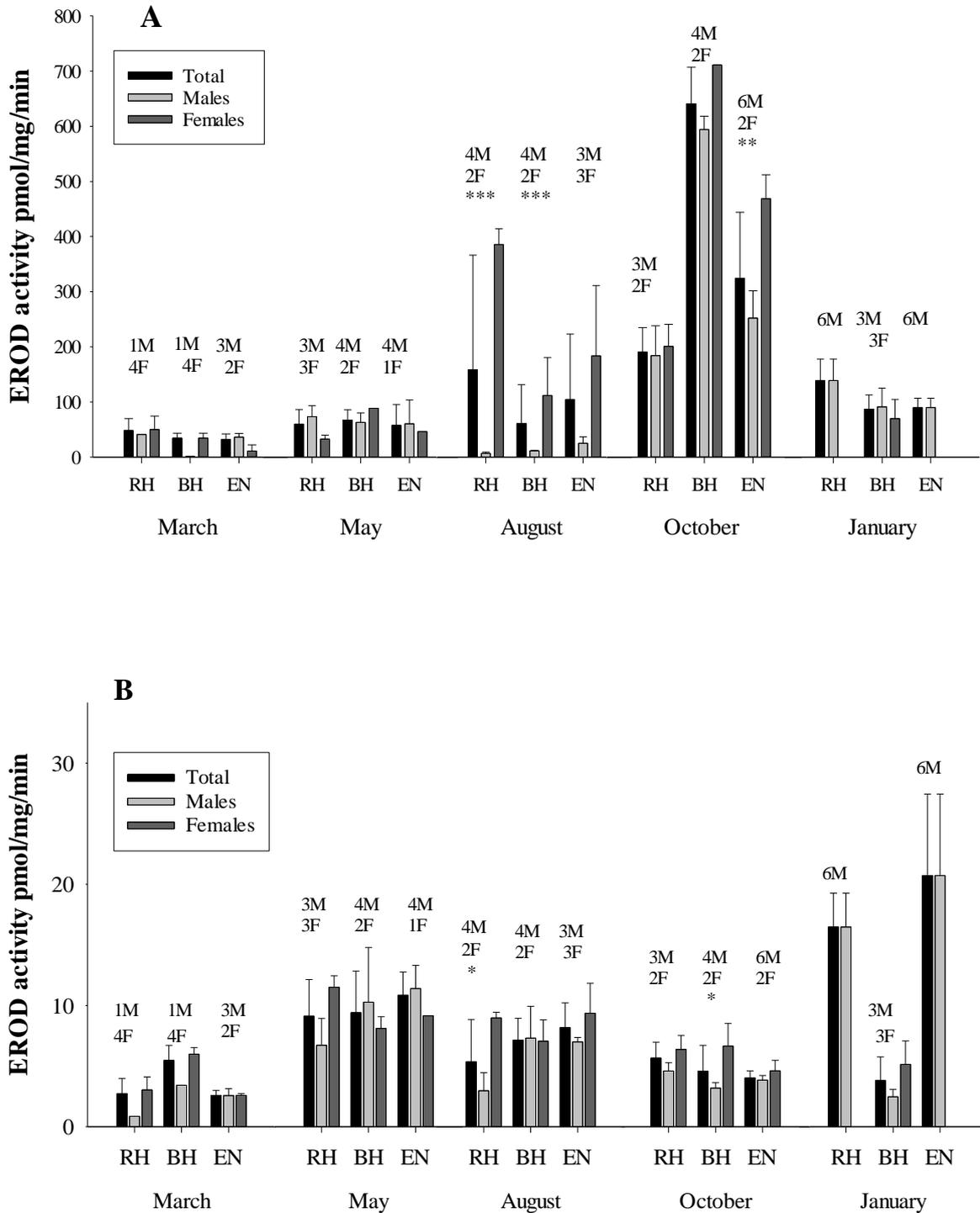


Figure .S1. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in barbel (*Brabus callensis*) collected at Beni Haroun Dame Lake from March2015 to January 2016. (A) EROD values in liver. (B) EROD values in Gills. Bars represent mean values \pm standard error of the mean (SEM). Fish number for each gender each time and sampling point appear in Arabic numbers. Differences between males and females are indicted by Asterisks (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

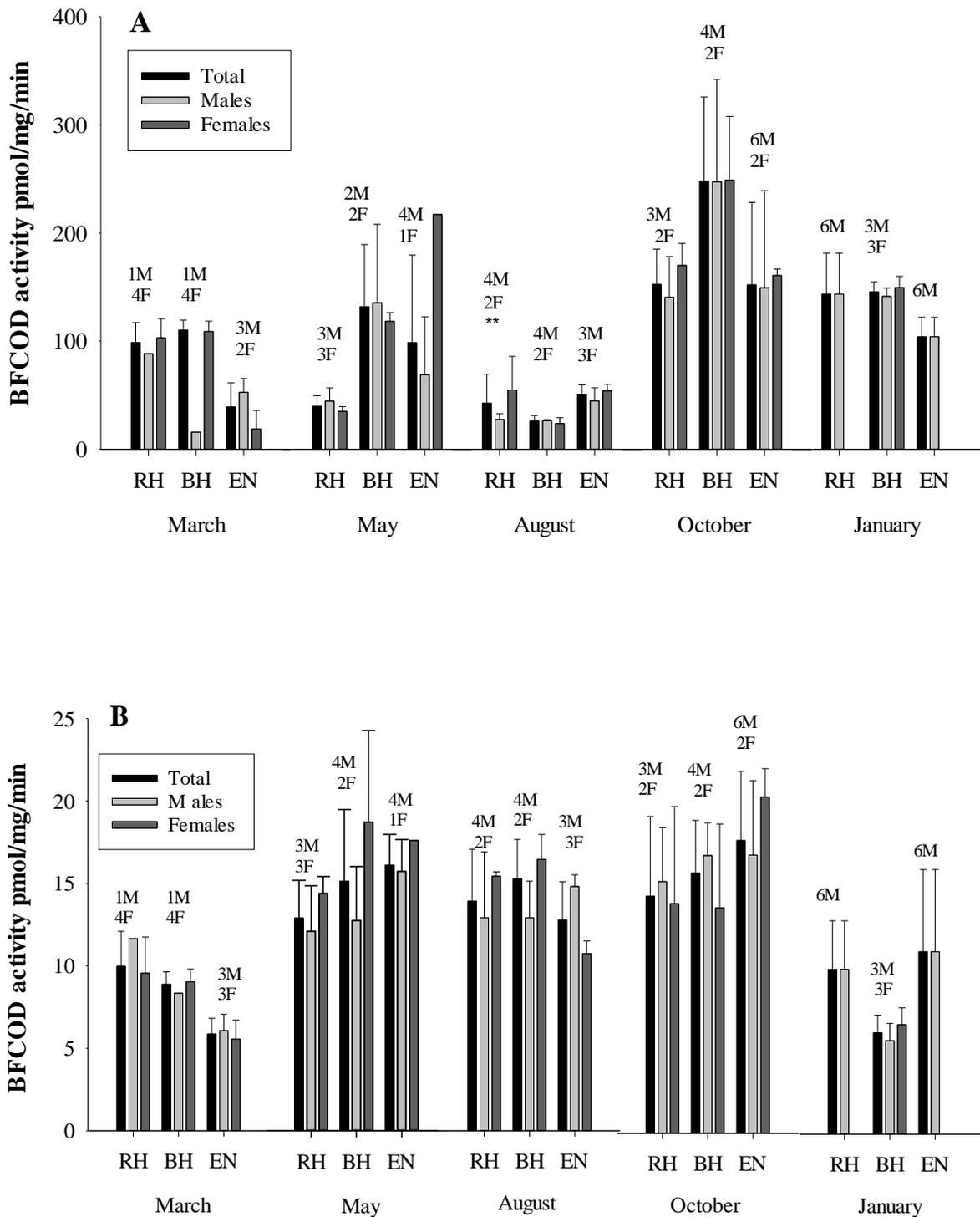


Fig. S2. Benzoyloxy-4-[trifluoromethyl]-coumarin-O-debenzyloxylase (BFCOD) in barbel (*Brabus callensis*) collected at Beni Haroun Dame Lake from March 2015 to January 2016. (A) BFCOD values in liver. (B) BFCOD values in Gills. Bars represent mean values \pm standard error of the mean (SEM). Fish number for each gender each time and sampling point appear in Arabic numbers. Differences between males and females are indicated by Asterisks (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)



Contents lists available at ScienceDirect

Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecoenv

Induction of EROD and BFCOD activities in tissues of barbel (*Barbus callensis*) from a water reservoir in Algeria



Safia Habila^{a,b,c}, Essaid Leghouchi^c, Ana Valdehita^a, Azucena Bermejo-Nogales^a, Smail Khelili^d, José M. Navas^{a,*}

^a Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Crta. de la Coruña, km. 7, 5, 28040 Madrid, Spain

^b Département d'Ecologie et Génie de l'Environnement., Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université 08, Mai 1945 Guelma, BP 401, 24000 Guelma, Algeria

^c Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé, Université Mohammed Seddik Benyahya, Jijel, BP 98, Ouled Aissa, Jijel 18000, Algeria

^d Laboratoire de Pharmacologie et Phytochimie, Université Mohammed Seddik Benyahya, Jijel, BP 98, Ouled Aissa, Jijel 18000, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Fish
Biomarkers
Pollution
POPs
Sediments

ABSTRACT

EROD and BFCOD activities were measured in liver and gills of barbel (*Barbus callensis*, a native North African species) captured at Beni Haroun lake, the most important water reservoir in Algeria. This lake receives wastewater from different origins. Thus, we assessed the level of pollution through the induction of detoxification activities in tissues of barbel, evaluating simultaneously the suitability of this species to be used as a sentinel. Fish were collected between March 2015 and January 2016 at three locations taking into account the pollution sources and accessibility. In liver, EROD and BFCOD showed the highest induction in October specially in the location of the dam that received pollutants. In gills, only EROD, but not BFCOD, activity was detected. Maximal EROD induction was noted in samples from January. Fish cell lines (RTG-2 and PLHC-1) were exposed to sediments extracts collected at Beni Haroun lake and enzyme activities (EROD and BFCOD, respectively) were measured. Sediment extracts did not induce BFCOD activity. The EROD induction observed in RTG-2 cells was in line with the results observed in fish tissues. Our results suggest that the lake is at risk from pollution and that *Barbus callensis* is a good sentinel species.

1. Introduction

As a result of industrial, agricultural, and commercial activities, the aquatic environment is becoming increasingly threatened by an alarming number of foreign chemicals (Ben Ameura et al., 2012; Murchelano, 1990). Some of these pollutants show high persistence and lipophilicity, with a tendency to bioconcentrate and bioaccumulate at higher trophic levels (Deribe et al., 2011; Riva et al., 2008). This would be the case of a number of substances classified as persistent organic pollutants (POPs. Stockholm Convention, 1999) that include, among others, polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins, and polyaromatic hydrocarbons (PAHs). The aquatic environment constitutes the final fate for these compounds after deposition from air, by direct spillage, or after run-off and leakage processes. Once in water courses and due to their medium to low polarity these chemicals preferentially sorb to organic particles and are deposited in sediments (Keiter et al., 2008; Yang et al., 2007). Since pollutants may be remobilized under certain environmental conditions, the sediments can also become a potential source of

contamination for aquatic organisms (Hallare et al., 2011; Soares-Rocha et al., 2015).

Chemical analysis can give some valuable information about water and sediment contamination levels (Bozcaarmutlu et al., 2009). However, they do not allow the monitoring of the uncountable number of pollutants present in waters (Van der Oost et al., 2003). Furthermore, the concentration of these substances mostly lie below the detection limit of analytical methods (Wan et al., 2015) and chemical analyses can not reflect the complex interactions among chemicals that lead to additive, synergistic and antagonistic effects (Valdehita et al., 2016). As an alternative to avoid all these issues, biomarkers have emerged in the last years as a very useful tool for environmental quality monitoring since they allow the assessment of global effects of substances on biota reflecting the whole effect of the plethora of chemicals present in any sample, at any concentration, taking also into account their interactions (Güngördü and Ozmen, 2011; Ozmen et al., 2008; Quesada-García et al., 2013; et al., 2015). Biomarkers are cellular, biochemical, molecular, or physiological changes measured in cells, body fluids, tissues,

* Correspondence to: Departamento de Medio Ambiente, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Crta. de la Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain.

E-mail address: jmnavas@inia.es (J.M. Navas).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.055>

Received 30 December 2016; Received in revised form 30 March 2017; Accepted 31 March 2017

0147-6513/ © 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

or organs and that serve as indicators of xenobiotic exposure and/or effects (Lam and Gray, 2003; Moore et al., 2006; Sanchez et al., 2008). One of the key advantages of biomarkers is that they can, if used correctly, provide an early warning related to the sub-lethal toxicity of contaminants in different environmental compartments (Mierzejewski et al., 2014; Picado et al., 2007; Turja et al., 2014).

Aquatic organisms will defend against the toxic insult of pollutants by the induction of a number of key enzymes, including those of biotransformation systems (Ozmen et al., 2006). Specifically, the cytochrome P450 (CYP) enzymes represent a superfamily of hemoproteins that catalyze Phase I metabolic reactions to produce more polar molecules from foreign compounds (Burkina et al., 2015; Quesada-García et al., 2013). Particular attention has been paid to CYP1A, which is induced after activation of the aryl hydrocarbon receptor (Ahr) by a number of pollutants including dioxins, PCBs and PAHs (Behrens and Segner, 2005; Chivittz et al., 2016; Ortiz-Delgado et al., 2008; Whyte et al., 2000). CYP1A induction can be evidenced at the enzymatic level by measuring the activity of enzymes dependent of this cytochrome, for instance 7-ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) (Danion et al., 2014; Viarengo et al., 2007; Whyte et al., 2000; Wunderlich et al., 2015; Zheng et al., 2016). Another cytochrome pertaining to this family, CYP3A is involved in the metabolism of an extensive range of drugs and can be strongly induced in fish by a variety of structurally unrelated xenobiotics (Li et al., 2008). The 7-benzoyloxy-4-trifluoromethylcoumarin-O-debenzoyloxylase (BFCOD) enzyme activity has been frequently used to evidence CYP3A induction (Della Torre et al., 2010; Hasselberg et al., 2008; Quesada-García et al., 2013).

Among aquatic organisms, fish present some features that make them ideal candidates to be used as sentinels of pollution (Güngördü et al., 2012; Van der Oost et al., 2003; Whyte et al., 2000; Yildirim et al., 2014). The size of a number of species is appropriate to make macroscopic observations or to obtain tissues in a quantity high enough for analyses. Furthermore, fish can be found virtually everywhere in the aquatic environment and they play a major ecological role in the aquatic food webs due to their function as a carrier of energy from lower to higher trophic levels. In addition, they bioaccumulate toxic substances.

The induction of some biomarkers due to the presence of pollutants in a complex environmental sample can also be assessed in the laboratory by exposing cell lines to appropriate concentrations of extracts of this sample. From an ecotoxicological point of view, fish cell lines appear as particularly relevant for this purpose and have been previously used for that (Boronat et al., 2009; Quesada-García et al., 2015) since their structures (for instance plasma membrane), metabolic pathways, receptors, or enzymes are a reflection of those working in the whole organism.

The main objective of this work was to evaluate the presence of pollution in one of the most important water reservoirs of North Africa by measuring detoxification enzyme activities in fish captured in the lake and by evaluating the induction of the same enzyme activities *in vitro* using cultured fish cell lines that were exposed to extracts of lake sediments collected in the same places as fishes. In addition, we wanted to determine the suitability of barbel (*Barbus callensis*, Cyprinidae), a native north African fish species, to be used as bioindicator. Since this is an omnivore and benthic fish it will be exposed to pollutants not only through water, but also through direct contact with the sediment and through different food kinds. In addition, the widespread distribution of this species makes it a suitable model to be used in different geographical locations.

The water reservoir object of this study is the Beni Haroun dam lake, located on the north eastern part of Algeria (Fig. 1) (36° 33' 18.55" N; 6° 16' 10.93" E) and built on Kebir river, at the confluence between Rhumel and Endja rivers. It is the largest dam in Algeria covering an area of 5328 km². The reservoir storage capacity is of about 960 × 10⁶ m³. It serves drinking water to six provinces with a total population of 4 × 10⁶ people and irrigates 40,000 ha. It is also an

important fishery resource. Despite its importance, Beni Haroun dam lake is also the sink of domestic sewages and industrial wastewaters such as textile, mechanical engineering industry, tobacco industry, petrochemistry and cement plants (Kerdoud, 2006), that constitute a serious threat for the maintenance of water quality. In this work, we have measured the induction of EROD and BFCOD activities in gill and liver of barbel collected in three different places of this water reservoir at different seasons. In addition, in order to generate information that could help explain the observed inductions *in vivo*, we have measured the same enzyme activities *in vitro* in fish cell lines exposed to extracts of sediments collected in the same places as barbel.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and reagents

All reagents and chemicals were purchased from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain) at least that otherwise stated. Tris-HCl, sucrose, and KCl were from Panreac. L-glutamine (200 mM), fetal bovine serum (FBS), penicillin and streptomycin (10,000 U/mL), non essential amino acids (NEAA), and Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) were obtained from Lonza.

2.2. Sampling sites

Fish and sediments were sampled at three different sites in Beni Haroun dam lake as represented in Fig. 1. For the selection of the sampling sites we took into account possible pollution sources and accessibility. The first station (RH) is situated in Rhumel river estuary, which receives industrial and domestic waste water from Constantine (with a total population of approx. 940,000). The second station (EN) is situated at the Endja river estuary. This station is known to receive sewage waters from some municipalities (total population of approx. 770,000 people) of the province of Mila. The third station is situated on the basin (BH) of the Beni Haroun dam. This station, being situated in the water exit of the dam, would serve as a final sentinel of the pollutants received at both previous stations.

2.3. Fish sampling

Five sampling campaigns were carried out seasonally (March 2015, May 2015, August 2015, October 2015, and January 2016) at each sampling site. In total 87 barbel specimens were collected by local fishermen using fishing nets. Animals were anesthetized using ethyl-aminobenzoate methanesulfonate (MS222) and sacrificed. After recording weight and total length, gill and liver tissues were removed and subjected to macroscopic examination to detect any abnormality. Liver weight was recorded. Tissues were deposited on ice, transferred to laboratory in ice boxes, and stored at -80 °C until EROD and BFCOD activities were measured. For each specimen, condition factor (CF = 1000 × body weight/length³) and hepatosomatic index (HSI = liver wet weight/total bodyweight × 100) were calculated according to Janssen et al. (1995) and Sloof et al. (1983).

2.4. Sediments sampling and extraction

Three sediment samples were collected per station and sampling campaign (45 samples in total). These three samples of sediments were mixed and stored at -80 °C. Thereafter, they were freeze dried, crushed, passed through a 0.5 mm sieve and then stored at -20 °C until submitted to extraction. For that, 2 g of each frozen dry sediment sample was immersed in 20 mL of methanol and sonicated at 18 kHz for 60 s in ice using a Vibra Cell TM ultrasonic probe (Sonic & Materials Inc., Newton, CT, USA). Thereafter, samples were centrifuged at 17,000g for 10 min, the supernatant was collected and passed through a 45 µm filter, evaporated until dryness by means of a vacuum dry

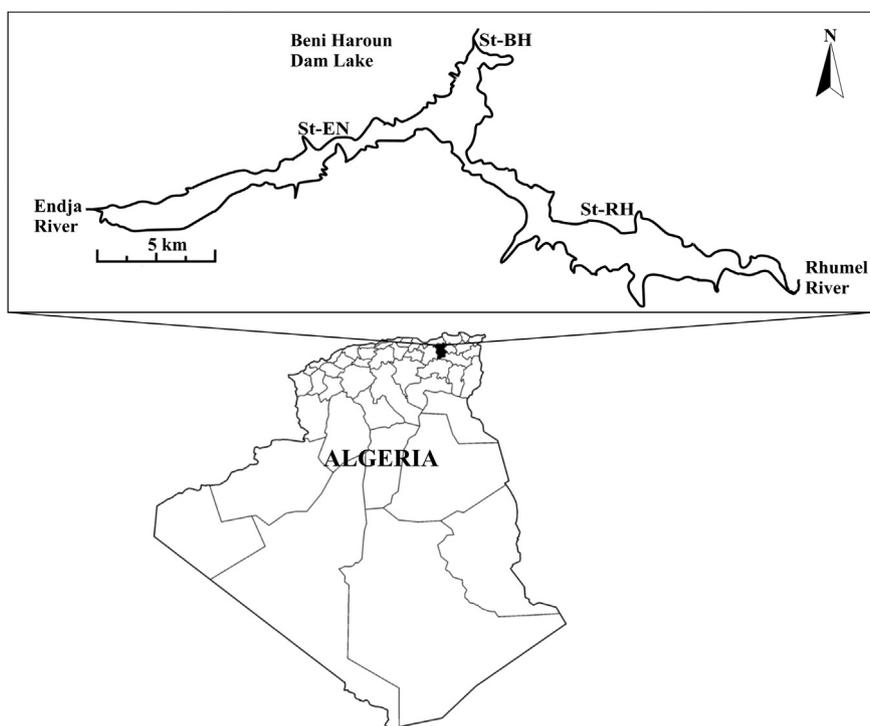


Fig. 1. Study area and sampling sites in Beni Haroun Dam Lake.

system (miVac Duo concentrator, Genevac Ltd., Suffolk, UK) and recovered in 0.5 mL of methanol. Final extracts were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until their testing on cells (see below).

2.5. Preparation of microsomal fractions

The microsomal fraction was prepared as described by Valdehita et al. (2012). In brief, 10 mg of gill or liver tissues were homogenized for 5 s at 6 kh by means of an ultrasonic probe (Vibra Cell) in 1 mL of homogenization buffer (100 mM trisHCl buffer pH=7.8 containing 20% glycerol, 0.25 mM sucrose, 150 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.25 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF, and 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of the protease inhibitors leupeptin, aprotinin, and pepstatin). The homogenate was centrifuged for 10 min at 6000g. The pellet was removed and the supernatant was centrifuged at 16,000g for 60 min. The pellet was then collected and diluted in homogenization buffer to be used in the measurements of EROD and BFCOD activities.

2.6. EROD and BFCOD activities measurement in fish tissues

EROD activity was measured at room temperature in the microsomal fraction (undiluted, and diluted to a half, and to a fourth) following the methodology established by Burke and Mayer (1974) as detailed in Valdehita et al. (2012). 96 well plates (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany) were used for carrying out the measurements. Each sample was measured simultaneously in three plate wells (triplicate). The reaction was followed for 30 min by reading the fluorescence at 532 nm excitation and 590 nm emission wavelengths every 10 min using a Tecan Genios plate reader (Tecan, Maennendorf, Switzerland). Resorufin standards were used to quantify the amount of resorufin formed during the assay. Final EROD activity was expressed as the mean of the EROD activity obtained for each of the dilutions of the microsomal fraction.

BFCOD activity was measured at $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the microsomal fractions (undiluted, diluted by a half, and by a fourth) as described by Thibaut et al. (2006). 96 well plates (Greiner Bio-One GmbH) were used. The reaction was monitored for 30 min by measuring fluorescence each

10 min at excitation and emissions wavelengths of 409 and 530 nm, respectively, using a Tecan Genios plate spectrofluorometer. 7-hydroxy-4-[trifluoromethyl]-coumarin (HFC) production was calculated using a standard curve with this compound. Final BFCOD activity was expressed as the mean of the BFCOD activity obtained for each of the dilutions of the microsomal fraction.

The protein content in each well was measured by means of the fluorescamine assay as described by Valdehita et al. (2012) using bovine serum albumin (BSA) as a standard.

2.7. Cells and cell culture conditions

The ability of sediment extracts to induce EROD or BFCOD activities and the potency of the induction were assessed by exposing cells to such extracts. EROD activity was measured in the RTG-2 cell line. These cells derive from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gonadal tissue and show a fibroblast like morphology. BFCOD activity was determined in PLHC-1 cells, derived from topminnow (*Peociliopsis lucida*) liver.

Both cell lines were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC). They were grown in 75 cm^2 flasks in EMEM supplemented with 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 1% L-glutamine, and 1% NEAA. RTG-2 cells were cultured at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and PLHC-1 cells at $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.8. Cells treatment and enzyme activities in sediments

In order to monitor the presence of pollutants in sediments, EROD activity was measured in RTG-2 cells following the same methodology described before (Valdehita et al., 2012). For that, RTG-2 cells were seeded in 96 well transparent plates (Greiner Bio-One) at 2.5×10^5 cells/mL depositing 100 μL culture medium per well. Cells were allowed to attach to the bottom of the wells for 24 h. Thereafter, the culture medium was removed and new culture medium containing sediment extracts at a maximal concentration of 1% was added to the cells. Serial half dilutions of medium allowed obtaining different concentrations of sediment extracts (equivalent to 2.5–40 mg sediment/mL media). β -naphthoflavone (βNF), was used as a positive

Table 1Weight, length, condition factor (CF) and hepatosomatic index (HSI) of barbel (*Barbus callensis*) specimens used in this study.

Month	Station	n	Weight (g)	Length (cm)	CF	HSI
March 2015	RH	5	438.8 ± 43.87	24.8 ± 0.6	1.75 ± 0.14 ^{ab}	1.23 ± 0.02 ^{ab}
	BH	5	501.2 ± 68.98	24.4 ± 0.75	2.02 ± 0.21	1.03 ± 0.06
	EN	5	473.6 ± 21.84	23.8 ± 1.04	1.98 ± 0.058 ^{ab}	1.17 ± 0.085 ^{ab}
May 2015	RH	6	496.33 ± 42.31	29.16 ± 0.74	1.68 ± 0.1 ^{ab}	0.77 ± 0.050 ^a
	BH	6	547.5 ± 49.0	31.16 ± 0.90	1.72 ± 0.11	0.84 ± 0.05
	EN	5	519 ± 53.45	29.6 ± 1.21	1.73 ± 0.10 ^{ab}	0.87 ± 0.05
August 2015	RH	6	376.55 ± 76.23	22.6 ± 2.47	1.45 ± 0.16 ^{Aa}	1.55 ± 0.16 ^{Ab}
	BH	6	569.16 ± 95.87	28 ± 1.98	1.96 ± 0.23 ^{AB}	1.01 ± 0.04 ^{AB}
	EN	6	841.6 ± 121.05	33.6 ± 2.94	2.43 ± 0.16 ^{Ba}	0.90 ± 0.02 ^{Ba}
October 2015	RH	5	680.5 ± 88.75	32.83 ± 1.85	2.02 ± 0.16 ^{ABab}	1.07 ± 0.04 ^{Ab}
	BH	6	806.83 ± 38.84	35 ± 0.28	2.30 ± 0.10 ^A	0.96 ± 0.02 ^B
	EN	8	434.375 ± 32.13	26.93 ± 0.34	1.60 ± 0.10 ^{Bb}	1.31 ± 0.02 ^{Cb}
January 2016	RH	6	708 ± 5.85	30.27 ± 0.33	2.33 ± 0.013 ^{Ab}	1.10 ± 0.016 ^{ab}
	BH	6	551.16 ± 79.38	31.5 ± 1.56	1.70 ± 0.17 ^B	1.149 ± 0.075
	EN	6	547 ± 63.12	30.33 ± 0.88	1.77 ± 0.15 ^{Bab}	0.98 ± 0.016 ^{ab}

Values are presented as mean ± SEM. n is the number of fish. Significant ($p < 0.05$) differences among stations in the same month are indicated by capital letters. Significant differences ($p < 0.05$) among months in the same sampling site are indicated by lowercase letters.

control and responses obtained for a range of doses (1.6–272 ng/mL media) served to generate the dose-response curve that allowed, for each assay, the calculation of β NF equivalents (β NF-Eq) present in the sediments (see Statistical Analysis Section below). They represent the equivalent quantity of β NF that would induce a similar response to that caused by the corresponding sediment extract. Methanol (used to recover the sediment extract) and DMSO (used as β NF carrier) at the maximal concentrations added to the treated cells (1% methanol, 0.1% DMSO) were applied to a set of cells and served as carrier controls. No effect on cell viability was observed at these concentrations of methanol or DMSO. After 24 h incubation, medium was removed, cells were washed with PBS (pH=7.5) and lysed in liquid nitrogen. Thereafter, plates were allowed to thaw and EROD activity and protein content were measured following the same methodology as detailed above for the tissues. Each sediment sample was measured per duplicate in five independent experiments.

For the measurement of BFCOD activity PLHC1 cells were seeded in 96 well transparent plates (Greiner Bio-One) (10×10^5 cells/mL, using 150 μ L medium per well). After 24 h of incubation, medium was removed and replaced by new medium containing sediment extracts following the same protocol and using the same concentrations as for EROD activity measurements. As before, 1% methanol and 0.1% DMSO were used as carrier controls. Benzo[k]fluoranthene (BkF) served as positive control and the response generated by a range of BkF concentrations (3.9–504.5 ng/mL medium) served for the calculation of BkF equivalents present in the sediments (See Statistical Analysis section below). After 24 h of incubation medium was removed, cells washed with PBS (pH=7.5), and BFCOD activity measured according to Creusot et al. (2015). In brief, 100 μ L of PBS containing BFC 50 μ M was added to each well. CYP3A activity was monitored during 30 min using a TecanGenios at 409 nm excitation and 530 nm emission wavelengths. After BFCOD measurement PBS was removed, cells were washed twice with PBS (pH=7.5), frozen in liquid nitrogen and total protein was determined by fluorescence assay as described before. Each sediment sample was analyzed per duplicate in five independent experiments.

2.9. Statistical analysis

All statistical Analysis were performed using SigmaPlot 12.5 (SystatSoftware Inc., Chicago, IL, USA) software. In the case of data obtained from fish, normality of data frequency distribution was checked by means of the Kolmogorov–Smirnov test. In no case a normal distribution was found, and therefore they were compared by means of Kruskal-Wallis non-parametric test. The significance level was

set at $p < 0.05$.

The calculation of the EC50s (effective concentration 50, defined as the concentration causing a 50% response of the maximum one) for the EROD and BFCOD activities from sediments measured by means of the cell lines was made by fitting the enzyme activity results to a regression equation for a sigmoidal curve: $y = \max/[1 + (x/EC50)^b] + \min$, (where max is the maximal response observed, b is the slope of the curve, and min is the minimal response). β NF-Eq or BkF-Eq for each sample extract were calculated by interpolating the enzyme activity values for each dilution of the sediment extract in the appropriate curve (that of β NF or BkF). The final equivalents were the mean of those obtained for the different dilutions.

3. Results

3.1. Water conditions and biometric parameters

Water temperature varied seasonally from 8.2 ± 0.1 °C in January at RH to 26.2 ± 0.1 °C in August also at RH (Table S1). Water pH values ranged from 7.4 ± 0.0 to 8.3 ± 0.0 . Values of HSI ranged from 0.65 ± 0.02 (for females in RH, in May) to 1.86 ± 0.11 (for males in RH, in August) (Table 1. Values corresponding to males and females are presented in Table S2). Significant differences in HSI values among places for each sampling date or among sampling dates for a particular place are shown in Table 1. Table S2 shows also differences observed between sexes.

Condition factor values ranged from 1.15 ± 0.07 (males captured at RH in August) to 2.82 ± 0.24 (females captured at EN in August) (Data are presented in Table 1 and detailed values corresponding to females and males are shown in Table S2. These tables show also the corresponding statistically significant differences).

3.2. EROD activity in liver and gills

The results of EROD activity in liver and gills are shown in Fig. 2. In liver tissue, no significant differences among sampling sites were detected in March and May, with liver EROD values ranging from 26.2 ± 7.0 to 67.1 ± 7.6 pmol/mg/min. In August, EROD activity exhibited an increase with respect to previous months, particularly in fish captured in RH (158.2 ± 120.3 pmol/mg/min) and EN (104.3 ± 68.7 pmol/mg/min) but no differences among sampling places were detected. In October, EROD activity reached maximal values in the three sampling places being values observed significantly ($p < 0.05$) different from those detected in March and May. EROD activity in BH and EN was also different from that observed in August.

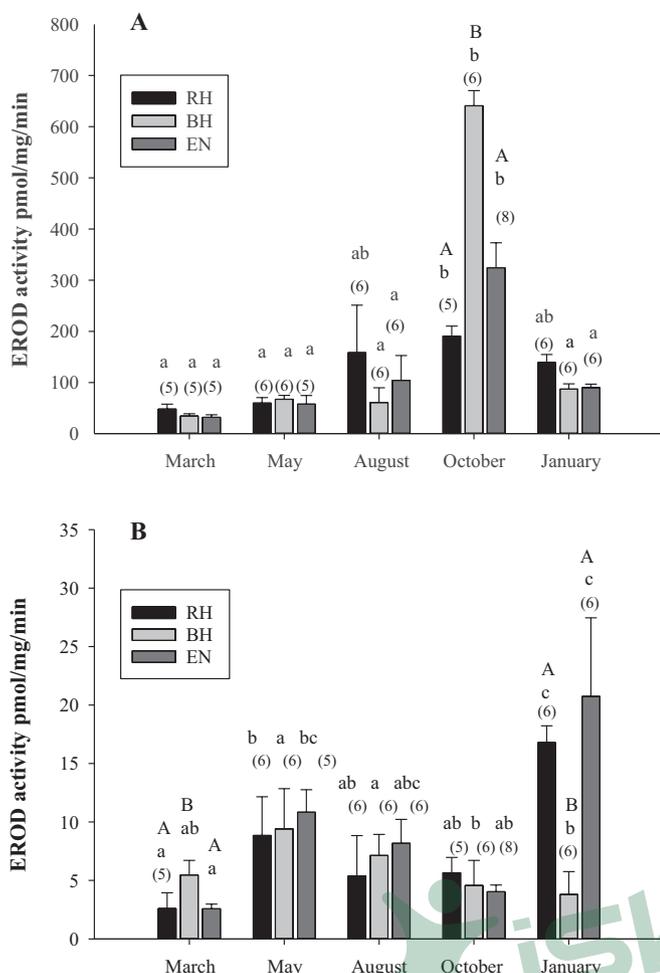


Fig. 2. 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in tissues of barbel (*Barbus callensis*) collected at Beni Haroun dam lake between March 2015 and January 2016. (A) EROD values in liver. (B) EROD values in gills. Bars represent mean values \pm standard error of the mean (SEM). Fish number for each place and time point appear in parenthesis. Significant differences among different stations in the same month are indicated by capital letters. Significant differences among months in the same sampling site are indicated by lowercase letters. $p < 0.05$.

Fish captured in station BH in October exhibited significantly ($p < 0.05$) higher EROD values (640.8 ± 27.04 pmol/mg/min) than those of RH and EN stations (190.7 ± 19.7 and 324.6 ± 48.9 pmol/mg/min, respectively). In January, a reduction to levels similar to those of March, May and August was observed, so that EROD activity detected in BH and EN was significantly lower than in October, but no differences among sampling sites were detected.

In relation to the possible differences between sexes in hepatic EROD activity (Fig. S1A), it must be mentioned that in August females exhibited significantly ($p < 0.001$) higher values of liver EROD activity than males at RH and BH. In October, females in EN exhibited significantly ($p < 0.01$) higher hepatic EROD values than males.

In gills, EROD activity exhibited approximately values one order of magnitude lower than those detected in liver (Fig. 2B). In March, animals captured in EN and RH exhibited significantly ($p < 0.05$) lower EROD activity (2.5 ± 0.2 and 2.6 ± 0.6 pmol/mg/min, respectively), than fish from BH (5.47 pmol/mg/min). In May, EROD activity in gills approximately doubled the values detected in March, so that this activity was significantly ($p < 0.05$) higher than in March in the fish captured in RH and EN. A decrease in EROD activity in gills was detected in August, and continued diminishing in October, so that values recorded in BH were significantly ($p < 0.05$) lower than in August and May, but no differences among sampling sites were

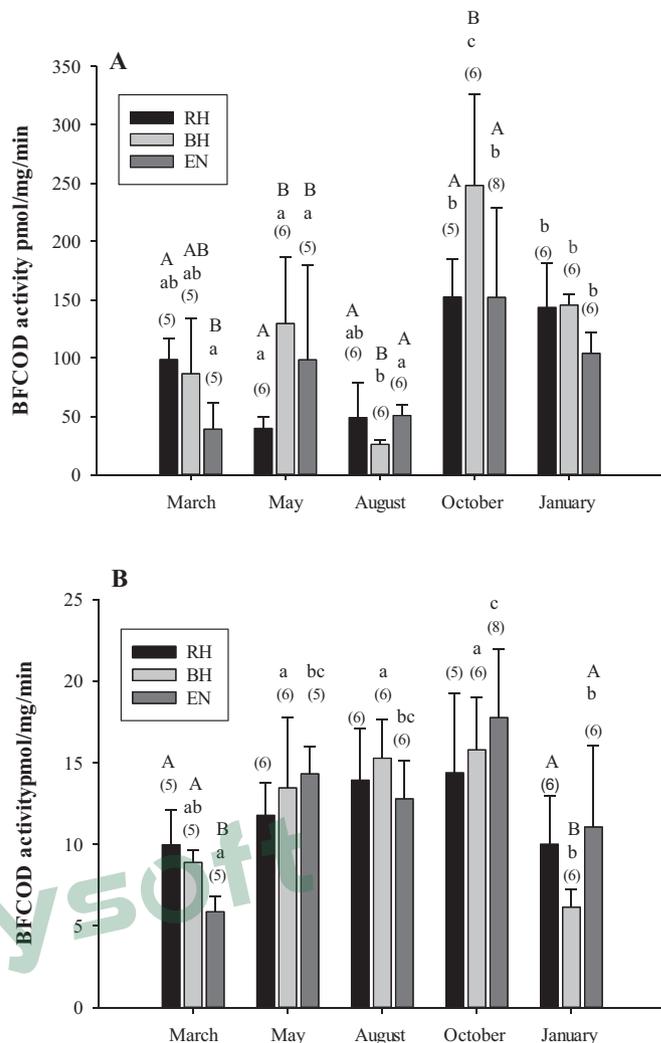


Fig. 3. Benzyl-4-[trifluoromethyl]-coumarin-O-debenzylase (BFCOD) in tissues of barbel (*Barbus callensis*) collected at Beni Haroun dam lake between March 2015 and January 2016. (A) BFCOD values in liver. (B) BFCOD values in gills. Bars represent mean values \pm standard error of the mean (SEM). Fish number for each place and time point appear in parenthesis. Significant differences among different stations in the same month are indicated by capital letters. Significant differences among months in the same sampling site are indicated by lowercase letters. $p < 0.05$.

observed in these three months. Strikingly, in January a significant increase in EROD activity was observed with respect to previous months in gills of fish captured in RH and EN (16.84 ± 1.14 and 20.73 ± 1.14 pmol/mg/min, respectively), being EROD levels statistically higher than in BH (3.80 ± 0.79 pmol/mg/min).

In general, EROD activity in gills of males did not differ significantly from females (Fig. S1B), with the exception of station RH in August and station BH in October, where males had lower EROD activity than females ($p < 0.05$).

3.3. BFCOD activity in liver and gills

Values of BFCOD activity in barbel livers ranged from 26.05 ± 1.68 to 247.97 ± 31.87 (Fig. 3A). In March, BFCOD values in livers of fish captured in EN were significantly ($p < 0.05$) lower than those observed in RH. In May, an increase of BFCOD activity was detected in BH and EN (129.70 ± 23.31 and 98.51 ± 36.30 pmol/mg/min, respectively) but BFCOD activity in livers of fish captured in RH decreased (39.74 ± 3.97 pmol/mg/min), showing significantly ($p < 0.05$) lower values than those of BH and EN. In August, BFCOD activity decreased again in livers of barbels captured in BH and EN, so that values

observed in BH (26.05 ± 1.68 pmol/mg/min) were significantly ($p < 0.05$) lower than those detected in RH and EN. A general increase in BFCOD activity was detected in October reaching maximum values that were in several cases significantly ($p < 0.05$) higher than in previous months. In October, BFCOD activity in livers of barbels from BH (247.97 ± 31.78 pmol/min/mg) was significantly ($p < 0.05$) higher than in fish from RH and EN (152.30 ± 14.69 and 152.06 ± 28.07 pmol/mg/min, respectively). In January, BFCOD activity decreased in RH and EN (143.40 ± 15.54 and 145.45 ± 3.80 pmol/mg/min, respectively) and was significantly ($p < 0.05$) reduced in BH (104.10 ± 7.32 pmol/mg/min) with respect to the previous month. No statistical differences were detected in this month among sampling sites.

In liver, BFCOD activity did not show significant ($p < 0.05$) differences between sexes (Fig. S2A), with the only exception of values detected in August in females captured in RH that showed significantly ($p < 0.01$) higher BFCOD levels than males.

Regarding gills, as in the case of EROD, BFCOD activity exhibited much lower values than in liver, ranging from 5.86 ± 0.42 pmol/mg/min observed in the station EN during March to 17.75 ± 1.48 pmol/mg/min detected in the same station in October (Fig. 3B). In March, values observed in EN were significantly ($p < 0.05$) lower than those of RH and BH. A general increase in BFCOD activity was observed in May, August and October without significant differences among sampling sites for a given month or among months for a particular place. In January, this activity decreased in all stations, particularly in BH where BFCOD values were significantly ($p < 0.05$) lower than those of the other stations and than those observed in May, August and October.

3.4. β NF-Eq in sediment samples

All sediment extracts provoked an induction of EROD activity in RTG2 cells (Table 2). However, only those extracts causing a concentration-dependent increase in EROD activity, allowed us to calculate β NF-Eq (Fig. 4). In March, sediment samples collected at BH displayed β NF-Eq levels (0.40 ± 0.03 ng β NF-Eq/mg dry sediment) significantly ($p < 0.05$) higher than those from RH (0.1 ± 0.01 ng β NF-Eq/mg dry sediment), while EROD induction in EN was so low that did not allow the calculation of β NF-Eq. In May, samples from RH and BH were no significantly different from those of the previous month and did not show differences between them. EN sediments induced so low EROD values that did not allow the calculation of β NF-Eqs. However, in August only extracts from EN sediments permitted to determine of β NF-Eq (0.17 ± 0.03 ng β NF-Eq/mg dry sediment). In October, an important increase in β NF-Eq values was detected in BH (1.94 ± 0.23 ng β NF-Eq/mg dry sediment) leading to values significantly higher than in

Table 2
EROD activity in RTG2 cell lines induced by sediment samples collected at Beni Haroun dam lake.

Month	Sampling site	Maximum sediment concentration (mg/ml)	Maximum EROD activity pmol/mg/min
March	RH	40	36.19 ± 5.39
	BH	20	103.91 ± 10.04
	EN	40	22.24 ± 5.67
May 2015	RH	40	100.87 ± 13.13
	BH	40	86.95 ± 12.97
	EN	40	9.82 ± 2.32
August	RH	40	22.35 ± 5.68
	BH	40	14.34 ± 1.95
	EN	40	64.58 ± 6.38
October	RH	20	68.55 ± 6.17
	BH	40	122.22 ± 10.19
	EN	40	17.04 ± 2.34
January	RH	40	118.73 ± 18.52
	BH	40	121.69 ± 16.86
	EN	40	82.00 ± 8.18

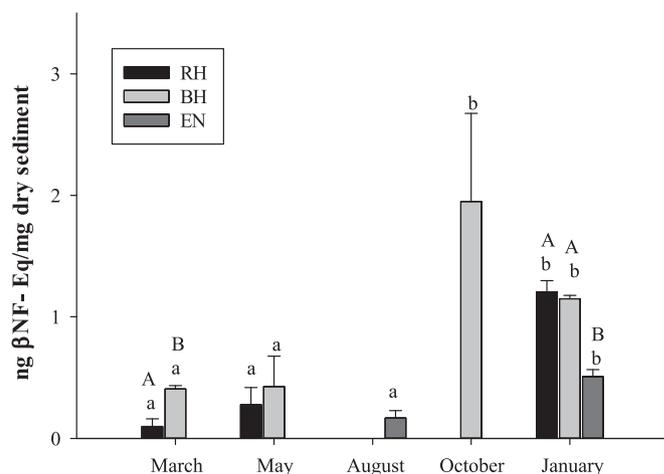


Fig. 4. β -naphthoflavone equivalents (β NF-Eq) in sediment samples collected at Beni Haroun dam lake. Bars represent mean values \pm standard error of the mean (SEM). Significant differences between different stations in the same month are indicated by capital letters. Significant differences among months in the same sampling site are indicated by lowercase letters. $p < 0.05$.

previous months. At the other sampling places, the induction of EROD activity was so low that the calculation of β NF-Eq was not possible. In January, β NF-Eq values remained high in BH (1.48 ± 0.01 ng β NF-Eq/mg dry sediment) and reached their maximum in the other two sampling places (1.20 ± 0.04 and 0.50 ± 0.02 ng β NF-Eq/mg dry sediment in RH and EN, respectively), being β NF-Eq levels detected in EN sediments significantly ($p < 0.05$) lower than in the other two places. In all cases, these values were significantly higher than those observed in March, May and August.

3.5. BkF equivalents in sediment samples

In the present study, none of the sediment extracts induced BFCOD activity in PLHCl cells, so that the calculation of BkF equivalents was not possible.

4. Discussion

In the present study, we observed an induction of EROD and BFCOD activities in tissues of barbel captured at Beni Haroun dam lake, one of the most important water reservoirs in the north of Africa. Biotransformation enzymes, particularly EROD activity, have been successfully employed as biomarkers to monitor chemical pollution of the aquatic environment (Chiang et al., 2012; Quesada-García et al., 2013; Wunderlich et al., 2015; Yilmaz et al., 2016). One of the big advantages of using these enzyme activities as biomarkers is that they are induced by very low levels of contaminants. As a consequence, the detection of this activity must not be mandatorily associated to high pollution but can also serve as an early warning that allows the implementation of correction measures.

It can be appropriate in field studies devoted to monitor the presence or the effects of pollutants in a particular place or water body to take a pristine site as a reference (Asker et al., 2016; Barhoumi et al., 2014; Yilmaz et al., 2016). In the present work, however, taking into account the enormous size of the lake and the distance among the sampling sites, we considered that comparisons could be performed without an external pristine reference site. In addition, the differences in physico-chemical properties (e.g. pH, temperature, organic content, etc) between the waters of Beni Haroun and other external water bodies would have added new variability factors that would have complicated the interpretation of results. Actually, since this is the first study describing the induction of detoxifying enzyme activities in a fish species present in Beni Haroun, probably will serve as a starting point of

further more detailed studies.

According to the literature, basal physiological EROD activity levels in barbel range from 11.5 ± 6.5 to 72.07 ± 33.8 pmol/mg/min (Aarab et al., 2004; Hugla and Thomé, 1999; Vindimian et al., 1991). These values are similar to the levels observed in March, May, and January in the present study. However, the increase in the activity detected in October suggests exposure of fish to EROD inducers. Indeed, Hugla and Thomé (1999) previously reported a four fold induction of EROD activity in barbel liver exposed to PCBs under controlled conditions.

The highest values of EROD activity observed in the present study are similar to those detected in livers of other cyprinid, the common carp (*Cyprinus carpio*), collected at some areas of the Ebro river polluted with organochlorine compounds (Lavado et al., 2006) or to those observed in livers of rainbow trout captured in farms and apparently exposed to mixtures of very low concentrations of organic contaminants (Quesada-García et al., 2013). This would support the idea that the observed induction in barbel is due to contaminants present in the aquatic environment.

In the present study, a continuous increase in EROD activity was observed from May reaching the highest values at all sampling sites in October. The increase observed in EROD activity in liver in August was probably related with the advance of the dry season what favors the concentration of contaminants in water and sediments that could pass to the animals. The early rainy season in the study area started at the end of September 2015, after a long dry period, so that all the pollutants that could have been accumulated on the catchment could have been introduced into the lake through runoff, leading to the high EROD levels observed in October. In agreement with this idea, the highest EROD activity was detected in October in BH basin, which constitutes the exit point of the lake and therefore collects sediments and EROD inducers from upstream points. In January, the activity went down again. This effect can be explained by the continuous washing of sediments along these months. The decrease of water temperature could have contributed to the observed decline of EROD activity that has been associated in other fish species, e.g. cod (Lyons et al., 2011), with a reduction in metabolic activities.

Previous studies have demonstrated that sex is one of the most important factors affecting EROD activity in fish (Whyte, 2000). In the present work, the most important differences in liver EROD activity between sexes appeared in August (see Supplementary Fig. S1), with higher levels in females than in males. This moment coincides with the end of the spawning period (May–July) of barbel, and therefore with a decrease in the blood concentration of estrogens controlling ovulation and spawning. Since it has been reported that estrogens lead to decreases of EROD activity (Navas and Segner, 2001), the reduction in the estrogen concentration could be related with the observed raise in EROD activity. Furthermore, this observation is in accordance with a recent study by Wunderlich et al. (2015) that reported an increase in EROD activity in livers of *Plagioscion quamosissimus* females at the end of spawning period in Barra Bonita reservoir in Brazil. However, the higher EROD levels observed in females in August could also be due in part to the higher size of females that are probably older than males. This effect has been noticed by Hugla et al. (1995) in common barbel (*B. barbatus*), in which it was observed that mature fish collected from a PCB contaminated site had higher EROD activity than juveniles. Moreover, Yilmaz et al. (2016) observed an increase of EROD activity with the increase of size in *Mullus barbatus* captured at Mersin bay in Turkey. If this effect is due to the fact that older fish have accumulated pollutants for longer time or to a higher expression and/or activity of detoxification enzymes associated with a higher size remains to be investigated.

As previously reported (Andersson et al., 2007; Nahrgang et al., 2010; Ortiz-Delgado et al., 2007), in the present study EROD levels in gills were lower than in liver. This difference appears to be related with the higher amount of CYP1A protein in liver, which is the main metabolizing organ in fish (Hinton et al., 2001). However, gills

constitute an important site of biotransformation and a first barrier in which the metabolism of a number of xenobiotics can be initiated during their passage through the branchial epithelium (Jönsson et al., 2003; Ortiz-Delgado et al., 2008; Oliva et al., 2014). The induction of EROD activity observed in May and January in gills but not in liver could be related with an early induction in gills by low levels of contaminants that do not reach the liver. In August and October, contrasting with the results observed in liver, we noted a decrease of EROD activity in gills that could be the result of an inhibition of the first-pass CYP1A dependent biotransformation caused by high levels of pollutants that, however, would reach the liver. Such an effect has been previously observed in sea bream (*Sparus aurata*) exposed to 200–500 µg/L benzo[a]pyrene (Ortiz-Delgado et al., 2007).

Although the induction of EROD activity in fish has been extensively applied as a biomarker of pollution, works taking into consideration other detoxification activities, as for instance BFCOD activity are really scarce (see for instance Della Torre et al., 2010; Fernandes et al., 2013; Quesada-García et al., 2013; Wassmur et al., 2010) and only a few among them are field studies (Della Torre et al., 2010; Quesada-García et al., 2013). In the present work, in barbel liver, BFCOD activity ranged from 25 ± 1 (BH, August) to 247 ± 3 (BH, October) pmol/mg/min. The basal physiological values of BFCOD activities reported in other fish species range from 2 to 20 pmol/mg/min for rainbow trout (Hasselberg et al., 2008; Wassmur et al., 2010), from 49.3 to 35.98 pmol/mg/min in Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Koenig et al., 2013; Solé et al., 2014), from 53.8 to 57.5 in killifish (*Fundulus heteroclitus*, Hegelund et al., 2004) and between 40 and 50 pmol/mg/min in crucian carp (*Carassius auratus*, Xie et al., 2016). In a study carried out on farmed rainbow trout, Quesada-García et al. (2013) found maximum BFCOD values of 102 ± 28 pmol/mg/min which were considered the result of the induction caused by chemicals present in waters, since these values decreased to 26 ± 7 pmol/mg/min after maintaining the animals for 15 days in clean waters. BFCOD activity in red mullet (*Mullus barbatus*) caught in a reference site was 9 ± 3 pmol/mg/min and increased to 32 ± 6 pmol/mg/min in fish captured in a PAH polluted area (Della Torre et al., 2010). To the best of our knowledge there are no previous data on BFCOD activity in barbel. Taking into account the values observed in other species, the low levels detected in the present work in August at all sampling sites could be considered basal for barbel. In mammals, CYP3A is inducible by corticosteroids and synthetic analogs as well as by a variety of therapeutic drugs (Curi-Pedrosa et al., 1994; Van der Oost et al., 1996). Also in fish, BFCOD activity and CYP3A are inducible by a variety of drugs as clotrimazol (Burkina et al., 2016; Li et al., 2008). The increase of BFCOD activity observed in October in the present work was concomitant with this of EROD, and would corroborate that the general increase in enzyme activity observed in this month could be associated to the presence of xenobiotics. Variations of BFCOD activity in the rest of the months, above the basal levels are difficult to explain. Probably they are related with the presence of xenobiotics in waters but also with the role played by CYP3A in the metabolism of endogenous steroids like testosterone and progesterone (James et al., 2005; Mortensen and Arukwe, 2007; Zhao et al., 2013). In gills, BFCOD activity values were around one tenth of those observed in liver and no variations were detected along the sampling period or among sampling places. This would be consistent with a secondary role of this enzyme activity in gills, as a first shield against pollution.

In order to corroborate our findings in fish tissues, we measured EROD and BFCOD in fish cell lines exposed to extracts of sediments taken in the same sampling places and times as barbel. Only some sediment extracts provoked an induction of EROD activity high enough to allow the calculation of β NF-Eq, being the highest values recorded of 1.95 ng β NF-Eq/mg sediment. These values are in the same range as those reported by Quesada-García et al. (2015) using a similar approach in sediments from a low contaminated river in Castile and Leon, Spain. Furthermore, Boronat et al. (2009) found that β NF-Eq in sediments from European high mountain lakes ranged from 0.035 to

1.5 ng β NF-Eq /mg sediment. In the present study, the sediment extracts with the highest β NF-Eq levels, are those collected at the same time points and sampling places as barbel showing the maximal EROD activity in livers and gills. This fact corroborates the idea that the observed inductions are due to the presence of xenobiotics accumulated in waters and sediments. In a similar approach using rainbow trout, Valdehita et al. (2012) observed a strong induction of EROD activity in livers and a parallel induction of EROD activity in RTG-2 cells caused by extracts of sediments collected in the same places as trout. In the present study, none of the sediment extracts induced BFCOD activity in PLHC1 cells in vitro. It is possible that the BFCOD inducers were not extracted by methanol, used for the extraction process in our approach or that BFCOD activity was not induced in livers by the pollutants present in sediments (but by their metabolites or by other substances).

Establishing the exact nature of the compounds responsible of the observed inductions is out of the scope of our work but probably particular groups of pollutants play a key role. Prototypical EROD inducers include a number of persistent organic pollutants such as PAHs, PCBs, or dioxins (Lyons et al., 2010; Van der Oost et al., 2003; Whyte, 2000). It has been also reported that these substances could increase BFCOD (Creusot et al., 2015) activity. In previous works (Quesada-García et al., 2013; Valdehita et al., 2012) we observed that EROD induction in trout could be related with the presence of very low levels of a variety of PAHs. Considering the widespread presence of PAHs that are being continuously released to the environment we tend to consider that they constitute an important contribution to the observed inductions. However, there exist a number of other substances that may also contribute to EROD induction (Jos et al., 2007), including pesticides (Babín et al., 2005; Casado et al., 2006; Li et al., 2013; Lin et al., 2014) or pharmaceuticals (Fernández-Cruz et al., 2011; Li et al., 2008, 2012; Martín-Díaz et al., 2009). The induction of BFCOD activity has been normally associated to the exposure to pharmaceuticals (Burkina et al., 2016; Creusot et al., 2015; González-Mira et al., 2016). Pesticides can reach the studied dam lake due to the intense agricultural activities around this area and pharmaceuticals are probably present in the waste waters that have their final fate in the lake. These chemicals could have contributed to the observed increases of EROD activity, and the concomitant raise of BFCOD activity suggest that this kind of substances are present and accompanying those being responsible of the EROD activity.

In conclusion, the present study demonstrates the presence in Beni Haroun dam lake of EROD and BFCOD inducers, which may enter waters via agricultural, industrial, and municipal wastes. Changes observed in EROD and BFCOD activities corroborate the idea that the concentration of these substances can show spatial and temporal variations. The present study revealed the utility of the combined in vitro and in vivo measurement of EROD and BFCOD activities in the biomonitoring of water contamination. This study showed also that *B. callensis* is a useful species for aquatic ecosystem biomonitoring since, being a benthic species, interacts continuously with sediments where pollutants could accumulate. In addition, due to its widespread distribution in Algeria, Tunisia and Morocco, this barbel appears as a promising sentinel species in this geographical area.

Acknowledgements

The authors acknowledge the help of INIA project RTA2002-00-00-00053 supported by the European Regional Development Fund and of a grant from the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. The authors gratefully acknowledge the Fishing department of Mila for the technical help during samplings.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at [doi:10.1016/j.ecoenv.2017.03.055](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.055).

References

- Aarab, N., Champeau, O., Mora, P., Daubeze, M., Garrigues, P., Narbonne, J.F., 2004. Scoring approach based on fish biomarkers applied to French river monitoring. *Biomarkers* 9, 258–270. <http://dx.doi.org/10.1080/13547500400015626>.
- Andersson, C., Katsiadaki, I., Lundstedt-Engel, K., Orberg, J., 2007. Effects of 1 α -ethynyltestradion on EROD activity, spiggin and vitellogenin in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquat. Toxicol.* 83, 33–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.008>.
- Asker, N., Albertsson, E., Wijkmark, E., Bergek, S., Parkkonen, J., Kammann, U., Holmqvist, I., Kristiansson, E., Strand, J., Gercken, J., Förlin, L., 2016. Biomarker responses in eelpouts from four coastal areas in Sweden, Denmark and Germany. *Mar. Environ. Res.* 120, 32–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.07.002>.
- Babín, M., Casado, S., Chana, A., Herradón, B., Segner, H., Tarazona, J.V., Navas, J.M., 2005. Cytochrome P4501A induction caused by the imidazole derivative Prochloraz in a rainbow trout cell line. *Toxicol. In Vitro* 19, 899–902. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.037>.
- Barhoumi, B., Clerandeu, C., Gourves, P.Y., Le Menach, K., El Megdiche, Y., Peluhet, L., Budzinski, H., Baudrimont, M., Driss, M.R., Cachot, J., 2014. Pollution biomonitoring in the Bizerte lagoon (Tunisia), using combined chemical and biomarker analyses in grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae). *Mar. Environ. Res.* 101, 184–195. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.07.002>.
- Behrens, A., Segner, H., 2005. Cytochrome P4501A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanized area: results of a five-year-study. *Environ. Pollut.* 136, 231–242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.010>.
- Ben Ameura, B., Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-López, D., Gonzalez-Linares, J., RidhaDrissa, M., Borrás, M., 2012. Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). *Mar. Pollut. Bull.* 64, 241–251. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.11.026>.
- Boronat, S., García-Reyero, N.L., Fonts, R., Fernandez, P., Grimalt, J.O., Pina, B., 2009. Biological activity of aryl hydrocarbon receptor ligands in sediments from remote European lakes. *Freshw. Biol.* 54(12), 2543–2554. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02285.x>.
- Bozcaarmutlu, A., Sapmaz, C., Aygun, Z., Arinc, E., 2009. Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. *Mar. Environ. Res.* 67, 167–176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.12.009>.
- Burke, M.D., Mayer, R.T., 1974. Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metab. Dispos.* 2, 583–588.
- Burkina, V., Zlabek, V., Zamaratskaia, G., 2015. Effects of pharmaceuticals present in aquatic environment on Phase I metabolism in fish. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40, 430–444. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.07.016>.
- Burkina, V., Zamaratskaia, G., Oliveira, R., Fedorova, G., Grabicova, K., Schmidt-Posthaus, H., Steinbach, C., Domingues, I., Golovko, O., Sakalli, S., Grabic, R., Randak, T., Zlabek, V., 2016. Sub-lethal effects and bioconcentration of the human pharmaceutical clotrimazole in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Chemosphere* 159, 10–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.042>.
- Casado, S., Alonso, M., Herradón, B., Navas, J.M., 2006. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by carbaryl: computational evidence of the ability of carbaryl to assume a planar conformation. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 3141–3147. <http://dx.doi.org/10.1897/06-131R.1>.
- Chiang, G., Munkittrick, K.R., Urrutia, R., Concha, C., Rivas, M., Diaz-Jaramillo, M., Barra, R., 2012. Liver ethoxyresorufin-O-deethylase and brain acetylcholinesterase in two freshwater fish species of South America; the effects of seasonal variability on study design for biomonitoring. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 86, 147–155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.008>.
- Chivitt, C.C., Pinto, D.P., Ferreira, R.S., Sopezki Mda, S., Fillmann, G., Zanette, J., 2016. Responses of the CYP1A biomarker in *Jenynsia multidentata* and *Phalloseros caudimaculatus* and evaluation of a CYP1A refractory phenotype. *Chemosphere* 144, 925–931. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.050>.
- Creusot, N., Brion, F., Piccini, B., Budzinski, H., Porcher, J.M., Ait-Aïssa, S., 2015. BFCOD activity in fish cell lines and zebrafish embryos and its modulation by chemical ligands of human aryl hydrocarbon and nuclear receptors. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 16393–16404. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3882-8>.
- (1.1) R. Curi-Pedrosa, R. M. Daujat, M. L. Pichard, L. J.C. Ourlin, J.C. P. Clair, P. L. Gervot, L. P. Lesca, P. J. Domergue, J. H. Joyeux, H. G. Fourtainier, G. P. Maurel, P.1994. Omeprazole and lansoprazole are mixed inducers of CYP1A and CYP3A in human hepatocytes in primary culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 269, 384–392.
- Danion, M., Le Floch, S., Lamour, F., Quentel, C., 2014. Effects of in vivo chronic exposure to pendimethalin on EROD activity and antioxidant defenses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 99, 21–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.024>.
- DellaTorre, C., Corsi, I., Nardi, F., Perra, G., Tomasino, M.P., Focardi, S., 2010. Transcriptional and post transcriptional response of drug metabolizing enzymes to PAHs contamination in red mullet (*Mullus barbatus*, Linnaeus, 1758): a field study. *Mar. Environ. Res.* 70, 95–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.03.009>.
- Deribe, E., Rosseland, B.O., Borgström, R., Salbu, B., Gebremariam, Z., Dadebo, E., Norli, H.R., Eklo, O.L., 2011. Bioaccumulation of persistent organic pollutants (POPs) in fish species from Lake Koka, Ethiopia: the influence of lipid content and trophic position. *Sci. Total Environ.* 410–411, 136–145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.09.008>.
- Fernandes, D., Dimastrogiovanni, G., Blázquez, M., Porte, C., 2013. Metabolism of the polycyclic musk galaxolide and its interference with endogenous and xenobiotic

- metabolizing enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Environ. Pollut. 174, 214–221. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.033>.
- Fernández-Cruz, M.L., Valdehita, A., Alonso, M., Mann, E., Herradón, B., Navas, J.M., 2011. Biological and chemical studies on the aryl hydrocarbon receptor induction by the p53 inhibitor pifithrin- α and its condensation product pifithrin- β . Life Sci. 88, 774–783. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2011.02.019>.
- González-Mira, A., Varó, I., Solé, M., Torreblanca, A., 2016. Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature-dependent manner. Environ. Sci. Pollut. Res. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7293-x>.
- Güngördü, A., Ozmen, M., 2011. Assessment of seasonal and sex-related variability of biomarkers in carp (*Cyprinus carpio* L.) from Karakaya Dam Lake, Turkey. Environ. Toxicol. Pharmacol. 31, 347–356. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2010.12.004>.
- Güngördü, A., Erkmén, B., Kolankaya, D., 2012. Evaluation of spatial and temporal changes in biomarkers responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) for biomonitoring the Meric Delta, Turkey. Environ. Toxicol. Pharmacol. 33, 431–439. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2012.01.003>.
- Hallare, A.V., Seiler, T.M., Hol, H., 2011. The versatile, changing, and advancing roles of fish in sediment toxicity assessment—a review. J. Soils Sediment 11, 141–173. <http://dx.doi.org/10.1007/s11368-010-0302-7>.
- Hasselberg, L., Westerberg, S., Wassmur, B., Celander, M.C., 2008. Ketoconazole, an antifungal imidazole, increases the sensitivity of rainbow trout to 17 α ethynylestradiol exposure. Aquat. Toxicol. 86, 256–264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.11.006>.
- Hegelund, T., Ottoson, K., Rådinger, M., Tomberg, P., Celander, M.C., 2004. Effects of the antifungal imidazole ketoconazole on Cyp1A and Cyp3A in rainbow trout and killifish. Environ. Toxicol. Chem. 23, 1326–1334. <http://dx.doi.org/10.1897/03-155>.
- Hinton, D.E., Segner, H., Braunbeck, T., 2001. Toxic responses of the liver. In: Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds.), Target Organ Toxicity of Marine and Freshwater Teleosts. Taylor & Francis, London, New York, pp. 224–268. <http://dx.doi.org/10.1007/978-4-431-85709-9>.
- Hugla, J.L., Philippart, J.C., Kremers, P., Goffinet, G., Thome, J.P., 1995. PCB contamination of the common barbel, *Barbus barbus* (Pisces, Cyprinidae), in the River Meuse in relation to hepatic monooxygenase activity and ultrastructural liver change. Neth. J. Aquat. Ecol. 29, 135–145. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02061796>.
- Hugla, J.L., Thomé, J.P., 1999. Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure, hepatic monooxygenases, and reproductive success in the barbel. Ecotoxicol. Environ. Saf. 42, 265–273. <http://dx.doi.org/10.1006/eesa.1998.1761>.
- James, M.O., Lou, Z., Rowland-Faux, L., Celander, M.C., 2005. Properties and regional expression of a CYP3A-like protein in channel catfish intestine. Aquat. Toxicol. 72, 361–371. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.03.001>.
- Janssen, P.A.H., Lambert, J.G.D., Goos, H.J.T., 1995. The annual ovarian cycle and the influence of pollution on vitellogenesis in the flounder, *Pleuronectes flesus*. J. Fish Biol. 47, 509–523. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1995.tb01918.x>.
- Jönsson, M., Abrahamson, A., Brunström, B., Brandt, I., Ingebrigtsen, K., Jørgensen, E.H., 2003. EROD activity in gill filaments of anadromous and marine fish as a biomarker of dioxin-like pollutants. Comp. Biochem. Physiol. Part C 136, 235–243. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.09.005>.
- Jos, A., Segner, H., Herradón, B., Repetto, G., Navas, J.M., 2007. Induction of EROD activity by 1-phenylimidazole and β -naphthoflavone in rainbow trout cultured hepatocytes: a comparative study. Toxicol. In Vitro 21, 1307–1310. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2007.03.017>.
- Keiter, S., Grund, S., Bavel, B.V., Hagberg, J., Engwall, M., Kammann, U., Klempt, M., Manz, W., Olsman, H., Braunbeck, T., Hollert, H., 2008. Activities and identification of aryl hydrocarbon receptor agonists in sediments from the Danube river. Anal. Bioanal. Chem. 390, 2009–2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-007-1652-x>.
- Kerdoud, S., 2006. Le Bassin Versant de Beni Harroun eau et Pollution (dissertation). Université Mentouri-Constantine, Constantine.
- Koenig, S., Guillén, K., Solé, M., 2013. Comparative xenobiotic metabolism capacities and pesticide sensitivity in adults of *Solea solea* and *Solea senegalensis*. Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol. 157, 329–336. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2013.03.002>.
- Lam, P.K.S., Gray, J.S., 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. Mar. Pollut. Bull. 46, 182–186. [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00449-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00449-6).
- Lavado, R., Urena, R., Martín-Skilton, R., Torreblanca, A., Del Ramo, J., Raldua, D., Porte, C., 2006. The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. Environ. Pollut. 139, 330–339. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.003>.
- Li, D., Yang, X.-L., Zhang, S.-J., Lin, M., Yu, W.-J., Hu, K., 2008. Effects of mammalian CYP3A inducers on CYP3A-related enzyme activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): possible implications for the establishment of a fish CYP3A induction model. Comp. Biochem. Physiol. Part C 147, 17–29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.07.003>.
- Li, Z., Lu, G., Yang, X., Wang, Z., 2012. Single and combined effects of selected pharmaceuticals at sublethal concentrations on multiple biomarkers in *Carassius auratus*. Ecotoxicology 21, 353–361. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-011-0796-9>.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P., Randak, T., 2013. Multiple biomarkers responses in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after acute exposure to a fungicide propiconazole. Environ. Toxicol. 28, 119–126. <http://dx.doi.org/10.1002/tox.20701>.
- Lin, C.H., Chu, P.H., Chen, P.J., 2014. Two azole fungicides (carcinogenic triadimefon and non-carcinogenic myclobutanil) exhibit different hepatic cytochrome P450 activities in medaka fish. J. Hazard. Mater. 277, 150–158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.083>.
- Lyons, B.P., Thain, J.E., Hylland, K., Davis, I., Vethaak, A.D., 2010. Using biological effects tools to define good environmental status under the marine strategy framework directive. Mar. Pollut. Bull. 60, 1647–1651. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.06.005>.
- Lyons, M.C., Wong, D.K.H., Mulder, I., Lee, K., Burrige, L.E., 2011. The influence of water temperature on induced liver EROD activity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to crude oil and oil dispersants. Ecotoxicol. Environ. Saf. 74, 904–991. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.12.013>.
- Martin-Díaz, M.L., Gagné, F., Blaise, C., 2009. The use of biochemical responses to assess ecotoxicological effects of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) after injection in the mussel *Elliptio complanata*. Environ. Toxicol. Pharmacol. 28, 237–242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2009.04.009>.
- Mierzejewski, J., Haney, D.C., van den Hurk, P., 2014. Biomarker responses in sunfish species and largemouth bass from the Saluda River, South Carolina. Ecotoxicol. Environ. Saf. 110, 8–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.003>.
- Moore, M.N., Allen, J.I., McVeigh, A., 2006. Environmental prognostics: an integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status. Mar. Environ. Res. 61, 278–304. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2005.10.005>.
- Mortensen, S.A., Arukwe, A., 2007. Effects of 17 α -ethynylestradiol on hormonal responses and xenobiotic biotransformation system of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquat. Toxicol. 85, 113–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.08.004>.
- Murchelano, R.A., 1990. Fish health and environmental health. Environ. Health Perspect. 86, 257–259 DOI: 10.1.1.277.1266.
- Nahrgang, J., Jonsson, M., Gamus, L., 2010. EROD activity in liver and gills of Polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to waterborne and dietary crude oil. Mar. Environ. Res. 70, 120–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.02.003>.
- Navas, J.M., Segner, H., 2001. Estrogen-mediated suppression of cytochrome P4501A (CYP1A) expression in rainbow trout hepatocytes: role of estrogen receptor. Chem. Biol. Interact. 138, 285–298. [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2797\(01\)00280-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2797(01)00280-0).
- Oliva, M., Gravato, C., Guilhermino, L., Galindo-Riano, M.D., Perlas, J.A., 2014. EROD activity and cytochrome P450 induction in liver in gills of Senegal sole *Solea senegalensis* from polluted Huelva estuary (SW Spain). Comparative Biochemistry and Physiology Part C 166, 134–144. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.07.010>.
- Ortiz-Delgado, J.B., Segner, H., Arellano, J.M., Sarasquete, C., 2007. Histopathological alterations, EROD activity, CYP1A protein and biliary metabolites in gilthead sea bream *Sparus aurata* exposed to Benzo(a)pyrene. Histology. Histopathology 22, 417–432. <http://dx.doi.org/10.14670/HH-22.417>.
- Ortiz-Delgado, J.B., Behrens, A., Segner, H., Sarasquete, C., 2008. Tissue-specific induction of EROD activity and CYP1A protein in *Sparus aurata* exposed to B(a)P and TCDD. Ecotoxicol. Environ. Saf. 69, 80–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.12.021>.
- Ozmen, M., Güngördü, A., Kucukbay, F.Z., Guler, E.R., 2006. Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya dam lake, Turkey. Ecotoxicology 15, 157–169. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-005-0045-1>.
- Ozmen, M., Ayas, Z., Güngördü, Z.A., Ekmeçci, G.F., Yeri, S., 2008. Ecotoxicological assessment of water pollution in Sariyar Dam Lake, Turkey. Ecotoxicol. Environ. Saf. 70, 163–173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.011>.
- Picado, A., Bebianno, M.J., Costa, M.H., Ferreira, A., Vale, C., 2007. Biomarkers: a strategic tool in the assessment of environmental quality of coastal waters. Hydrobiologia 587, 79–87. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-007-0695-5>.
- Quesada-García, A., Valdehita, A., Torrent, F., Villarreal, M., Hernandez, M.D., Navas, J.M., 2013. Use of fish farms to assess river contamination: combining biomarker responses, active biomonitoring, and chemical analysis. Aquat. Toxicol. 140–141, 439–448. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.007>.
- Quesada-García, A., Valdehita, A., del Olmo, I., Gómez, M.J., Navas, J.M., 2015. Detection of effects caused by very low levels of contaminants in riverine sediments through a combination of chemical analysis, in vitro bioassays, and farmed fish as sentinel. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 68, 663–677. <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-014-0127-2>.
- Riva, C., Binelli, A., Provini, A., 2008. Evaluation of several priority pollutants in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in the largest Italian subalpine lakes. Environ. Pollut. 151, 652–662. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.03.016>.
- Sanchez, W., Piccini, B., Ditche, J.M., Porcher, J.M., 2008. Assessment of seasonal variability of biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) from a low contaminated stream: implication for environmental biomonitoring. Environ. Int. 34, 791–798. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.005>.
- Sloof, W., Van Kreijl, C.F., Baars, A.J., 1983. Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. Aquat. Toxicol. 4, 1–14. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(83\)90057-7](http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(83)90057-7).
- Solé, M., Fortuny, A., Mañanós, E., 2014. Effects of selected xenobiotics on hepatic and plasmatic biomarkers in juveniles of *Solea senegalensis*. Environ. Res. 135, 227–235. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2014.09.024>.
- Stockholm Convention, 1999. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) as amended in 2009. <http://chm.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>. Last (Accessed 24 August 2016).
- Suares-Rocha, P., Braunbeck, T., de Franceschide Angelis, F., Marin-Morales, M.P., 2015. Assessment of cytotoxicity and AhR-mediated toxicity in tropical fresh water sediments under the influence of an oil refinery. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 12566–12575. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-4431-9>.
- Thibaut, R., Schnell, S., Porte, C., 2006. The interference of pharmaceuticals with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in carp liver: an in vitro study. Environ. Sci. Technol. 40, 5154–5160. <http://dx.doi.org/10.1021/es0607483>.
- Turja, R., Höher, N., Snoeijs, P., Baršienė, J., Butrimavičienė, L., Kuznetsova, T., Kholodkevich, S.V., Devier, M.H., Budzinski, H., Lehtonen, K.K., 2014. A multibiomarker approach to the assessment of pollution impacts in two Baltic Sea coastal areas in Sweden using caged mussels (*Mytilus trossulus*). Sci. Total Environ.

- 473–474, 398–409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.038>.
- Valdehita, A., Fernández-Cruz, M.L., Torrent, F., Sericano, J.L., Navas, J.M., 2012. Differences in the induction of cyp1A and related genes in cultured rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Additional considerations for the use of EROD activity as a biomarker. *J. Fish Biol.* 81, 270–287. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03338.x>.
- Valdehita, A., Fernandez-Cruz, M.L., Gonzalez-Gullon, M., Becerra-Neira, E., Delgado, M.M., Garcia-Gonzalez, M.C., Navas, J.M., 2016. Androgens and androgenic activity in broiler manure assessed by means of chemical analyses and in vitro bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* <http://dx.doi.org/10.1002/etc.3495>.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149. [http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6).
- Van der Oost, R., Goksøyr, A., Celander, M., Heida, H., Vermeulen, N.P.E., 1996. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). II. Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. *Aquat. Toxicol.* 36, 189–222. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X\(96\)00802-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X(96)00802-8).
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A., 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 146, 281–300. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.04.011>.
- Vindimian, E., Namour, P., Migeon, G.B., Garric, J., 1991. In situ pollution-induced cytochrome P450 activity of freshwater fish: barbel (*Barbus barbus*), chub (*Leuciscus cephalus*), and nase (*Chonrostoma nasus*). *Aquat. Toxicol.* 21, 255–266. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90076-L](http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(91)90076-L).
- Wan, R., Meng, F., Fu, W., Wang, Q., Su, E., 2015. Biochemical responses in the gills of *Meretrix meretrix* after exposure to treated municipal effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 111, 78–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.038>.
- Wassmur, B., Gräns, J., Kling, P., Celander, M.C., 2010. Interactions of pharmaceuticals and other xenobiotics on hepatic pregnane X receptor and cytochrome P450 3A signaling pathway in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 100, 91–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.07.013>.
- Whyte, J.J., Jung, R.E., Schmitt, C.J., Tillitt, D.E., 2000. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure. *Crit. Rev. Toxicol.* 30, 347–570. <http://dx.doi.org/10.1080/10408440091159239>.
- Wunderlich, A.C., Silvaa, R.G., Zicaa, E.O.P., Rebelo, M.F., Parentec, T.E.M., Vidal-Martínez, V.M., 2015. The influence of seasonality, fish size and reproductive status on EROD activity in *Plagioscion squamosissimus*: implications for biomonitoring of tropical/subtropical reservoirs. *Ecol. Indic.* 58, 267–276. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.05.063>.
- Xie, Z., Lu, G., Hou, K., Qin, D., Yan, Z., Chen, W., 2016. Bioconcentration, metabolism and effects of diphenhydramine on behavioral and biochemical markers in crucian carp (*Carassius auratus*). *Sci. Total Environ.* 544, 400–409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.132>.
- Yang, G.Y., Zhang, T.B., Gao, S.T., Guo, Z.X., Wan, H.F., Gao, Y.X., 2007. Source and distribution characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in the Pearl River Delta. *Environ. Sci.* 28, 2350–2354.
- Yildirim, C.N., Yildirim, N., Danaba, D., Danabas, S., 2014. Use of acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase and cytochrome P450 1A1 in *Capoeta umbla* as biomarkers for monitoring of pollution in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 37, 1169–1176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.04.001>.
- Yilmaz, D., Kalay, M., Donmez, E., Yilmaz, N., 2016. Assessment of biological effects of environmental pollution in Mersin Bay (Turkey, northeastern Mediterranean Sea) using *Mullus barbatus* and *Liza ramada* as target Organisms. *Environ. Pollut.* 208, 361–370. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.10.002>.
- Zhao, Y., Luo, K., Fan, S., Huang, C., Hu, J., 2013. Modulation of Benzo[a]pyrene-Induced Toxic Effects in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) by 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether. *Environ. Sci. Technol.* 47, 13068–13076. <http://dx.doi.org/10.1021/es403260b>.
- Zheng, R., Chen, H., Bo, J., Xie, O., Hong, F., Zhang, Y., 2016. Joint effects of crude oil and heavy metals on the gill filament EROD activity of marbled rockfish *Sebastes marmoratus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 132, 116–122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.002>.

