



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا
Département de biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences Biologique

Spécialité : Toxicologie Appliquée

THEME

Synthèse sur la pollution des écosystèmes aquatiques

Présenté Par :

M^{elle} BELAJAL CHaima

M^{elle} HMIDI Warda

Devant le jury composé de :

Grade :

Université:

Président : M^{eme} NAJI Nassima

M.A.A Echahid Hama Lakhdar- El'Oued

Examineur : M^{elle} GUEMMOUDA Messaouda

M.C.A Echahid Hama Lakhdar- El'Oued

Encadreur: M^{eme} LAOUFI Hayat

M.A.A. Echahid Hama Lakhdar- El'Oued

Année universitaire: 2020/2021

Remerciements

*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir
donné
la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce
modeste travail.*

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous exprimons d'abord les grands remerciements et notre profonde
reconnaissance à M^{me} LAOUFI Hayat, qui a encadré et dirigé ce
travail depuis les premiers instants. Nous la remercions pour son
sérieux*

*et ses efforts afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter,
son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique, ont été
importants pour nous que ses connaissances scientifiques et ont
largement contribué à l'évolution de cette étude.*

Nous

Lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

*Nous exprimons nos vifs remerciements à M^{me} NAJI Nassima
pour*

*l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de
ce mémoire malgré ses nombreuses charges.*

*Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde
reconnaissance à M^{lle} GUEMMOUDA Messaouda d'avoir accepté
d'examiner notre travail. Nous tenons à elle l'expression de notre
grand respect.*

*Nos gratifications vont pareillement tous les interviewées et les
Participantes qui ont contribué à l'achèvement de notre étude.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous les enseignants et tous
les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie de
l'université Echahid Hamma Lakhdar El Oued.*

Dédicace

**D'abord je remercie le bon dieu allah de l'avoir accordée cette faveur
afin que j'ai continué mes études,*

** Avec grand plaisir je dédie le fruit de mes études aux deux être les plus
chère au monde ; qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur
amour, mes parents la source d'affection qui ont tout fait pour
n'aidera vivre cette joie de fin d'étude supérieur.*

*A la mémoire de mon mère, et ma source de bonheur ; la prunelle de
mes yeux ma mère «aicha» .*

**Mon adorable père «Mohammed» mon soutien moral et ma deuxième mère «Saïda»
source de joie et de*

bonheur qui a supporté vaillamment pas à pas tout au long de ma vie.

**A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue et encourager
inconditionnellement tout au long de ce projet ; mon frère «abd el halim »*

**A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, à ma sœur«fatima »
, qui est pour moi ici bas l'incarnation de l'amour, du pardon,
de la tendresse et du courage...*

**Et à mon frères Fathi, Faris, mes sœurs cadettes, ma petite sœur Juhayna, les
femmes et les fils de mes frères et les fils de ma sœur: gouvran , Abd al-Rahman et
Aya.*

**A mon binôme et ma chère amie «chaima» .*

A mon binôme et ma chère amie zineb debboune (merci beaucoup)

A toute mes amies.

merci

Dédicace

**D'abord je remercie le bon dieu allah de l'avoir accordée cette faveur*

afin que j'ai continué mes études,

** Avec grand plaisir je dédie le fruit de mes études aux deux être les plus*

chère au monde ; qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur

amour, mes parents la source d'affection qui ont tout fait pour

n'aidera vivre cette joie de fin d'étude supérieur.

A la mémoire de mon père, et ma source de bonheur ; la prunelle de

mes yeux ma mère «rougia » .

**Mon adorable père «Mohammed» mon soutien moral source de joie et de*

bonheur qui a supporté vaillamment pas à pas tout au long de ma vie.

**A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue et encourager*

inconditionnellement tout au long de ce projet ; mon frère «boubakeur et

abd el barie et ibrahim »

**A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, à ma sœur« Halima et*

Amina et tout ...»

, qui est pour moi ici bas l'incarnation de l'amour, du pardon,

de la tendresse et du courage...

**A mon binôme et ma chère amie «warda » .*

A toute mes amies.

merci

Liste des tableaux

Liste des tableaux	Pages
01- Dosage du Zn, réalisation de la gamme d'étalonnage.	31
02- Dosage du Pb, réalisation de la gamme d'étalonnage.	31
03- Dosage du Cd, réalisation de la gamme d'étalonnage.	32
04- Dosage de la catalase.	35
05- Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.	36
06- d'appréciation de la qualité générale de l'eau de rivières	40
07- Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous.	42

Liste des figures

Liste des figures	<i>Page</i>
01 - Cycle de l'eau dans la nature	05
02 Coupes transversales de la peau d'un Amphibien	18
03- sac vocal de crapaud	20
04- L'anatomie interne d'un Amphibien (grenouille)	20
05 - Cycle de vie de la salamandre <i>Ambystoma opacum</i> Gravenhorst, et la grenouille <i>Rana temporaria</i>	23
06- cécilie sud-américaine (<i>Siphonops paulensis</i>) .	24
07- Triton	25
08- grenouille verte	26
09-Principe de fonctionnement de l'HPLC.	38

Liste des Abréviation

AChE	Acétylcholinestérases
AIEA	Agence Internationale Energie Atomique
°C	Degré Celsius
CAT	Catalases
CE	Conductivité électrique
Cu	Cuivre
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
DL50	Dose létale de 50% de la population
DTNB	Acide 5,5'-dithiol-bis-2 nitrobenzoïque
EDTA	acide éthylène diamine tétra
ETM	Eléments traces métalliques.
FAO	Food Agriculture Organisation
GESAMP	Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution
GSH	Glutathion réduit
GST	les glutathion-S-transférases
HAP	Hydrocarbure aromatique polycyclique .
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
Kg	Kilogramme
mg	milligramme
min	minute
ml	millilitre.
O2	Dioxygène

PCBs	Polychlorobiphényles
PH	Potentiel d'hydrogene
T	Température
µg	microgramme
µl	microlitre
Zn	Zinc
%	Pourcentage

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviation

Introduction

Chapitre I – Généralités sur l’eau et les causes affectant sa pollution

I. Généralité sur l’ eau	04
I.1-Définition de l’eau	04
I.2-Source de l’eau	04
I.2.1- Eaux souterraines	04
I.2.2-Eaux de la surface	04
I.2.3 -Eaux des pluies	04
I.2.4 -Eaux des mers et océans	04
I.3-Cycle de l'eau	05
I.4-Paramètre de l’eau	06
I.4.1-Paramètre physique- chimique	06
I.4.1.1-Température de l’eau	06
I.4.1.2-Conductivité électrique	06
I.4.1.3-Potentiel hydrogène (pH)	06
I.4.1.4-Matières en suspension	07
I.4.1.5-Salinité	07
I.4.1.6-L’oxygène dissous (OD)	07
I.5-Paramètres microbiologiques	08
I.6-Paramètre organoleptique	08
I.6.1-L’Odeur	08
I.6.2-Le gout	08
I.6.3-La coloration	08
II. Pollution des milieux aquatiques	09
II.1-Définition de la pollution	09
II.2- pollution de l’eau	09
II.3-Source de pollution de l’eau	10

II.3.1-Pollution d'origine domestique	10
II.3.2-Pollution d'origine atmosphérique	10
II.3.3-Pollution d'origine industrielle	10
II.3.3.1-Exemple de pollution par les métaux lourds	11
II.3.3.2-Toxicité des métaux lourds	11
II.3.3.2.1-Mercure	12
II.3.3.2.2-Plomb	13
II.3.3.2.3-Cadmium	13
II.3.3.2.4-Zinc	14
II.3.4-Pollution d'origine agricole	14
II.3.4.1-Exemple de pollution par les pesticides	15

Chapitre II - Les bioindicateurs et Les caractéristiques des Amphibiens

I. Caractéristiques des batraciens	17
I.1-Description générale	17
I .2. Morphologie et l'anatomie	18
I .2.1- peau	18
I .2.2. - glandes	18
I .2.3-Appareil respiratoire	19
I .2.4- Appareil circulatoire	19
I .2.5- tube digestif	20
I .2.6- organes sensoriels	20
II. bioécologie d'amphibien	21
II.1-Régime alimentaire	21
II.2 -Habitat	21
III -Reproduction	22
III.1-Classification Des Amphibiens	24
III.1.1-les Apodes	24
III.1.2- les Urodèles	24
III.1.3-les Anoures	25

Chapitre III – Techniques utilisé pour évaluer la contamination des écosystèmes aquatiques

I. Paramètre physico-chimique de l'eau	28
I.1-Prélèvement de l'eau à analyser	28
I.2-Méthodes d'analyses	29
I.2.1- Mesure de la température	29
I.2.2-Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)	29
I.2.3 -Mesure de la conductivité électrique (CE)	29
I.2.4- Mesure de la salinité (Sal)	30
I.2. 5- Mesure de l'oxygène dissous (O2dissous)	30
II. Dosage des métaux lourds dans l'organisme	30
III. Dosage du biomarqueur biologique	
III.1- Activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase (AchE)	32
III.1.1-- Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)	32
III.2-Activité enzymatique de la Glutathion S-transférase (GST)	32
III.2.1-Dosage de la Glutathion S-transférase (GST)	33
III.3- Activité enzymatique de la Catalase (CAT)	34
III.3.1-Dosage de la catalase (CAT)	35
III.4-Dosage des protéines	35
IV-Méthodes et dosage des pesticides	36
IV.1-Technique d'extraction	37
IV.2-Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	38

Discussion

I. Paramètre physico-chimique de l'eau	40
I.1-Température	40
I.2-potentiel d'hydrogène (pH)	40
I.3- Conductivité électrique (CE)	41
I.4-Salinité	41
I.5-L'oxygène	42
II. Dosage des métaux lourds dans l'organisme	42
III. Dosage de Biomarqueur biologie	44
III.1-Activité de l'acétylcholinestérase (AchE)	44
III.2-Activité de catalase (CAT)	45
III.3-Activité de Glutathion S-transférase (GST)	46

III.4-Taux des Protéines	47
IV.-Dosage des pesticides	47
Conclusion	49
Référence bibliographique	51
Résumé et mots clé	

Introduction

Les pressions humaines exercées sur la biodiversité sont aujourd'hui sans précédent. On considère qu'à ce rythme, la moitié des espèces vivantes pourraient avoir disparu de la planète d'ici un siècle (**Wilson, 2003**). Le développement agricole et industriel de société humaine a conduit à une explosion des émissions anthropiques de substance chimiques dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. En effet on dénombre plus 100 000 produit chimique commercialisée sous plus d'un million de formes et qui sont régulièrement utilisé en industrie ou par l'homme devenant ainsi des contaminants et des polluant potentiel de l'écosystème globale (**Stegman et Hahn, 1994 ; Scott et Slomane, 2004**), en revanche, les systèmes aquatique sont les réceptacles final de nombreux polluants et devient ainsi les plus susceptible aux contaminations chronique des eux.

Les enjeux environnementaux et sanitaire, de la pollution des milieux aquatiques considéré comme des réservoirs de polluants, est un problème majeur tant pour la population humaine, utilisatrice des ressources en eau, que pour les populations végétales et animales pour lesquelles l'eau représente le milieu de vie. Les eaux usées qui dans de nombreux pays ne sont que peu ou pas traitées, transportent et déversent leur lot de polluants et de matière organique dans les eaux côtières favorisant ainsi l'eutrophisation et la bioaccumulation d'éléments toxiques dans les organismes marins dont le transport le long de la chaîne alimentaire représente un danger pour la santé humaine (**Boening, 1999 ; Daby, 2006**).

Dans les écosystèmes sain, la biodiversité est élevée et la présence de certains espèces comme les amphibiens atteste de la bonne qualité des habitat, ils occupent une place centrale dans le réseau trophique des écosystèmes aquatiques, maillon intermédiaire important entre les invertébrés et les vertébrés plus évolués ils constituent une source de nourriture pour ces vertébrés situé dans le niveau trophique plus élevé et introduisent ainsi dans la chaîne alimentaire des résidus chimique absorbé avec les proies contaminées (Lambert,).

Pour cela notre démarche consiste à mettre en relief la pollution aquatique et de visualiser les effets du stress environnemental sur quelques espèces animales aquatiques on se basant sur des travaux antérieurs.

Notre travail est illustré en trois chapitres, le premier chapitre concerne une revue sur l'eau et les facteurs polluants, le deuxième chapitre élucide la caractéristique des espèces aquatiques comme faculté d'être bioindicateur, le troisième chapitre est consacré aux différentes méthodes utilisé au laboratoire afin de détecter les polluants suivit par une

démonstration de résultats sur la contamination de certains espèces aquatiques. Nous terminons cette modeste étude par une conclusion générale.

Chapitre I
Généralités sur l'eau et les causes
affectant sa pollution

I. Généralité sur l'eau

I.1-Définition de l'eau

L'eau est l'élément essentiel à la vie, il représente un pourcentage très important dans la constitution de tous les êtres vivants, la molécule d'eau est l'association d'un atome d'oxygène et de deux atomes d'hydrogène sous le symbole H_2O . L'eau en tant que liquide est considérée comme un solvant universel, il se congèle à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, il peut devenir vapeur à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (**Hamed et al., 2012**).

I.2-Source de l'eau

I.2.1- Eaux souterraines

Les eaux souterraines résultent de l'accumulation des infiltrations dans le sol qui varient en fonction de sa porosité et de sa structure géologique. Elles se ruissellent vers les nappes. Il existe plusieurs types. La nappe libre est directement alimentée par les eaux de ruissellement. Elle est très sensible à la pollution (**Cardot, 2002**) in (**Ben abdarrezzak, 2010**).

Les eaux souterraines alimentent un grand nombre de petites municipalités. Elles ont des caractères très diversifiés. Elles sont généralement limpides, incolores, peu minéralisées et ne contiennent pas de microorganismes dangereux. Elles sont potables variable, selon la nature du sous sol, et la profondeur du puits (**Degremont, 1997**) in (**Ben abdarrezzak, 2010**).

I.2.2-Eaux de la surface

Ce terme englobe toutes les eaux circulantes ou stockées à la surface des continents. Elles proviennent surtout des pluies et sont constituées d'un mélange d'eau de ruissellement et l'eau souterraine qui alimentent les vallées, les barrages et les lacs (**Lahouel, 2010**).

I.2.3 -Eaux des pluies

C'est l'eau qui est recueillie et stockée en utilisant un toit, une surface au sol, un bassin de récupération rocheux. La qualité de l'eau de pluie recueillie sur un toit est généralement de meilleure qualité que celle récupérée dans une surface au sol ou un bassin de récupération rocheux (**Cwast, 2013**).

I.2.4 -Eaux des mers et océans Les mers et les océans constituent des énormes réservoirs d'eau, elles représentent

Près de 97.4% du volume d'eau existant actuellement sur notre planète, le reste est la part des eaux continentales (eaux souterraine et superficielles). Les eaux de mers sont caractérisées par une grande salinité, elles sont dénommées aussi « eaux saumâtres », ce qui rend leur utilisation difficile, notamment leur coût très élevé pour leur traitement (**Lounnas, 2009**).

I.3-Cycle de l'eau

Le cycle hydrologique est un concept qui englobe les phénomènes du mouvement et du renouvellement des eaux sur la terre (**Talatizi, 2014**).

Entre les quatre grands réservoirs d'eau de l'hydrosphère que sont les mers et océans, les eaux continentales (superficielles et souterraines), l'atmosphère, et la biosphère, l'échange d'eau est permanent et forme ce que l'on appelle le cycle externe de l'eau (Fig 1). Le moteur de ce cycle en est le soleil : grâce à l'énergie thermique qu'il rayonne, il active et maintient constamment les masses d'eau en mouvement (**Denat et al., n d**).

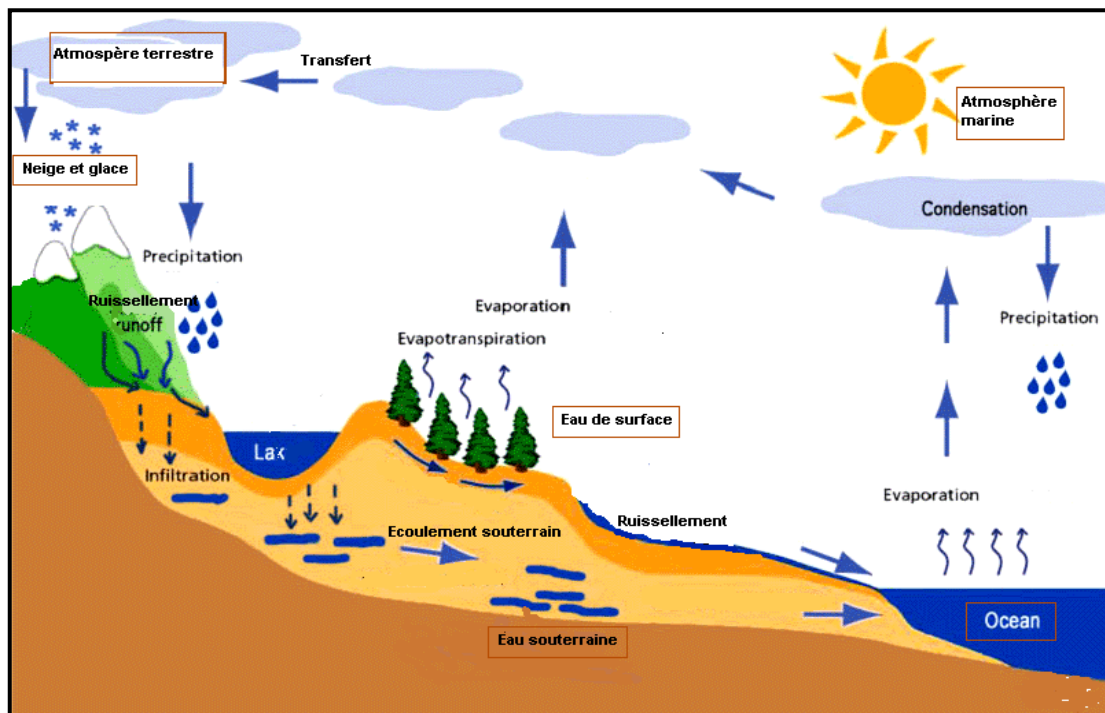


Figure 1-Cycle de l'eau dans la nature (Broussaud, 2008).

1. Evaporation : chauffée par le soleil, l'eau des océans, des rivières et des lacs s'évapore et monte dans l'atmosphère.

2. Condensation : au contact des couches d'air froid de l'atmosphère, la vapeur d'eau se condense en minuscules gouttelettes qui, poussées par les vents, se rassemblent et forment des neiges.

3. Précipitations : les nuages déversent leur contenu sur la terre, sous forme de pluie, neige ou grêle.

4. Ruissellement : la plus grande partie de l'eau tombe directement dans les océans. Le reste s'infiltre dans le sol (pour former des nappes souterraines qui donnent naissance à des sources) ou ruisselle pour aller grossir les rivières qui à leur tour, vont alimenter les océans. Et le cycle recommence (**Denat et al., n d**).

I.4-Paramètre de l'eau

Les propriétés physicochimiques de l'eau sont à la base de l'équilibre des différents processus du milieu aquatique. Une connaissance de ces propriétés est fondamentale pour évaluer la qualité de l'eau et l'état trophique d'un écosystème (**Gomez, 2015**).

I.4.1-Paramètre physique- chimique

I.4.1.1-Température de l'eau

La température elle est un facteur important dans la répartition de la vie végétale dans les eaux courantes. Ses variations ont une grande influence sur la vie aquatique, en particulier sur les phénomènes respiratoires (les eaux froides étant plus riches en oxygène que les eaux chaudes). Ses variations peuvent tuer certaines espèces, mais également, elles en favorisent le développement d'autres (**Arrigon , 1991**).

Une élévation de température peut perturber fortement le milieu (pollution thermique). Elle peut aussi être un facteur d'accroissement de la productivité biologique, qui peut être mis en valeur par l'aquaculture (**Gaujous, 1995**).

I.4.1.2-Conductivité électrique

La conductivité d'une eau naturelle est comprise entre 50 et 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$. L'estimation de la quantité totale de matières dissoutes peut être obtenue par la multiplication de la valeur de la conductivité par un facteur empirique dépendant de la nature des sels dissous et de la

température de l'eau. La connaissance du contenu en sels dissous est importante, dans la mesure où chaque organisme aquatique a des exigences propres (**Merabet, 2010**). La mesure de la conductivité constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau où chaque ion agit par sa concentration et sa conductivité spécifique (**Makhoukh et al., 2011**).

I.4.1.3-Potentiel hydrogène (pH)

Le potentiel d'hydrogène est le logarithme décimal de l'inverse de sa concentration en ions d'hydrogène (H^+), il est inférieur ou supérieur à 7 suivant que l'eau est acide ou basique. Il n'a pas de la signification hygiénique mais il représente une notion importante de la détermination de l'agressivité de l'eau et la précipitation des éléments dissous (**Hamed et al., 2012**). Le pH de l'eau mesure la concentration des protons H^+ contenus dans l'eau. Il résume la stabilité de l'équilibre établi entre les différentes formes de l'acide carbonique et il est lié au système tampon développé par les carbonates et les bicarbonates (**Ezzaouaq, 1991; El Blidi et al., 2003 ; Himmi et al., 2003**).

I.4.1.4-Matières en suspension

Les matières en suspension, représentent l'ensemble des particules minérales et organiques contenues dans les eaux. Elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, de régime d'écoulement des eaux, de la nature des rejets, etc. (**Rodier, 1984**). Les teneurs élevées en matières en suspension peuvent être considérées comme une forme de pollution. Une telle hausse peut aussi entraîner un réchauffement de l'eau, lequel aura pour effet de réduire la qualité de l'habitat pour les organismes d'eau froide (**Hébert et Légare, 2000**).

I.4.1.5-Salinité

Elle est définie comme la somme des matières solides en solution contenues dans une eau, après conversion des carbonates en oxyde, après oxydation de toutes les matières organiques et après remplacement des iodures et bromures par une quantité équivalente de chlorure (**Bentekhici et Zebbar, 2008**).

I.4.1.6-L'oxygène dissous (OD)

C'est un constituant vital de tous les tissus vivants, végétaux et animaux. Ils ont besoin, pour vivre de dioxygène à l'état libre ou combiné. La présence de matière organique réduit la teneur en oxygène dissous dans l'eau par oxydation à travers un procédé microbiologique

(Afnor, 2000).

C'est l'un des paramètres les plus sensibles à l'apport de pollution organique dans un cours d'eau (**Bontoux, 1983**).

Le dosage de l'oxygène dissous est d'une importance capitale dans les études portant sur la qualité des eaux, et ce, parce qu'il régit les réactions d'oxydoréduction (**Belhadj, 2006**).

La concentration en oxygène est directement influencée par la température et la salinité : une eau moins salée est plus froide dissout relativement plus d'oxygène (**Sacchi et Testard, 1971**).

I.5-Paramètres microbiologiques

On trouve naturellement dans les eaux de surface une grande variété de microorganismes, dont certains peuvent notamment favoriser la décomposition de la matière organique et le recyclage des éléments nutritifs essentiels au maintien des organismes aquatiques et de la chaîne trophique. Par contre, d'autres microorganismes proviennent des déjections d'origine animale et humaine et peuvent causer des maladies importantes chez les humains, dont des gastro-entérites et des infections cutanées (**Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs, 2013**).

I.6-Paramètre organoleptique

Les propriétés organoleptiques sont toutes ces descriptions des caractéristiques physiques de l'eau en général, telles qu'elles sont perçues par les sens, telles que son goût, son odeur, sa couleur (**Fall, 2007**).

I.6.1-L'Odeur

L'eau d'égout fraîche a une odeur fade qui n'est pas désagréable, par contre en état de fermentation, elle dégage une odeur nauséabonde (**Ladjel, 2006**).

I.6.2-Le gout

Ensemble des sensations gustatives, olfactives et de sensibilité chimique commune qui est perçu lorsque l'aliment ou la boisson est dans la bouche (**Rejesk, 2002 ; Rodier, 2005**).

I.6.3-La coloration

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances en solution. Elle est dite apparente quand la substance en suspension y ajoute leur propre coloration. Les couleurs réelles et apparentes sont approximativement identiques dans l'eau claire et des eaux de faible turbidité.

La coloration d'une eau peut être soit d'origine naturelle (éléments métalliques, matières humiques, microorganismes liés à un épisode d'eutrophisation etc), soit associée à la pollution (composés organiques colorés). Elle est donc très souvent synonyme de la présence des composés dissous (**Thomas, 1995**).

II. Pollution des milieux aquatiques

II.1-Définition de la pollution

C'est une modification défavorable d'un milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme le sous produit d'une activité humaine. Une pollution résulte de l'introduction dans un milieu d'éléments plus ou moins nuisibles. Cette pollution se caractérise par un déséquilibre à plus ou moins long terme du milieu. Il existe différentes formes de pollutions : chimiques (produits toxiques, pesticides), organiques (déjections, micro-organismes), thermiques (eau chaude) ; radioactives.... Au-delà d'un certain seuil, la pollution devient nocive pour l'homme (**Elisabeth, 2014**).

II.2- pollution de l'eau

La pollution de l'eau est décrite généralement par l'introduction ou la présence des substances nocives ou inacceptables dans l'ampleur suffisante pour modifier les indices de qualité de l'eau naturelle (**Nsikak, 2008**). La pollution de l'eau douce (par exemple par le biais de l'eutrophisation, l'acidification, et la pollution des eaux souterraines) est celle qui diminue sa pureté (**Park, 2007**).

En revanche, la pollution des eaux est l'un des aspects les plus inquiétants de la dégradation du patrimoine naturel. Des dommages causés à ce milieu récepteur pourraient à long terme constituer un réel danger à l'humanité et mettre en péril la vie de la flore et de la faune aquatique. Selon la définition donnée par GESAMP (Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) dans le cas particulier de l'environnement marin, le terme de pollution désigne l'introduction direct ou indirect par l'homme de substance ou d'énergie dans le milieu marin lorsqu'elle a, ou a, des effets nuisibles (**Belhafiane, 2016 ; Bentata-Keddar, 2015**) Le terme de pollution désigne donc l'introduction dans le milieu aquatique de

toute substance susceptible de modifier les caractéristiques physico-chimiques et/ou biologique et bactériologique de l'eau et de créer des risques pour la santé de l'homme, de nuire à la faune et à la flore terrestres et aquatiques de porter atteinte à l'agrément des sites ou de gêner toute autre utilisation normale des eaux (**Chenaifia, 2012 ; Bentata-Keddar, 2015**).

II.3-Source de pollution de l'eau

II.3.1-Pollution d'origine domestique

Elle provient des habitations, elle est en général véhiculée par le réseau d'assainissement Jusqu'à la station d'épuration. La pollution domestique se caractérise par :

- Des germes fécaux,
- De fortes teneurs en matières organiques,
- Des sels minéraux (azote, phosphore),
- Des détergents

En sortie de station d'épuration, on retrouve les mêmes éléments en quantités moindres (50 à 90% extraits) mais concentrés en un point de rejets (**Gaujous, 1995**).

II.3.2-Pollution d'origine atmosphérique

D'origine rejets naturelle ou anthropique, les substances émises peuvent être de nature physique (radioactivité, énergie. . .), chimiques (gaz, particules, aérosols. . .) ou biologiques (pollens, acariens, moisissures. . .). Cette première partie présente succinctement les sources de la pollution atmo-sphérique ayant directement ou indirectement un impact sur la santé et en se limitant aux chimiques d'origine anthropique (hors gaz à effet de serre et hors semi-volatils comme les pesticides). Ces pollutions sont dites primaires lorsqu'elles s'échappent directement des pots d'échappements, des cheminées ou des surfaces agricoles, etc. Elles vont ensuite se disperser, se diluer, se transporter voire se transformer en d'autres composés dits « secondaires » comme l'ozone ou le nitrate d'ammonium (**Charpin et al., 2016**).

II.3.3-Pollution d'origine industrielle

Les industries, en particulier chimiques, métallurgiques et même électroniques, constituent une cause essentielle de la pollution des eaux. Celle-ci prend place non seulement au niveau des usines mais aussi au niveau de l'utilisation des substances produites et au niveau des objets manufacturés, en fin de cycle du produit, avec les déchets (**Ramade, 1984**).

Elle est caractérisée par une très grande diversité, selon l'utilisation de l'eau dans les processus (refroidissement, lavage, extraction, mise en solution...etc.). Nous pouvons donc retrouver dans l'eau, qui est un bon solvant, tous les sous-produits possibles de l'activité humaine : Des matières organiques et graisses (industries agroalimentaires, abattoirs et équarrissage), Hydrocarbures (raffineries), acides, bases et produits chimiques divers (industries chimiques et pharmaceutiques) (**Gaujous, 1995**).

II.3.3.1-Exemple de pollution par les métaux lourds

La pollution par les métaux lourds est en grande partie causée par les rejets industriels et domestiques, l'activité minière et les eaux de ruissellement contaminées par les engrais et les pesticides utilisés en agriculture (**Bélangier, 2009 ; Omar Rouane, 2007**). Les métaux lourds présents dans l'eau et dans les sédiments sont absorbés par les plantes et les animaux marins, le dépassement d'une quantité donnée dans ces espèces provoque leur accumulation dans les organismes et tout au long de la chaîne alimentaire. Ils peuvent atteindre des concentrations menaçant la survie de certaines populations naturelles et présentent des dangers pour le consommateur de produits marins du fait de leur possibilité de concentration dans les espaces aquatiques, de leur élimination difficile et de leur large répartition dans le milieu aquatique (**Belhaïfia, 2016 ; Hebert et Legaret, 2000**).

Bioaccumulation des métaux traces dans les organismes aquatiques désigne la capacité des organismes aquatiques à concentrer et à accumuler les substances chimiques à partir du milieu (bioconcentration) et de la nourriture (biomagnification), à des concentrations bien supérieures à celles où elles sont présentes dans le milieu (**Ramade, 1992**).

II.3.3.2-Toxicité des métaux lourds

Les métaux lourds sont des éléments chimiques qui ont un poids spécifique (une mesure de la densité) au moins cinq fois celle de l'eau. Les métaux lourds les plus souvent impliqués dans l'empoisonnement de l'homme sont : le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. Certains métaux lourds, tels que le zinc, le cuivre, le chrome, le fer et le manganèse, sont requis par le corps en petites quantités, mais ces mêmes éléments peuvent être toxiques en grande quantité (**Fallon, 2006**).

L'exposition aux métaux lourds est potentiellement dangereux, en particulier les composés métalliques qui n'ont aucun rôle physiologique dans le métabolisme cellulaire. L'ingestion des

métaux par l'eau ou des aliments peut modifier le métabolisme d'autres éléments essentiels tels que Zn, Cu, Fe et Se (**Abdulla et Chmielnicka, 1990**).

Au cours des dernières décennies, les concentrations des métaux lourds ont augmentés de manière significative, pour atteindre les niveaux les plus élevés (jusqu'à plusieurs microgrammes par litre) dans les régions fortement peuplées, telles que le nord-ouest de la mer Méditerranée (**Danovaro, 2003**). La plupart des métaux lourds peuvent créer des complexes avec les particules organiques, de sorte que leur accumulation dans les organismes benthiques est généralement associée à la teneur en matière organique (**Dell'Anno et al., 2003**).

La forme ionisée des métaux lourds est la forme toxique, il semble que les formes conjuguées et liées des métaux lourds filtrées ne sont pas toxiques par eux-mêmes mais c'est la forme divalente de ces métaux libérés à partir de ces complexes qui est responsable de la toxicité cellulaire (**Barbier et al., 2005**).

Généralement les métaux et leurs composés interfèrent avec les fonctions du système nerveux central, le système hématopoïétique, le foie et les reins. Récemment, la plus grande attention est donnée aux composés métalliques qui ont des effets toxiques à des faibles niveaux d'expositions produisant ouvertement des signes et des symptômes cliniques et pathologiques (**Kalia et Flora, 2005**).

II.3.3.2.1-Mercure

Le mercure est le seul métal liquide à température ambiante. Il se combine très aisément avec d'autres composés et a une volatilité importante. Pour le mercure métallique (inorganique), on le retrouve sous forme gazeuse, liquide ou ionique. Mais le mercure peut également se combiner avec du gaz carbonique et on parle alors de mercure organique. Le mercure est très sensible à l'acidité du milieu. Il est extrêmement toxique et a des effets sur le système nerveux. La volatilité importante du mercure en fait un polluant important dans les études de pollution transfrontière (**Guermaz, 2016**).

C'est un polluant classique des eaux, capable de s'accumuler le long des chaînes alimentaires. Sa présence est surtout d'origine industrielle (incinérations, combustion de fuels et charbon) bien qu'une quantité non négligeable puisse provenir du dégazage naturel de la croûte terrestre (**Botta et Bellon, 2004**).

Toxicité

- L'intoxication par les sels de mercure s'appelle l'hydrargyrisme, caractérisé par des lésions des centres nerveux se traduisant par des tremblements.

- La voie de pénétration est l'inhalation et l'ingestion, l'intoxication cutanée est moins fréquente.
- Les dérivés minéraux du mercure agissent essentiellement sur les reins où ils entraînent à long terme une insuffisance rénale irréversible et les dérivés organiques (organomercuriels) agissent plus volontiers sur le système nerveux central **(Botta et Bellon, 2004)**.

II.3.3.2.2-Plomb

Elément chimique métallique de la famille des cristallogènes, de symbole Pb, rarement disponible à l'état natif, le Plomb est très souvent associé au Zinc dans les minerais. Ce métal est dense paradoxal, d'une couleur grise argentée, mou, malléable, flexible et facile à laminier, il se ternit à l'eau, facile à tréfiler tant qu'il est sous forme de gros fils **(Chiffolleau et al., 2001)**

Une source importante des émissions de plomb dans l'atmosphère a été le transport car le plomb a été pendant longtemps additionné à l'essence du fait de son pouvoir antidétonant. De ce fait, il contamine souvent les terrains en bordures d'axes routiers **(Guermaz, 2016)**.

Toxicité

Le Plomb est l'un des polluants les plus importants à l'heure actuelle du fait de sa non dégradabilité et de son aspect cumulatif dans les milieux naturels et dans les organes **(Verloo, 2003)**. Est l'un des quatre métaux les plus nocifs pour la santé, en particulier pour les vertébrés homéothermes **(Ramade, 2000)**.

L'empoisonnement par le Plomb varie avec la durée et l'intensité de l'exposition **(Cheftel, 1977)**. Chez les poissons le Plomb tout comme le Cuivre augmente avec l'âge, il s'accumule dans le foie, les reins et la colonne vertébrale **(Amiard, 1988)**.

II.3.3.2.3-Cadmium

C'est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celle du Zinc .Il est ductile (résistance à l'étirement), malléable (résistance à l'aplatissement) et résiste à la corrosion atmosphérique, ce qui en fait un revêtement de protection pour les métaux ferreux. Le Cadmium est un polluant lié à plusieurs processus industriels modernes, c'est l'un des métaux les plus toxiques non essentiel dans l'environnement, en plus il se produit sur la région

agricole comme contaminant des engrais phosphoreux et en boue d'épuration qui est également utilisé pour la fertilisation (**Prankel et al., 2004**).

Toxicité

Le Cadmium est considéré comme le métal le plus apte à s'accumuler dans les chaînes alimentaires (**Milhaud et al., 1998**). Le Cadmium est un poison cumulative très toxique qui s'élimine très lentement de l'organisme, sa demi vie biologique est de plusieurs années (>10 ans), il provoque :

-Des effets Chez l'homme: des atteintes rénales, troubles digestifs, hypertension artériel, altération osseuses (déformation du squelette).

-Des effets écologiques : toxicité aigue chez les organismes supérieurs et des algues à partir de 0.1 mg/l, les bactéries y sont moins sensibles, le cadmium se concentre comme le Mercure dans la chaîne trophique (**Gaujous, 1995**).

II.3.3.2.4-Zinc

Le Zinc est un oligo-élément nécessaire au métabolisme des êtres vivants, essentiel pour de nombreux métallos enzymes et les facteurs de transcription qui sont impliqués dans divers processus cellulaires tels que l'expression des gènes, transduction du signal, la transcription et la réplication (**Gunnar et al., 2007**).

Toxicité

L'exposition au Zinc de longues périodes peut entraîner des anémies, en particulier en association avec une déficience en Cuivre (Leblanc et al, 2004). Sa toxicité pour les organismes aquatiques n'en fait pas un contaminant prioritaire, bien qu'il agisse, à fortes concentrations, sur la reproduction des huîtres et la croissance des larves. La présence de Cuivre dans le l'eau de mer semble produire un effet de synergie sur la toxicité du Zinc, dont ce dernier métal avec le Cadmium sont, en général, considérés comme antagonistes (**Asso, 1982**), et leur présence simultanée réduit la toxicité du Zinc.

II.3.4-Pollution d'origine agricole

Elle dépend de plusieurs types d'activités : agricoles, d'élevages et liée à l'habitat.

L'agriculture est devenue une cause importante de pollution des sols et des eaux par suite de l'usage systématique des engrais chimiques et des pesticides.

L'élevage traditionnel abouti au fumier qui constitue des litières souillées de déjections animales (fertilisant naturel). Il présente de fortes charges organiques.

Aux activités précédemment décrites s'ajoutent une pollution de type domestique liée à l'habitat du monde rural (**Viala et Botta, 2005**).

Certaines de ces pollutions ont un effet cumulatif et retardé (cas des nitrates dans les nappes phréatiques). Ce qui ne facilite pas l'étude de ces phénomènes et la lutte contre leurs effets (**Afnor, 1992**).

II.3.4.1-Exemple de pollution par les pesticides

D'une manière générale, les pesticides engendrent un effet néfaste sur l'environnement, donc un certain nombre de risques à l'égard de la composition chimique de l'air, de l'eau et du sol qui se traduisent par des pollutions dont les conséquences toxicologiques (pour l'homme) et écotoxicologiques (pour les organismes vivants autres que l'homme) peuvent être préjudiciables à la qualité de l'environnement (**Mamy et al., 2008**). On estime que lors d'un traitement, 80 à 90% des quantités de pesticides utilisées n'atteignent pas le ravageur visé. Il se produit une dérive des produits vers les différents milieux : le sol qui constitue le support direct d'une culture, l'eau et l'air directement impactés par contact avec ces molécules, puis de manière indirecte les milieux environnants, atteints par ces produits phytosanitaires grâce aux facteurs climatiques tels que la pluie, la percolation ou après évaporation dans l'air (**Rial-Otero et al., 2003**).

En général, l'Homme absorbe les pesticides et leurs produits dérivés via la nourriture, l'eau, l'air respiré ou par contact avec la peau. Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements ont plus de risque que le reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation. Chez les agriculteurs, une espérance de vie plutôt supérieure à la moyenne du fait d'une sous mortalité par maladies cardiovasculaires et par cancers en général (**Viel et al., 1998**).

Chapitre II
Les bioindicateurs et
Les caractéristiques des Amphibiens

I. Caractéristiques des batraciens

La répartition biogéographique des espèces aquatiques est liée en grande partie aux exigences de chaque espèce en termes de température et d'oxygène. En réponse aux variations naturelles ou anthropiques de la température, ils initient une réponse adaptative au stress thermique qui inclut un grand nombre de modifications biochimiques, physiologiques et comportementales.

Chez les organismes ectothermes, la température de l'eau influence de façon importante de nombreux processus biochimiques, métaboliques et physiologiques, faisant de la température le facteur abiotique maître, influençant la croissance, la reproduction et le comportement (**Brett, 1979 ; Fry, 1947**). Les amphibiens sont des espèces ectothermes, ils ont un cycle biologique très particulier : les œufs sont pondus dans l'eau et les batraciens qui en émergent vivent tout d'abord dans le milieu aquatique sous forme de têtards avant de se métamorphoser et de mener une vie presque exclusivement terrestre. À travers leurs différentes phases de développement, les amphibiens entrent donc en contact avec les polluants dans leur nourriture, dans l'eau, dans le sol et dans l'air.. Toutefois, leur principale voie de contamination n'est probablement pas la nourriture, comme elle l'est chez oiseaux et mammifères, mais l'absorption cutanée. La peau des amphibiens est très importante pour la respiration, l'équilibre hydrique et les échanges d'ions et présente généralement une grande perméabilité aux produits chimiques. Elle n'est en aucun cas comparable à l'épiderme couvert de plumes ou de poils des oiseaux ou des mammifères (**Werner, 2015**)

I.1-Description générale

Les Amphibiens sont des vertébrés présentant généralement un cycle de vie biphasique : une phase aquatique et une phase terrestre (amphibien vient du grec « amphi » double et « bios » vie) (**Matthieu, 2010**). Les amphibiens descendent des poissons et sont apparus il y a plus de 400 millions d'années. Pourvus de poumons et de membres, ce sont les premiers vertébrés à être partis à la conquête de la terre ferme, ouvrant ainsi la voie aux reptiles, oiseaux et mammifères. On compte environ 6 000 espèces (**Hugues, 2014**). Ces animaux se caractérisent et se reconnaissent par les caractères suivants :

- Ce sont des Vertébrés Tétrapodes dont la peau est nue (absence de phanères = formations épidermiques de type écailles, poils, plumes) et souvent recouverte d'un mucus qui favorise les échanges gazeux (ces animaux ayant une respiration pulmo-cutanée).
- Ce sont des animaux poïkilothermes « à sang froid » leur température interne est dictée par celle de leur environnement (**Jean, 2007**).

I .2. Morphologie et l'anatomie

I .2.1-La peau

L'étude du tégument des batraciens est intéressante à plus d'un titre : il est sensible à la lumière, ses abondantes sécrétions sont variées et, en plus de sa fonction fondamentale de protection, il joue un rôle majeur dans la respiration et la régulation de la température interne (**Losange, 2008**). Une coupe transversale (Figure 05) montre que la peau peut être d'épaisseur variable, assez fine pour quelques espèces (Pélobate brun) ou plus épaisse pour d'autres (vrais crapauds ou grenouilles aquatiques). La couche superficielle de la peau peut présenter différents degrés de sécheresse, suggérant une protection contre l'évaporation (**Andreas et Nöllert, 2003**).

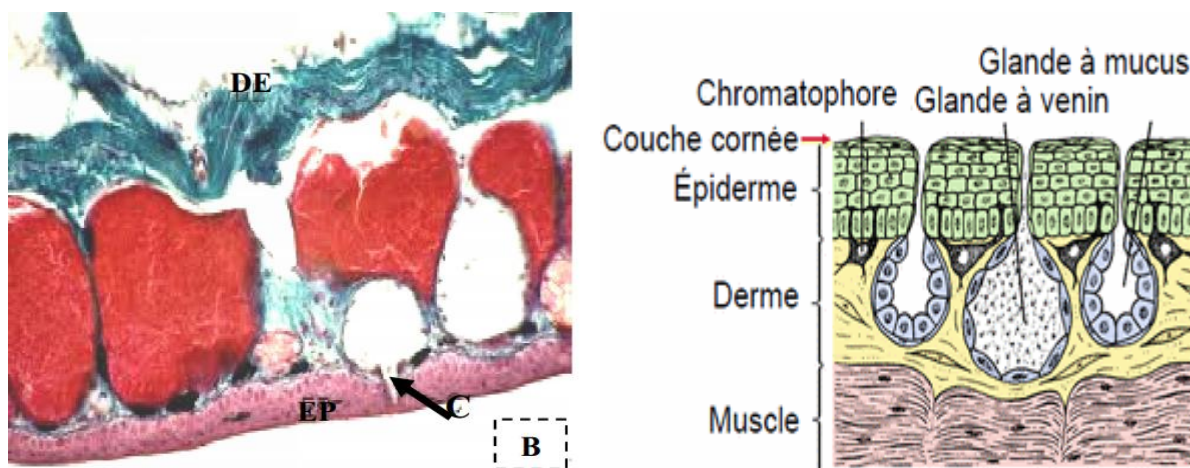


Figure 2- Coupes transversales de la peau d'un Amphibien.

A) : Schéma, **B)** : photo microscopique. **EP** : Épiderme, **C** : Glande, **DE** : Derme Ces animaux réduisent aussi les pertes d'eau par moyens comportementaux, en évitant la dessiccation en restant au frais, dans des microenvironnements humides pendant les périodes chaudes et sèches de la journée (**Eckert et Randall, 1999**) .

I .2.2. - Les glandes

- Les glandes muqueuses (ou mucigènes) :

De taille uniforme, elles sont réparties sur tout le corps (ventre et dos). Elles sécrètent un mucus qui permet de maintenir en permanence l'humidité de la peau et la protège des agressions

extérieures. Ce mucus permet ainsi aux Amphibiens de pouvoir rester un certain temps hors de l'eau et même de résister à un ensoleillement sans que la peau ne se dessèche. En effet, le mucus va produire de la fraîcheur par évaporation et permet ainsi à l'animal de contrôler sa régulation thermique lors de fortes chaleurs (**Lachraf et Ben Amor, 2019**)

- Les glandes granuleuses

Elles sont plus volumineuses que les précédentes et, une fois groupées, elles apparaissent sous la forme de pustules à la surface du corps, voire de glandes plus volumineuses, telles les glandes parotoïdes situées à l'arrière de la tête chez les crapauds et salamandres. Ces glandes granuleuses permettent aux Amphibiens une sécrétion volontaire d'un venin qui leur sert de protection contre les prédateurs ; mais celui-ci possède aussi des propriétés antiseptiques et antibiotiques très utiles aux Amphibiens qui ne possèdent pas un système immunitaire très performant (**Lachraf et Ben Amor, 2019**)

I .2.3-Appareil respiratoire

Les larves d'Amphibiens couvrent leurs besoins en oxygène par des échanges au travers de la peau et par les branchiers externes ou internes. Après la métamorphose, l'oxygène est également absorbé au niveau des poumons. Ces derniers sont simples, en forme de sac, et par les branchies à différence des poumons des mammifères, ils augmentent peu leur surface d'échange au moyen de replis. Les Amphibiens arrivent à satisfaire 50% de leurs besoins en oxygène par l'intermédiaire de la peau et/ou des muqueuses de la cavité buccale (sacs vocaux). Les sacs vocaux font caisse de résonance et permettent aussi d'emmagasinier de l'air (**Bouiedda, 2012**).

I .2.4- Appareil circulatoire

L'organe central de sanguine est le cœur. Il est formé par deux oreillettes et un ventricule. Celui-ci n'étant pas cloisonné, il s'y produit un mélange partiel de sang artériel (riche en oxygène) et de sang veineux (pauvre en oxygène). C'est pour cette raison que la circulation sanguine des Amphibiens est moins efficace que celle des Oiseaux ou des Mammifères et le degré de saturation de l'oxygène dans le sang n'est pas suffisant pour fournir l'énergie nécessaire au maintien d'une température corporelle La circulation de lymph est provoquée par deux paires de cœurs lymphatiques (**Bouiedda, 2012**).



Figure 3- sac vocal de crapaud

I .2.5-Le tube digestif

Le tube digestif des Amphibiens adultes est formé par la cavité buccale, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin et le cloaque. Certains Anoures, comme les vrais crapauds, ne possèdent pas de dents (Fig 04) . Les têtards d'Anoures n'ont d'estomac. Leur intestin grêle est très long (du fait de leur alimentation pauvre en énergie). Le tube digestif des larves des Urodèles ressemble beaucoup à celui des animaux adultes. La rapidité de leur digestion et l'échange des substances nutritives sont, en grande partie, dépendantes de la température. Si la température est basse, les Amphibiens sont capables (ou obligés) de jeûner (**Bouiedda, 2012**).

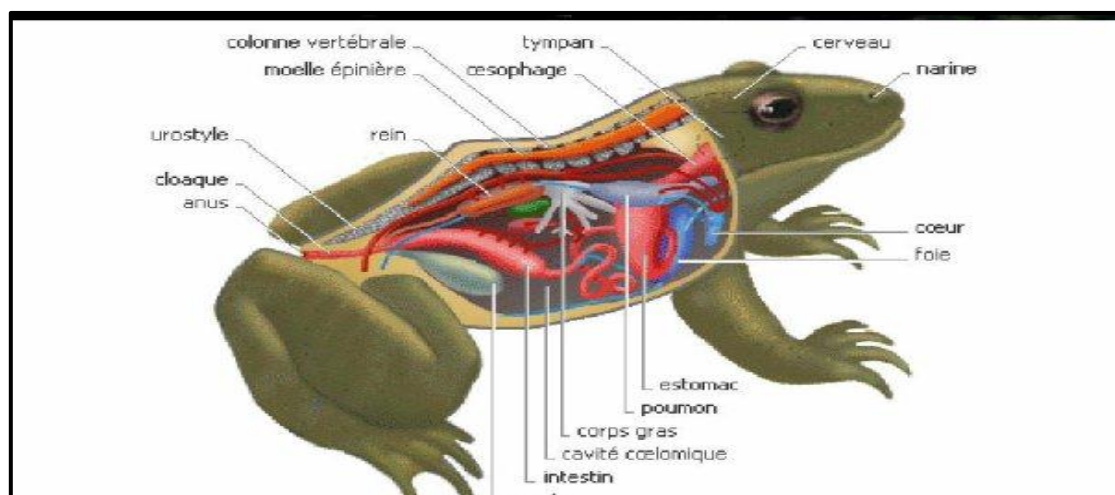


Figure 4- L'anatomie interne d'un Amphibien (grenouille).

I .2.6-Les organes sensoriels

Les organes sensoriels les plus importants des Amphibiens sont sûrement les yeux. La rétine est constituée de cônes et de bâtonnets. L'odorat paraît aussi bien développé. Il est possible qu'il joue un rôle plus important chez les Urodèles que chez les Anoures. Il n'existe pas d'opinion unanime sur le sens du goût. Les stimuli gustatifs sont perçus par des papilles situées sur la langue. L'ouïe est bien développée chez les Anoures comme le laissent supposer l'existence d'un tympan et l'émission de chants. Les salamandres et tritons réagissent davantage à des stimuli vibratoires. Comme organes sensoriels cutanés, il faut citer les lignes latérales des larves d'Amphibiens, capables de percevoir les stimulations électriques et mécaniques des courants d'eau. Chez quelques têtards, il est facile de distinguer ces lignes latérales. Les terminaisons nerveuses de la peau des Amphibiens adultes peuvent entre autres, détecter des stimuli chimiques, thermiques et tactiles. Grâce à ces récepteurs, les Crapauds calamites sont capables d'apprécier le caractère plus ou moins meuble d'un sol (**Bouiedda, 2012**).

II. Bioécologie des amphibiens

II.1-Régime alimentaire

Les Amphibiens se nourrissent de toutes les petites proies vivantes qu'ils rencontrent, depuis les menus Mammifères et Reptiles jusqu'aux Mollusques et Insectes. Ces derniers constituant cependant leur Principale nourriture et abondent dans les régions où ceux-ci vivent en grand nombre. Ils se détruisent aussi mutuellement, prélevant sur la population aquatique des mares et des étangs les œufs et les têtards de leurs congénères et même ceux de leur propre espèce (cannibalisme). Leur voracité est très grande, les œufs et les alevins de poissons sont également très recherchés. Les proies sont avalées en entier, sans subir de mastication toutefois la carapace de Mollusques ou d'Insectes sont broyées avant d'être dégluties (**Angel, 1945**). Les amphibiens (adultes) se nourrissent souvent d'arthropodes et de limaces. D'autre part, certains crapaud peuvent avaler des micro-vertébrés (rongeurs, grenouilles). Le régime alimentaire des adultes étant plus diversifié que celui des larves qui se nourrissent principalement d'algues (végétariens) (**Schlager, 1996**).

II.2 -Habitat

Printemps

Dès fin février - début mars, les crapauds se réveillent de leurs cinq mois de repos hivernal, à la faveur d'un radoucissement des températures à 5 degrés environ et d'une averse. La distance entre le site d'hivernage et la zone de frai peut atteindre 2 km. Aujourd'hui, le chemin reliant les différents quartiers est morcelé par la civilisation. La migration d'un habitat à l'autre est un voyage vers la mort pour beaucoup de grenouilles et de crapauds. Les routes à forte circulation ou les puits de drainage constituent des pièges mortels tandis que les prés et les champs exploités de manière intensive n'offrent aucune protection contre les prédateurs (**Andrea, 2009**).

Été

Après la ponte, les femelles se dirigent vers leur quartier d'été. Les mâles restent encore quelques semaines dans la zone de frai avant de gagner à leur tour leur quartier d'été, qui peut être une haie, une lisière ou un buisson. Mais aussi un jardin avec des tas de branches ou des amas de feuilles. Les quartiers d'été sont variés. Leur point commun réside dans une humidité suffisante et dans les possibilités de s'y cacher et d'y trouver refuge pendant la journée. Il faut dire que les amphibiens figurent au menu de nombreux animaux : héron cendré, hibou, oiseaux de proie, renard, putois, blaireau, hérisson ou rat (**Andrea, 2009**).

Hiver

Les quartiers d'hiver des grenouilles et des crapauds peuvent également prendre des formes très différentes. Certains animaux se cherchent une cachette dans un trou dans la terre, sous les pierres, les feuilles ou la mousse, sous une souche ou dans de petites grottes, et y passeront l'hiver. D'autres espèces retournent déjà aux eaux de frai à la fin de l'automne. Jusqu'à fin octobre, début novembre, les amphibiens peuvent être observés au cours de leur migration d'automne. A nouveau, ils sont exposés à de nombreux dangers et connaissent parfois une triste fin. Mais cette migration est moins remarquable que celle du printemps. Certaines espèces reprennent leur activité vocale même si l'on n'a jamais observé de ponte à ce moment-là (**Andrea, 2009**).

III -Reproduction

Leur cycle de reproduction est fascinant il récapitule le processus de la sortie des eaux. En effet la plupart des espèces d'Amphibiens pondent des œufs dans l'eau ou à proximité, desquels s'extirpent des larves aquatiques munies de branchies externes (Urodèles) ou internes (Anoures). Ces larves aquatiques (têtards) passent beaucoup de temps à se nourrir et se transforment ensuite rapidement en des adultes miniatures (métamorphose). Certains Urodèles donnent

directement naissance à des larves ou des jeunes déjà métamorphosés, ou pondent des œufs d'où sortiront directement, à l'éclosion, des jeunes métamorphosés (**Arnold et Ovenden, 2004**). Les Urodèles et les Anoures ont développé des comportements reproducteurs originaux et caractéristiques, adaptés à leur vie amphibie. Ils s'expriment par des signaux soit visuels (Urodèles) soit acoustiques (Anoures) (**Grosselet et al, 2001**).

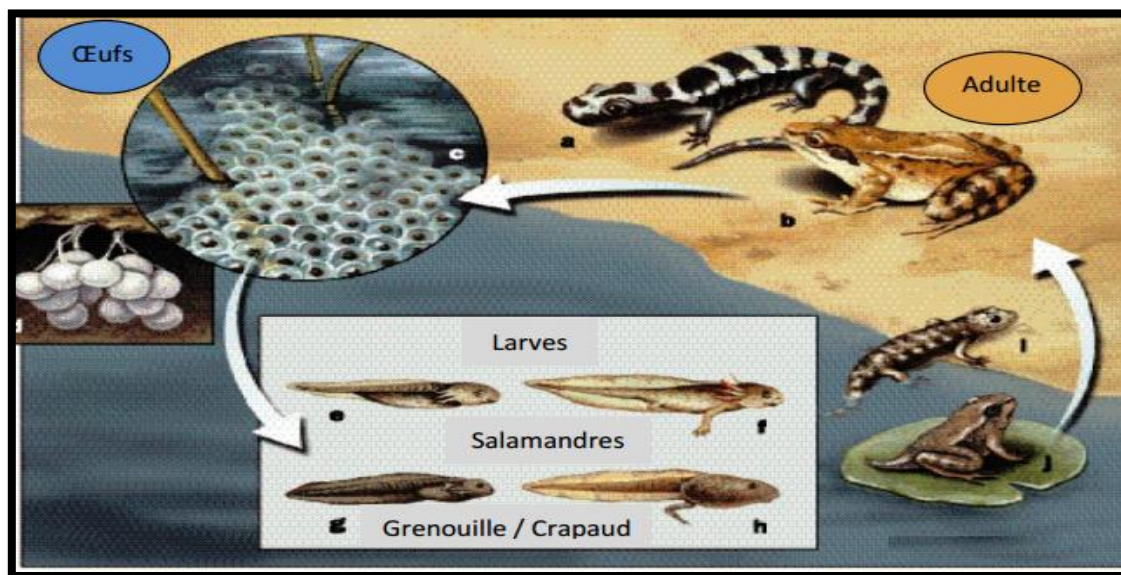


Figure 5-Cycle de vie de la salamandre *Ambystoma opacum* Gravenhorst, 1807 (*Ambystomatidae*) et la grenouille *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 (*Ranidae*) ;

a et **b**. adultes ; **c**. œufs pondus dans l'eau; **d**. œufs pondus dans un endroit humide sur terre; **e**. **f**. **g**. **h**. stade larvaire; **i** et **j**. stade juvénile

Les mâles urodèles ne chantent pas mais présentent des caractères morphologiques développés en période de reproduction (couleurs, crêtes, palmures) et des comportements nuptiaux reconnus par la femelle. La fécondation est interne grâce au spermatophore du mâle. Les œufs sont isolés et cachés dans la végétation par la femelle, présentant une gangue (masse gélatineuse qui entoure les œufs) peu épaisse.

Exception: La Salamandre tachetée *Salamandra salamandra* est ovovivipare. Les œufs se développent à l'intérieur du ventre de la mère (il n'y a aucune sorte de placentation) et y éclosent, suite à quoi la mère met au monde des larves (**Jean, 2007**).

Alors que chez le Crapaud accoucheur *Alytes obstetricans*, le mâle porte les œufs sur son dos et en assure le développement. L'accouplement a lieu à terre, et au moment de la ponte, le mâle

enroule sur ses pattes arrière le cordon d'ovules en les fécondant. Lorsque les embryons atteignent le stade larvaire, les dépose dans un point d'eau (**Jean, 2007**).

III.1-Classification Des Amphibiens

La classe des Amphibiens comprend trois sous-classes les Labyrinthodontes, les Lepospondyles et les Lissamphibiens. Les deux premiers sont fossiles et les derniers correspondent aux formes vivantes actuelles. Les Lissamphibiens sont eux-mêmes séparés en trois ordres (**Grenet, 2013**).

III.1.1-les Apodes

Le terme Apode est tiré du préfixe privatif grec *ἀ-*(a)privé de et de (podos) pied et se réfère à l'absence de membres chez l'animale (**Gerard et Grassé, 1954**). On les retrouve en Amérique du Sud (5 familles, 170 espèces) (**Idder, 2013**) On peut les répartir en quatre familles : Congridés ; Muraenesocides ; Echidnides ; Ophichitides (**Schleich et al, 1996 ; Bons et Geniez, 1996 ; Cox et al., 2006**).



Figure 6-cécilie sud-américaine (*Siphonops paulensis*) 1.

III.1.2- les Urodèles

Le terme Urodèle vient du grec (oura) queue et (dèlos) visible et signifie "à queue visible", car chez ces animaux la queue persiste après la métamorphose membres (**Gerard et Grassé, 1954**) et une, totalement absents de l'Afrique au sud du Sahara (**Let Françoise, 1986**) et comprenant, entre autres, les tritons et les salamandres. Le corps des urodèles est allongé, terminé par une longue queue. Leur aspect général est celui de lézards. On les en distingue toutefois facilement par la

lenteur de leurs mouvements et par leur peau, constamment humide, qui est nue et dépourvue des écailles qui recouvrent le corps des lézards (10 familles, 470 espèces) (**Idder, 2013**).

- Famille des Salamandridae (Salamandres et Tritons) : *Salamandra algira* Bedriaga, 1883 (Salamandre algire) *Pleurodeles nebulosus* Guichenot, 1850 (Pleurodèle ou Triton nebulosus) (**Schleich et al, 1996**).



Figure7-Titrons (Laurenti, 1768).

III.1.3-les Anoures

Les Anoures regroupent l'ensemble des Amphibiens sans queue à l'âge adulte (Anoure provient du grec « a » : sans et « oyra » : queue) (**Gerard, et Grassé, 1954**). Cet ordre regroupe plus de 5000 espèces présentes sur l'ensemble du globe (**Berroneau et al., 2010**). Aussi seul groupe représenté dans les régions considérées ici : ce sont les Crapauds, Grenouilles et Rainettes (**Let Françoise, 1986**) Leur taille varie de 1 cm, chez une espèce de Cuba, à 25 ou 30 cm chez la grenouille Goliath ou le crapaud géant. Tous les anoures sont adaptés au saut, grâce à des pattes postérieures très développées, très musclées et dont la longueur dépasse souvent celle du corps. (29 familles, 4 380 espèces) (**Idder, 2014**).

- Famille des Ranidae (Grenouilles) : *Rana saharica* Boulenger, 1913 (Grenouille verte d'Afrique du nord)
- Famille des Discoglossidae (Discoglosses) : *Discoglossus pictus* Otth, 1837 (Discoglosse peint)
- Famille des Bufonidae (Crapauds) : *Bufo mauritanicus* Shlegel, 1841 (Crapaud de Maurétanie)

- Famille des Hylidae (Rainettes) : *Hyla meridionalis* Boettger, 1874 (Rainette méridionale))
(Schleich *et al.*, 1996).



Figure 8-grenouille verte (Thomas, B)

Chapitre III

Techniques utilisé pour évaluer la contamination des écosystèmes aquatiques

Dans ce chapitre on va dresser les différentes techniques utilisé pour révéler une éventuelle pollution des écosystèmes aquatiques à travers l'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau et le dosage des tampons physiologiques des espèces. Suit d'une discussion des résultats des études antérieures.

I. Paramètre physico-chimique de l'eau

L'étude expérimentale consiste à effectuer des analyses physico-chimiques de l'eau. **Echantillonnage** Les principaux aspects dont il faut tenir compte pour obtenir un échantillon d'eau représentatif sont les suivants :

- La sélection convenable du point d'échantillonnage.
- La conservation adéquate de l'échantillon.
- Le strict respect des procédures d'échantillonnage (**Rodier, 1997**).

Les bouteilles utilisées pour la collecte des échantillons d'eau sont plongées, au préalable, dans un mélange constitué d'eau distillée et d'acide nitrique concentré (67%) pendant 48H (**ISO, 1986 in Mazrou et Tekili, 2017**). La verrerie utilisée pour le traitement des échantillons est lavée avec un détergent puis rincée une première fois à l'eau du robinet, et une seconde fois à l'eau distillée (**ISO, 1986 in Mazrou et Tekili, 2017**). La distillation de l'eau "imite" le processus naturel d'évaporation. L'eau à distiller est évaporée, et est ainsi débarrassée de toutes ses particules dissoutes et de ses divers polluants. L'eau distillée est utilisée dans de nombreux processus industriels, en chimie, et peut également être consommée dans l'alimentation (**Hecini, 2014**).

I.1-Prélèvement de l'eau à analyser

Le prélèvement se fait dans deux points différents. Les principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eau :

- Identité des préleveurs
- Date et heure de prélèvement
- Motif de la demande d'analyse
- Point de prélèvement d'eau
- Origine de l'eau

Les eaux doivent être prélevées dans des flacons stériles pour les analyses bactériologiques (**Rodier, 1997**).

I.2-Méthodes d'analyses

Les analyses physicochimiques qui ont été effectuées au niveau du laboratoire .

I.2.1- Mesure de la température

La détermination de la température est faite à l'aide d'un thermomètre de type « HANNA HI 9812 », muni d'une électrode combinée étalonné avant chaque manipulation. On lit directement la température exprimée en degré Celsius (°C) sur le cadran du thermomètre **(Kassim, 2005)** .

I.2.2-Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH mesure la concentration des ions H⁺ dans l'eau. Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique. La valeur du pH altère la croissance et la reproduction des micro-organismes existants dans une eau, la plupart des bactéries peuvent croître dans une gamme de pH comprise entre 5 et 9, l'optimum est situé entre 6,5 et 8,5, des valeurs de pH inférieures à 5 ou supérieures à 8,5 affectent la croissance et survie des micro-organismes aquatiques selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS). Exprime le degré d'acidité ou d'alcalinité des eaux usées. Ce paramètre joue un rôle primordial : dans les propriétés physico-chimiques (acidité, agressivité) ; dans les processus biologiques, dont certains exigent des limites de pH très étroites se situent entre 6,5 et 8,5 **(Achouri, 2003)**.

Mode opératoire

La mesure du pH est effectuée par un pH mètre électronique relié à une électrode en verre. L'électrode est introduite dans l'eau à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé. L'électrode a été d'abord étalonnée dans une solution tampon de pH égale à 10,7 et à 4 puis introduit dans l'eau à analyser, dont la température s'affiché avec pH au même temps **(Rodier et al., 2005)**.

I.2.3 -Mesure de la conductivité électrique (CE)

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique entre deux électrodes. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau ; elle est plus importante lorsque la température est élevée **(Normand, 2007)**.

Mode opératoire

Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre on émerge complètement l'électrode dans l'eau à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé (**Rodier et al., 2005**).

I.2.4- Mesure de la salinité (Sal)

Après l'obtenir la valeur de la conductivité électrique, on cliquant sur le bouton M 4 fois, AR puis Entrer pour la lecture de valeur de la salinité sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé (**ONA, 2017**).

I.2. 5- Mesure de l'oxygène dissous (O2dissous)

Parmi les gaz dissous, l'oxygène est celui qui joue le rôle le plus important pour la qualité biotique des eaux, indispensable à la respiration des organismes, il facilite la dégradation des matières organiques détritiques et l'accomplissement des cycles biochimiques. L'oxygène présent dans l'eau est le résultat des échanges entre l'atmosphère et la surface de l'eau ainsi que l'activité photosynthétique des phytoplanctons (**Ait Kaci et Hamdi, 2008**) Sa solubilité en fonction de la température (**Rodier et al., 1996**).

Mode opératoire

La mesure du l'oxygène dissous est effectuée par l'oxymétrie électronique relié à une électrode en verre. L'électrode est introduite dans l'eau à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé (**Rodier et al., 2005**).

II. Dosage des métaux lourds dans l'organisme

La minéralisation s'effectue selon la méthode de Descamps *et al.* (1996). Les individus de *Bufo viridis* récoltés de deux stations, ont été rincés à l'aide d'eau déminéralisée et séchés dans une étuve à 60°C pour 10 h, et à 105°C pendant une nuit. Après un broyage on ajoute 5 ml d'acide nitrique (HNO₃ à 65%) à 0,5 g d'échantillon puis placés dans un étuve à une température de 50°C durant 2h ensuite de 110°C pendant 16 à 18 h. Après, on additionne 5 ml d'eau oxygénée (H₂O₂ à 30 %) et laisser la solution à température ambiante pendant 6h, puis filtrer et diluer jusqu'à 25 ml avec de l'eau déminéralisée.

La concentration du Cd, Zn, Cu, Pb, Fer analysée par le spectromètre d'absorption atomique à flamme dans quatre répétitions pour chaque site, après la réalisation de la gamme d'étalonnage des éléments à analyser, et lire les absorbances des étalons et des échantillons, à

une longueur d'onde de 228,8 nm pour le Cd, de 283,30 pour le Pb, de 248,3 pour le Fer, de 324,8 pour le Cu, et de 213,9 nm pour le Zn, on calcule les concentrations des éléments métalliques dans le corps à partir de la droite de régression qui est obtenue par la courbe d'étalonnage en mg/l.

Etablissement de la courbe d'étalonnage

La préparation de la gamme d'étalonnage s'effectue à partir d'une solution mère étalon. Pour chaque élément, on prépare des dilutions dans 2 ml d'acide nitrique avec de l'eau déminéralisée pour obtenir des solutions à différentes concentration selon les tableaux (1,2, 3) suivants :

Tableau 01: Dosage du Zn, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Eau déminéralisée (ml)	100	100	100	100	100
Solution mère du Zn (µl)	0	10	20	40	100
Concentration obtenue (ppm)	0	0.1	0.2	0.4	1

Tableau 02: Dosage du Pb, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Eau déminéralisée (ml)	100	100	100	100
Solution mère du Pb (µl)	0	100	200	500
Concentration obtenue (ppm)	0	1	2	5

Tableau 03: Dosage du Cd, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Eau déminéralisée (ml)	100	100	100	100	100
Solution mère du Cd (µl)	0	10	20	40	100
Concentration obtenue (ppm)	0	0.1	0.2	0.4	1

III. Dosage du biomarqueur biologique

III.1- Activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase (AChE)

Les cholinestérases (ChE) sont des enzymes pouvant hydrolyser les esters de choline plus rapidement que d'autres substrats. Les vertébrés possèdent deux ChE correspondant à deux gènes distincts, l'acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE). Ces deux enzymes se distinguent par leur spécificité envers différents esters de choline (l'acétylcholine -ACh- et la butyrylcholine -BCh- pour l'AChE et la BChE, respectivement) et leur réactivité envers divers inhibiteurs. Le rôle de la BChE est moins connu que celui de l'AChE. Elle est capable d'hydrolyser certaines drogues telle que l'héroïne et pourrait être impliquée dans la détoxification de certains composés naturels. Dans les études environnementales, l'AChE et la BChE sont essentiellement utilisées comme biomarqueurs d'exposition aux pesticides organophosphorés et carbamates. Cependant, les métaux lourds et plus rarement les hydrocarbures aromatiques polycycliques peuvent également moduler l'activité des cholinestérases (en l'inhibant la plupart du temps), selon un mode d'action moins connu que celui des pesticides (Massoulié et Bon, 1993).

III.1.1-- Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman *et al.*, 1961) décrite précédemment (Sifi *et al.*, 2007 ; Amira *et al.*, 2011 ; Zaidi & Soltani, 2010). Elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée, libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine en présence de DTNB (acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm. Les échantillons d'individus témoins et traités sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38,03 mg éthylène glycol tris-beta aminoéthyl éther NNN'N' ou EGTA, 1 ml triton X 100%, 5,845 g NaCl (1 N), 80 ml tampon tris 10 mM à pH 7) à l'aide d'un homogénéiseur à ultrasons (Sonifer B-30) dans une cuve remplie de glace puis centrifugés à 9000 tours/mn pendant 15 mn. Le surnageant est utilisé immédiatement comme source d'enzyme pour la mesure de l'activité AChE.

Le dosage de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquotée de ; 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (39,6 g de DTNB, 15 mg CO₃HNa, dans 10 ml de tampon tris 0,1 M, pH 7) et 1 ml du tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 mn de repos nécessaire pour

épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques, s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (100 µl). L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante:

$$\text{AChE } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_{412}/\text{mn} \times V_t}{1,36 \times 10^4 \times V_s} \quad \text{mg de protéines}$$

DO: Densité optique.

Δ DO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction
Du temps.

1,36 x 10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB.

V_t: Volume total dans la cuve : 1,3 ml (0,1 ml du surnageant + 0,1 ml du DTNB + 1 ml
de tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml du substrat ASCh).

V_s: Volume du surnageant (0,1 ml).

mg de protéines: Quantité de protéines exprimée en mg.

III.2-Activité enzymatique de la Glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases, composants de la métabolisation de détoxification de phase II Dans les mécanismes de détoxification, les enzymes de phase II ont pour rôle essentiel de coupler un groupement hydrosoluble à un xénobiotique préalablement métabolisé ou non par les enzymes de phase I afin de le rendre lui-même plus hydrosoluble et donc plus facilement excrétable par l'organisme. On trouve principalement dans cette catégorie les glutathion Stransférases (GSTs), les UDP-glucuronosyle-transférases, les sulfotransférases et les époxydes hydrolases. Seule les GSTs seront abordées dans ce chapitre. Les GSTs catalysent la conjugaison d'un tripeptide, le glutathion réduit (γ-glutamyl-cystéinyglycine: GSH) à une multitude de substrats hydrophobes présentant un centre électrophile. Elles ont été mises en évidence dans la plupart des êtres vivants (**George et Young, 1988 ; Martínez-Lara et al., 1997; Pérez López et al., 2000**)

III.2.1-Dosage de la Glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) est mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/UV (GENESYS TM8). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml du tampon phosphate (0,1 M, pH 6) à l'aide d'un broyeur à ultrasons dans une cuve remplie de glace. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 14000 tours/mn pendant 30 mn et le surnageant servira au dosage de l'activité de la GST.

Le dosage de l'activité spécifique de la GST consiste à faire réagir: une fraction aliquote de 0,2 ml est ajoutée à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM) - GSH (5 mM); (20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml tampon phosphate 0,1 M, pH 6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant. La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 1 min pendant 5 min à 340 nm dans un spectrophotomètre UV. L'activité spécifique de la GST est déterminée par la formule suivante:

$$\text{GST } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_{\text{O}}/\text{mn} \times V_t}{9,6 \times V_s} \bigg/ \text{mg de protéines}$$

ΔD_{O} : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

V_t : Volume total dans la cuve : 1,4 ml (1,2 ml du mélange CDNB/GSH + 0,2 ml de surnageant).

9,6: Coefficient d'extinction molaire du CDNB.

V_s : Volume du surnageant utilisé dans le dosage (0,2 ml).

mg de protéines: Quantité de protéines exprimée en mg.

III.3- Activité enzymatique de la Catalase (CAT)

Les catalases sont des hémoprotéines tétramériques qui, avec un atome de fer par sous-unité, ont une masse d'environ 240 KDa. Elles catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire. Les catalases sont des enzymes peroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques

induites par l'eau oxygénée (H₂O₂). Les catalases sont présentes dans tout le règne animal et se retrouvent aussi chez les végétaux. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB ou certains pesticides (Livingstone, 1993) et les métaux (Labrot *et al.*, 1996a).

III.3.1-Dosage de la catalase (CAT)

L'activité de la catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Claiborne (1985). Elle est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7). L'homogénat est centrifugé à 15000 trs pendant 10 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage est réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 4 : Dosage de la catalase.

	Volume de surnageant (µl)	Volume du tampon phosphate (µl)	Solution H ₂ O ₂ (µl)
Blanc	0	800	200
Echantillon	50	750	200

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO/mn}}{0,040} \bigg/ \text{mg de protéines}$$

ΔDO : $\Delta\text{DO} / \text{mn}$ (blanc) - $\Delta\text{DO} / \text{mn}$ (Echantillon)

0,040 : coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

III.4-Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976), qui consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl du surnageant ou de la gamme étalon, 4 ml de réactif du bleu brillant de coomassie (BBC) (G 250, Merck). La solution de BBC se prépare

comme suit : dissoudre 50 mg de BBC dans 25 ml d'éthanol 95°. Après une agitation de 2 heures, on ajoute 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500 ml avec de l'eau distillée. La présence des protéines dans l'échantillon se révèle par une coloration bleue. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de boeuf (BSA) (Sigma, France) titrant 1 mg/ml (Tableau5).

Tableau 5 : Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de BSA (µg)	0	20	40	60	80	100

IV-Méthodes et dosage des pesticides

La recherche et le dosage de pesticide nécessitent des techniques d'extraction, de séparation et de détection très performantes afin de traiter rapidement un nombre d'échantillons susceptibles de contenir plusieurs substances actives. Les méthodes chromatographiques sont parmi les techniques les plus utilisées, les techniques mise en œuvre : chromatographie en phase liquide ou en phase gazeuse sont associées aux méthodes de détection courantes ou bien à la spectrométrie de masse pour atteindre des limites de détection de plus en plus basses garantissant ainsi la qualité des produits de consommation (**Latfaoui, 2017**).

IV.1-Technique d'extraction

- Les aliments sont d'abord coupés séparément en petits morceaux puis mixés dans un robot.
- rajoutons 200 ml d'acétone à chaque échantillon.
- Le tout est mélangé pendant 3 minutes à l'aide d'un mixeur à grande vitesse et laissé au repos pendant 20 minutes à température ambiante.
- Les mélanges obtenus sont définitivement homogénéisés par agitation durant 3 minutes. Partage acétone/ eau/ dichlorométhane.
- Dans un entonnoir de Buchner doté d'un papier filtre Wattman n°1

- filtrons l'homogénat préparé lors de l'opération d'extraction.
- Dans l'ampoule ajoutons 30 g de Chlorure de Sodium (NaCl) à 200 ml de filtrat ; le tout agité pendant 3 minutes.
- ajoutés 150 ml de dichlorométhane à la préparation et l'ensemble agité pendant 2 minutes.
- Enfin, le mélange laissé au repos une deuxième fois pendant 15 minutes et à température ambiante jusqu'à séparation des deux phases : la phase aqueuse et la phase organique
- séparation de réserver la phase aqueuse afin de procéder au séchage de la phase organique isolement avec 30 g de Sulfate de Sodium (Na₂SO₄) et ce, durant 30 minutes.
- La phase organique filtrée dans un ballon de 500 ml dans un entonnoir contenant une couche de Sulfate de Sodium.
- L'ampoule à décanter rincée à l'aide de 40 ml de dichlorométhane. La filtration de cette phase aqueuse alors effectuée.
- seconde et une troisième concentration obtenues par addition de dichlorométhane afin d'évaporer tout l'acétone et cela dans le but d'obtenir un extrait égal à 1 ml. Cet extrait mis dans un flocon de 5 ml alors prêt à être analysé (Latfaoui, 2017).

IV.2-Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

Elle permet le dosage des composés thermolabiles et ioniques. La colonne la plus utilisée est celle qui contient une phase stationnaire greffée en c18. Le détecteur UV est très sollicité dans les dosages de routine cependant le détecteur à barrette diode (DAD) offre de grandes possibilités d'identification des composés grâce à sa banque de spectres de référence.

Dosage par HPLC

La Chromatographie Liquide Haute Performance permet de séparer et doser différents composés d'une solution qui absorbe dans l'UV. Pour des conditions opératoires précises, chaque composé présente un pic avec un temps de rétention bien défini. La hauteur des pics ou l'intégration de la surface de ces pics permet d'obtenir la concentration des produits.

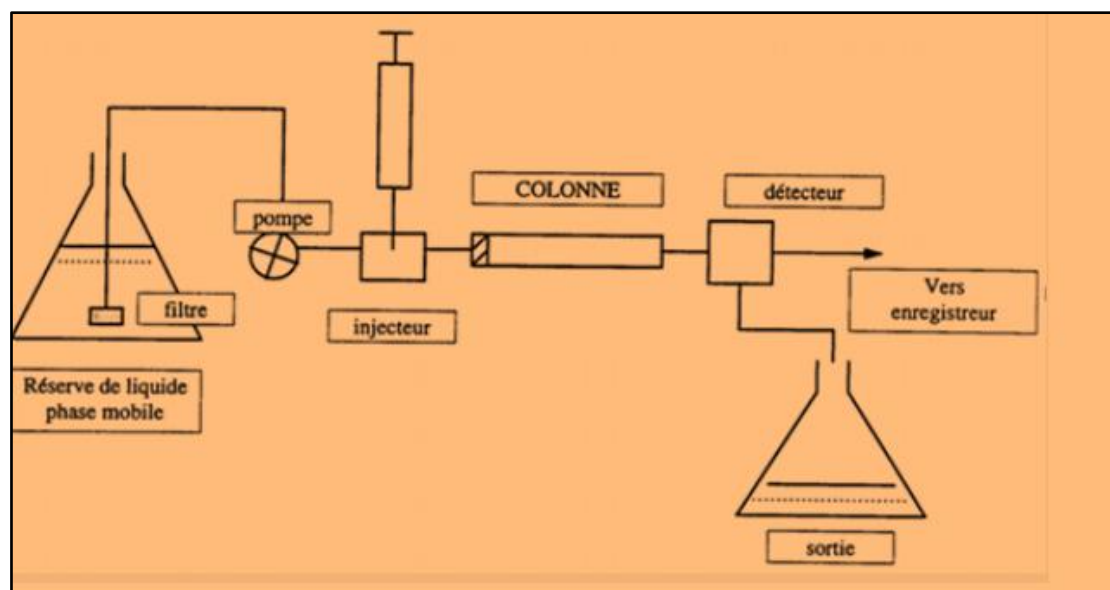


Figure 9-Principe de fonctionnement de l'HPLC.

Discussion

Discussion

I. Paramètre physico-chimique de l'eau

I.1-Température

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques. Elle conditionne les possibilités de développement et la durée du cycle biologique des espèces aquatiques (**Aberkan et al., 2011**). La température de l'eau est fortement influencée par les conditions environnementales liées à la situation géographique de la localité, la géologie des terrains traversés, l'hydrologie de l'écosystème et surtout au climat régnant, Selon Les données statistiques (**Guemmouda, 2014**) indiquent qu'il n'existe pas de différence entre les stations étudiées, et aussi la diminution de la température dans les stations contaminées dans notre travail ne montre pas clairement l'effet de la pollution sur la température de l'eau. la température a tendance à augmenter ou à diminuer avec l'évolution des saisons. La situation des stations influe légèrement sur ce paramètre.

I.2-potentiel d'hydrogène (pH)

Dans la plupart des eaux naturelles, le pH est compris habituellement entre 6 et 8,5 alors que dans les eaux tièdes, celui-ci est compris entre 5 et 9 (**Hceflcd, 2007**), Selon (**Bouchelaghem et Hafi, 2014**) pH de l'eau de lac Témachine est légèrement alcalin ; Cette alcalinité peut être expliquée par la nature géologique des terrains, aussi elle peut être liée à la qualité des eaux usées et de drainage évacuée dans le lac. les valeurs moyennes du pH sont de 7,82 et 7,57 en décembre et mars., Selon Savary (2010) Cette élévation peut être expliquée par la forte production végétale ce qui est le cas dans station ainsi que la nature calcaire des terrains traversés par les eaux et elle dépend aussi de la conductivité ; les eaux les plus minéralisées ont un pH élevé (**Rodier et al., 2009**). Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau de rivières (**Masson, 1988**), (Tableau6)

pH< 5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH=7	pH neutre
7<pH<8	Neutralité approchée : majorité des eaux de surface
5.5<pH <8	Majorité des eaux souterraines

pH>8	Alcalinité fort ; evaporation intense
------	---------------------------------------

Le pH de l'eau du lac Tonga est la valeur du pH la plus faible est de 6,41 mesurée dans la station S2 pendant le mois de mars et la plus élevée est de 7,27 obtenue dans la station S1 pendant le mois mai. Plus au moins neutre ce qui est le cas de la majorité des eaux de surface Cette gamme du pH favorise la multiplication et la croissance des microorganismes (**Aouaïssia et al., 2017**).

I.3- Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique permet d'évaluer la minéralisation globale et d'estimer la totalité des sels solubles dans l'eau, étant donné que la plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement, la conductivité électrique est également fonction de la température de l'eau : elle est plus importante lorsque la température augmente (**Nechad et al., 2014**).

La valeur la plus élevée de la conductivité est enregistrée au niveau de la station (S6). Cette élévation pourrait être liée à la géologie du terrain traversé riche en sels minéraux, induisant une forte minéralisation de l'eau.

Les résultats obtenus montrent une forte minéralisation des eaux, en général. ($666 \mu\text{S}/\text{cm} < \text{conductivité} < 1000 \mu\text{S}/\text{cm}$). Cette minéralisation pourrait provenir des rejets d'eaux usées, des engrais utilisés par les agriculteurs (origine anthropique) (**Redouane et Aouali, 2012**)

I.4-Salinité

La salinité est définie à l'origine comme la quantité de sels dissous présents dans l'eau (**Bouchar, 2010**) Ce paramètre varie proportionnellement avec la conductivité (**Terbah, 2007**). L'eau est dure ou calcaire si elle est riche en sels de calcium, ou en sels minéraux en générale. Au contraire, elle est douce lorsqu'elle est pauvre en ces éléments (**Rejsek, 2002**) Selon **Bouchelaghem et Hafi, (2014)** les mesures de la salinité de l'ensemble des échantillons montrent qu'elles sont comprises entre 13,52 à 16,3 % ce qui montre le caractère de la salinité de l'eau et aussi (**Gouasmia et al., 2016**) la salinité de l'eau est différente dans chacun des trois lacs avec des variations mensuelles plus marquées à Mégarine. Selon la classification de **Stuyfzand (1989)**, Ayata et Témachine sont classés dans la même gamme d'eau saumâtre salée et Mégarine dans la gamme d'eau salée. Les différences enregistrées entre les trois lacs seraient liées au système d'évacuation artificiel, placé de manière différente

dans le lac Ayata et dans le lac Témachine, et qui permet le renouvellement continu des apports d'eau en réduisant la concentration des sels par évaporation.

I.5-L'oxygène

L'oxygène de l'eau est un facteur déterminant pour la distribution et la survie des espèces **(Davis, 1975)**. Il est admis que des teneurs inférieures à 4 mg. L-1 indiquent une eau de mauvaise qualité ou polluée **(Wetzel, 1983)**.

La solubilité de l'oxygène dans l'eau est un paramètre qui dépend essentiellement de la température. Les teneurs en oxygène dissous sont très variables et irrégulières dans l'espace et dans le temps pour l'ensemble des stations. l'eau froide peut contenir une concentration plus élevée d'oxygène dissous que l'eau chaude, Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau de rivières (Masson, 1988), (Tab 07)

Tableau 7 : Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous. (Merzoug, 2009 in Masson, 1988).

%de saturation on oxygène	91à 110	71à90	51 à 70	31à50	<30 >130
Qualité	Excellent	Bonne	passable	Mouvaise	Trés mouvaise

Résultats la température des eaux du lac Tonga remarque une grande différence d'un mois à un autre. La valeur minimale 0,40 mg/L à été enregistrée dans le site2 durant le mois de mai et de même la maximale 1,45 mg/L a été enregistrée dans le site1 durant le mois de mars. Le brassage de l'eau au mois de mars et avril augmente le contact de celle-ci avec l'air et par conséquent augmente le taux d'oxygène dissous.

II. Dosage des métaux lourds dans l'organisme

Les métaux lourds Les plus dangereux d'entre eux sont le Plomb, le Cadmium et le Mercure qui ne possèdent aucune activité biologique favorable. Certains métaux (Cu, Fer, et le Zn) sont des éléments essentiels pour l'organisme et sont présents à l'état de trace 0,001 à 1 mmole/kg de poids frais **(Mason et Jenkins, 1995)**. L'étude de la bioaccumulation des contaminants par les organismes permet de mettre en évidence les composés qui ont pu pénétrer dans l'organisme et avoir des effets néfastes, Solon **(Guemouda, 2014)** le Zn et Fer

plus accumulants dans le corps de *P. cultrifera* avec des fortes teneurs, suivi par le Pb, et le Cu avec des teneurs assez faibles aussi. La concentration du cadmium dans les tissus mous des organismes marins pouvant être plusieurs fois supérieure aux concentrations en métaux dans le milieu environnant (**Ansari et al., 2004 ; Apeti et al., 2009**). Selon (**Tissoukai et Ouatmani, 2013**). Dans site d'étude (golfe de Béjaia), tous les polluants métalliques recherchés: zinc (Zn), plomb (Pb), cadmium (Cd), ont été retrouvés dans les échantillons étudiés (les moules) à des concentrations très hétérogènes. Dans les moules les concentrations du zinc les plus élevées ont été enregistrées au niveau de la S4 (11 mg /kg) et la S5 (5.9 mg /kg), en revanche, la plus faible concentration a été notée au niveau de la station 2 avec une valeur de 3.4 mg/kg.

La contamination du golf par ces éléments est attribuée essentiellement aux rejets liquides urbains et industriels, ainsi qu'à la pollution générée par les décharges publiques. La caractérisation des rejets a montré qu'ils ont une importante charge polluante, notamment en Zn.

On obtient un effet région concernant la concentration en Pb. révélé une différence significative pour la teneur en plomb entre les trois régions. Le classement validé est comme suit : Ghazaouet en 1^{ère} position d'accumulation du Plomb par l'oursin avec 38,78 mg/kg de Poids sec, suivie par Béni -Saf (10,75 mg/kg de poids sec) et enfin Honaine qui reste bien loin avec 0,35 mg/kg de poids sec. Les trois régions présentent des concentrations supérieures à celle fixée par l'AIEA (**Benguedda, 2012**).

(Ouali, 2018). Les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans les muscles de poissons capturés au niveau des stations proches des activités humaines et des rejets industriels, agricoles et domestique, la station Port (Cd 0.95), la station Joinoville (Cd 0.73,), et à l'embouchure de l'oued Seybouse concernant la station Sidi Salem (Cd 0.53,). Ces fortes teneurs en plomb, cadmium et zinc; pourrait être aussi lié à une source localisée, les bacs de réserve en carburants stockés à proximité des stations Port, Joinoville et Sidi Salem. Les rejets industriels du complexe

Sidérurgique drainés par les eaux de l'oued Seybouse vers la baie. Un axe routier important ; et à l'activité portuaire dense.

III. Dosage de Biomarqueur biologie

La surveillance de la qualité des écosystèmes repose en grande partie sur l'évaluation de l'impact toxicologique des polluants grâce à des méthodes simples et fiables, spécifiquement adaptées à l'étude des effets des xénobiotiques sur les organismes vivants et sur leur environnement (**Bouraoui et al., 2009**). Dans ce contexte, au début des années 80, la notion de biomarqueur est apparue ; c'est un paramètre biologique observable à un niveau inférieur à celui de l'organisme entier et qui permet d'obtenir des informations quant au degré d'exposition présent ou passé et à l'effet d'un contaminant sur un organisme (**Stagg, 1998 ; Key et al., 2006**). Il peut s'agir de paramètres génétiques, enzymatiques, physiologiques, morphologiques, moléculaires, cellulaires, biochimiques (**Kaiser, 2001; Markert et al., 2003**). Les biomarqueurs ont été largement utilisés dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement (**McCarthy et Shugart, 1990 ; Peakall, 1992**) ; leur utilisation permettrait vraisemblablement une évaluation réaliste et fiable des effets des polluants sur les écosystèmes (**Lagadic et al., 1997**). Le choix d'un biomarqueur est surtout déterminé par sa pertinence et par son efficacité à apporter une réponse claire et mesurable. Les différents travaux scientifiques réalisés ont permis de classer les biomarqueurs en trois catégories selon les événements toxicologiques : les biomarqueurs d'exposition, d'effets et de sensibilité/susceptibilité (**Lagadic et al., 1997 ; Van der Oost et al., 2003**).

III.1-Activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification des xénobiotiques chez les êtres vivants. Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Dans les jonctions interneuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre. Une fois l'information transmise, l'acétylcholine est rapidement inactivée par l'inhibition de l'enzyme par de nombreuses toxines entraînant une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (**Bocquené, 1996 ; Bainsy, 2000**). Selon (**Guemmouda, 2014**) Une forte inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera* récoltés de la station de Pikini Djedid, de Saint Cloud, et d'Ain doula par rapport à celle des individus d'El Morjane. Ces résultats correspondent à ceux des teneurs des métaux lourds et

des hydrocarbures. La présence des polluants métalliques et organiques dans les stations les plus contaminées (Pikini Djedid, Saint Cloud) provoque une inhibition de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera*.

En effet, l'Acétylcholinestérase constitue la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés, carbamates), herbicides (triazines, paraquat) et autres molécules neurotoxiques (incluant les métaux lourds) ; surtout utilisée en milieu marin (**Galgani et Bocquené, 1998**), l'inhibition de l'activité de l'AChE s'est également révélée intéressante dans le cadre d'étude de la qualité des milieux aquatiques continentaux (**Payne et al., 1996 ; Flammarion et al., 1998 ; Sturm et al., 1999 ; Barra et al., 2001**). Les mesures de l'inhibition de l'acétylcholinestérase dans les organismes aquatiques a déjà été utilisé comme un biomarqueur des effets des contaminants neurotoxiques (**Habig et Di Giulio, 1988 ; Galgani et Bocquene, 1990 ; Payne et al., 1996 ; Mc Henery et al., 1997 ; Kirby et al., 2000**). L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus de l'organisme aquatique est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par les pesticides anticholinestérasiques (**Zinkl et al., 1991 ; Fernandez-Vega et al., 1999 ; Dutta et Arend, 2003**). Il a été constaté une forte inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des sites de St-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda) comparativement à ceux récoltés à El-Mordjène (El-Kala). Cela témoigne l'exposition de ces organismes aux polluants tels que : les métaux lourds et les hydrocarbures. Nos résultats confirment cette inhibition (**Meghlaoui, 2015**), où des études ont déjà mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par des contaminants incluant certains agents surfactants, les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (**Herbert et al., 1995 ; Bocquéné et al., 1997 ; Forget et al., 2003 ; Kammenga et al., 2000 ; Dellali et al., 2001**). D'autres études ont montré que les éléments métalliques comme le mercure, le cadmium, le cuivre ou le zinc inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase (**Frasco et al., 2005 ; Varo et al., 2012**). L'activité de l'AChE augmente au printemps, et diminue en été puis devient plus ou moins stable en automne et en hiver.

III.2-Activité de catalase (CAT)

Les enzymes antioxydants sont des biomarqueurs du stress oxydatif ; cependant, les réponses à la pollution varient selon les espèces, les enzymes, et les contaminants (**Pandey et al., 2003**). L'activité de la CAT n'est pas spécifique à un groupe de contaminants, mais au stress oxydatif et peut être induite par une large gamme de contaminants organiques dont les

xénobiotiques et les métaux lourds (**Livingstone, 2001; Akcha et al., 2000 ; Roméo et al., 2003**). L'activité de la CAT chez *D. trunculus* dans le golfe d'Annaba montre relativement le même profil que celui de la GST avec une augmentation chez les individus collectés à Sidi Salem, suite à une exposition aux différents contaminants dans l'environnement. Sachant que ce site est contaminé par des rejets urbains, agricoles et industriels (**Bensouda-Talbi, 2015**). L'augmentation de l'activité de la CAT constitue une réponse à la présence de ces contaminants. L'activité de la CAT présente des avantages évidents en tant que biomarqueur. Cependant, la présence de grandes quantités de polluants peut surpasser le système oxydant, ce qui va provoquer une peroxydation lipidique des membranes cellulaires par un taux élevé en malondialdéhyde (MDA) chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah (**Sifi et al., 2013**), aussi Les données montrent que le taux de la CAT chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées à Pikini Djedid (Skikda), à Saint Cloud (Annaba), et à Ain doula (Collo) sont plus élevées d'une manière très hautement significative par rapport aux femelles récoltées à El Morjane (El-Kala) qui traduit bien une perturbation par la présence de pollution par les métaux lourds et les hydrocarbures qui provoquent l'induction de l'activité de la CAT(**Guemmouda, 2014**).

III.3-Activité de Glutathion S-transférase (GST)

L'activité spécifique enregistré des variations de l'activité de (**GST**)au niveau des sites. Selon.(**Guemmouda, 2014**) Les données biochimiques montrent que l'activité de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées à Pikini Djedid (Skikda), à Saint Cloud (Annaba), et à Ain doula (Collo), est plus élevée d'une manière très hautement significative par rapport aux femelles récoltées à El Morjane (El-Kala) ceci le signe de l'induction de la GST chez les femelles récoltées des stations infectées, mais aucune différence significative n'a été enregistrée entre les mois dans toutes les stations. .et chez (**Djouad, 2016**) Les résultats obtenus montrent une activité enzymatique de la GST maximale au mois de mai et minimale au mois de décembre au niveau du site d'El-Kala. Au mois d'Avril, elle était maximale et minimale au mois de décembre au niveau du site de Skikda, avec une induction de l'activité au niveau du site pollué (Skikda) par rapport au site d'El-Kala. Aussi, des études présentent des résultats similaires et indiquent une augmentation de l'activité de la GST chez les individus *D. trunculus* récoltés au niveau d'un site pollué (**Amira et al., 2011 ; Soltani et al., 2012**).

III.4-Taux des Protéines

Selon (**Hennad et Harratt, 2018**) les résultats obtenus concernant l'évolution des taux de protéines révèle des différences qui varient avec la période d'activité sexuelle surtout au mois d'avril où l'on constate un pic avec un taux plus élevé chez *P. cultrifera* suivi d'une diminution après la période de maturation sexuelle (mai et juin). Ces résultats s'accordent avec ceux de Porchet (1974) chez *P.cultrifera*. Il rapporte que la teneur en protéines totales augmente progressivement.

IV.-Dosage des pesticides

Selon (**Latfaoui, 2017**). la quantité de résidus de pesticides organochlorés dans les oursins un total 06 échantillon ont été recueillis en 2017. Les Résultats révèlent les concentrations en résidus de lindane dans les oursins communs qui proviennent de la plage de Béni-Saf. La présence d'insecticide organochlorés lindane dans échantillons à une concentration assez importante de 0. 1% qui représente une proportion de 0.5 mg par gramme de matière vivante (oursin commun *Paracentrotus lividus*). On note, l'absence totale d'insecticide organochlorés DDT dans échantillons.

Les organochlorés et les biphényles polychlorés sont très stables, liposolubles, et peuvent s'accumuler et persister longtemps dans le sol, les tissus végétaux et adipeux.ils sont neurotoxiques. Leur inhibition ou leur induction in vivo est un bon outil environnemental pour évaluer les effets potentiels des xénobiotiques et de leur niveau de toxicité à différents niveaux d'organisation biologique d'un organisme vivant (Dembélé et *al.*, 1999 ; Ozmen et *al.*, 1999 ; Mc longhlin et *al.*, 2000 ; Sturn et *al.*,2000 ; Varo et *al.*, 2001).

Selon (**Hannachi et Gousmi, 2016**) la comparaison des résultats du témoin par rapport à ceux des Gambusies traités pendant 7,15 et 40 jours révèle chez ces derniers, une diminution très significative, et très hautement significative de l'activité enzymatique de l'AChE après 15 j respectivement à la DL50/4 et à la DL50/3 . Il est également observé une diminution très hautement significative après 40 j pour les 2 doses.

Remarquons une inhibition hautement significative. résultats sont en accord avec ceux de (**Renden-von Osten et al., 2005**) qui rapportent que le carbofuran inhibe après 24h d'exposition, l'activité de l'AchE dans le cerveau de *Gambusia yucatana*. Une

exposition de 24h au Chloropyrifos inhibe l'activité de l'AChE dans le cerveau de *G. uatama* (**Zaidi, 2005**). En effet, l'activité de l'AChE mesurée dans le muscle d'un autre poisson (*Carassius auratus*) a été inhibée suite à une exposition au carbofuran (**Chouahda, 2006**). Une diminution de l'activité de l'AChE au niveau de l'hépatopancréas chez les femelles adultes de *G. affinis* exposées au diflubenzuron a été également rapportée par (**Leineo et Lehtonen, 2005**).

Selon (**Bouzerara, 2010**) les résultats relatifs au dosage de la GST dans l'hépatopancréas des femelles adultes et chez les alevins des *G. affinis* traités au carbofuran aux concentrations sublétales testés révèlent une stimulation de l'activité de la GST en réponse aux effets de la plus faible concentration du carbofuran (1/4 de la DL50). Cette réaction s'amplifie avec la dose du carbofuran et reste progressive jusqu'à la fin de l'exposition (40 jours). L'augmentation de la teneur en GST est accompagnée de la diminution du taux de GSH. Selon (**Chattergluet et Bhattacharya, 1984**) le carbofuran conjugué par le GSH est démenagé par la GST dans le but de diminuer son effet toxique sachant que la GST fait parti des enzymes substrats spécifiques qui catalysent la conjugaison de GSH avec les xénobiotiques favorisant leur élimination de l'organisme (**Leaver et al., 1992 ; Malmezet, 2000**).

Conclusion

Conclusion

Les pollutions occasionnées par les activités agricoles induisent généralement une diminution de la biodiversité, une banalisation du milieu, voire même la destruction de certains maillons des écosystèmes. Depuis la révolution verte qui a débuté dans les années 60, les pesticides font partie intégrante du système agricole. Ils sont devenus le principal moyen de lutte contre les organismes nuisibles. Les pesticides jouent un rôle important dans le contrôle des divers parasites. Cependant, leurs utilisations intensives et conventionnelles ont causé des effets secondaires sur l'environnement, la pollution par les métaux lourds est aujourd'hui la cause de contamination, il est le résultat de divers phénomènes, et notamment des activités industrielles.

Les écosystèmes aquatiques sont situés à l'aval de la pollution est constitué de ce fait un milieu de contamination critique, de plus les espèces qui y vivent, sont des organismes ectotherme caractérisé par une stratégie énergétique totalement propre. En effet la température corporelle est variable, cette fluctuation de température est en relation directe avec l'environnement, et c'est qui leurs procure la faculté d'être des espèces très vulnérable à la pollution.

Références bibliographiques

- **Abdulla M. et Chmielnicka J. (1990)**. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biol Trace Elem Res* . **23** :25–53.
- **Afnor, 1992**. Détermination de l'indice biologique global normalisé (IBGN). Association française de normalisation : NF T 90-350, 12p.
- **Afnor, 2000** . Qualité de l'eau. Détermination de l'indice biologique diatomées (IBD)-Norme NF T90-354, p63.
- **Aissaoui, A.(2013)** Evaluation du niveau de contaminations des eaux de barrage «Hammam Grouz» de la région de Oued Athmania (Wilaya de Mila) par les activités agricoles (Doctoral dissertation, Université Mouloud Maameri de Tizi Ouzou)
- **Ait Kaci S. et Hamdi M.S. (2008)** .Contribution à l'étude des paramètres physicochimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued "Béni-Messous". DEUA en science de la mer. (I.N.S.M.A.L). 45p.
- **Amira A., Sifi K. & Soltani N., 2011**. Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, **1**(2):7-16.
- **Andrea Boltshauser.2009** : Grenouilles & Cie : une vie entre terre et eau. p13
- **1.Cox, N., Chanson, J., & Stuart , S. (2006)**. The status and distribution of Reptiles and Amphibians of the Mediterranean Basin.IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge.
- **Andreas C. & Nöllert ,2003**. Guide des Amphibiens d'Europe: Biologie, Identification, Réparation. Delachaux et Niestlé, 383p.
- **Angel, 1945**: Contribution a l'étude de la faune herpetologique du Sahara Central. Bull. Mus. Hist. Nat., (2) 16 (6) : pp 418-419.
- **Ansari T., Marr I. & Tariq N., 2004**. Heavy metals in marine pollution perspective – a mini review. *J. Appl. Sci.*, **4** (1): 1–20.
- **Aouaissia Kh , Grabssia L , Tarbaghe A , 2017** .Approche Qualitative Du Phytoplancton Du Lac Tonga (Extreme Nord-Est Algerien) Mémoire de Master Université 8 Mai 1945 Guelma.180.34p.
- **Arnold N. et Ovenden D., 2004** .Le guide herpéto. Edition Delachaux et Niestlé, Paris.p288.
- **Arrigon J., 1991** : Aménagement piscicole des eaux douces, 7^{ème} édition Lavoisier. Paris, 639p.

- **Atmo Auvergne-Rhone-Alpes., 2017.** Pesticides dans l'air, Bibliographie sur la modélisation, Rapport, p. 10.
- **Badia- Gondart, F., (2003).** L'assainissement des eaux usées. Ed. Technicité, France, 227 p.
- **Bainy A.C.D.,2000.**Biochemical responses in penaeids caused by contaminant *Aquaculture.*, 191: 163-168.
- **Barbier Olivier ., Grégory ,Jacquillet. , Michel, Tauc. , Marc ,Cougnon . , Philippe, Poujeol. (2004).** Nephron physiology effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol* **99**: 105–110.
- **Barra R., Notarianni V. & Gentili G., 2001.** Biochemical biomarker responses and chlorinated compounds in the fish *Leuciscus cephalus* along a contaminant gradient in a polluted river. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66: 582-590.
- **Belanger, D.(2009).**Utilisation de la faune macrobenthique comme bio-indicateur de la qualité de l'environnement marin côtier Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, 67p
- **Belhadj M-Z, 2006 :** Etude de la pollution du barrage de ZIT EMBA (ALGERIE). Magistère en hydraulique. Option: Mobilisation des ressources hydriques. Université Labida Mohamed Tahar dite el hadj lakhdar-Batna, p33.
- **Belhafiane, M Y. (2016).** Impact de la pollution marine par quelques métaux lourds (Cu, Zn, Cd) au niveau de la station de Maset Ben M' hidi chez un Echinoderme (*Paracentrotus lividus*). (Diplôme de Master, Université De Tlemcen.
- **Ben Abdarrezzak. A, 2010.** Caractéristiques physico-chimiques des eaux des lacs Témachine, Méggarine et Ayata et inventaire des espèces piscicoles de ces lacs. Mémoire d'ingénieur d'Etat. Université d'Ouargla.
- **Benguedda.R. W, 2012 .**Contribution à l'étude de la bioaccumulation métallique dans les sédiments et différents maillons de la chaîne trophique du littoral extrême ouest algérien thèse DE DOCTORAT UNIVERSITE DE TLEMCEN149.80p.
- **Bensouda.Talbi.L ,2015** Etude biochimique, enzymologique et cytologique chez *Donax trunculus*: rapport avec le cycle biologique et la pollution dans le golfe de Annaba. Thèse de Doctorat 3eme cycle UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA 138.71p.

- **Bentata- Keddar . I,(2015)** Evaluation de la contamination par trois métaux traces(Cd,Ni,Zn) du rouget du vase *Mullus barbatus*(L,1758) pêcher au niveau de la cote occidentale algérienne .(Diplôme de Magister ,Université d'Oran).
- **Bentekhici N. & Zebbar Z-d., 2008** : Utilisation d'un SIG pour l'évaluation des caractéristiques physiques d'un bassin versant et leurs influences sur l'écoulement des eaux (Bassin versant d'Oued EL MALEH, Nord-Ouest d'Algérie). 1^{ère} conférence international sur le Web et l'information Technologie. Sidi Bel Abbès, ALGERIE, 147p.
- **Berrah A (2011).** Etude sur les pesticides. Mémoire en toxicologie appliquée, Université de Tébessa, Algerie
- **Berroneau M, 2010.** Guide des Amphibiens et Reptiles de France. Association Cistude Nature, 180 p.
- **Bertrand, K.(2012).**Suivi temporel des effets d'un déversement de mazout sur la communauté benthique de la zone portuaire de Parry Sound(Doctoral dissertation, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique).
- **Bocquené G. (1996).** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité : application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de Doctorat, Ecole pratique des hautes études. 250p.
- **Bocquené G., Galgani F. & Walker C.H., 1997.** Les cholinesterases, biomarqueurs de neurotoxicité. In: Biomarqueurs en Ecotoxicologie: Aspects Fondamentaux. Masson, Paris. pp. 209-240.
- **Boltshauser .A ,2009** : Grenouilles & Cie : une vie entre terre et eau. p13.
- **Bons J., & Geniez P, 1996.** Amphibiens et reptiles du Maroc (Sahara occidental compris), Atlas biogéographique. Ed AHE, 319 p
- **Bontoux M., 1983** : Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux de boisson. CEBEDOC édition. Lavoisier, p7.
- **Botta, A. Bellon, L .(2004).**pollution chimique de l'eau et santé humaine .coordination Euro-méditerranéenne de l'université TETHYS.p23.
- **Boudeal Et Djouid H. (2003)-** Pollution de l'Oued boussellem par les eaux usées urbaines et industrielles et impact de leur utilisation dans l'irrigation. Thèse ing, tatho des écosystèmes universitaires, Stif. 6-13p.

- **Bouchelaghem .S , Hafi T.2014.** SUIVI DE LA QUALITE PHYSICOCHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU DU LAC TEMACINE (REGION DE TOUGGOURT), Université d'El Tarf.147.13p.
- **Bouiedda.N, 2012.** Etude du régime alimentaire des amphibiens et reptiles de la Numidie. Thèse magister, Université 8 MAI 1945, Guelma, p87.
- **Bouraoui, F., Grizzetti, B., Aloe, A., 2009.** Nutrient discharge from river to seas for year 2000. EC-JRC (report EUR 24002 EN) Luxembourg 70pp.
- **Bouzeraa. N ,2010 .**Etude des effets d'un pesticide carbamate sur le système de défense antioxydant et sur le comportement deGambusia affinis(Poisson, Téléostéen) au cours du cycle reproducteur. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en EcologieAnimaleUniversité Badji Mokhtar Annaba.68p.
- **Bouziani M. (2000)-** L'eau de la pénurie aux maladies. Edition IBN-Khaldoun. Oran. 247p.
- **Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram; quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, **72**: 248-254.
- **Bridgman Howard A . (2001).** Encyclopedia of Global Change : Pollution . Ed. Andrew S. Goudie. Oxford University Press. **Danovaro R. (2003).** Pollution threats in the Mediterranean sea: An Overview. *Chem Ecol.* ,**19**:15–32.
- **Broussaud, J. (2008).** Modéliser le cycle global de l'eau. Institut Français de l'éducation. En ligne <http://eduterre.ens-lyon.fr/thematiques/hydro/cycleau/modeliser>
- **Buriks C. (2000).** pollution of the natural environment . The Oxford Companion to the Earth. Ed. Paul Hancock and Brian J. Skinner. Oxford University Press. Oxford Reference Online. Oxford University Press. <http://0www.oxfordreference.com.edlis.ied.edu.hk/views/ENTRY.html?subview=Mai n&entry=t112.e735>.
- **Centre for Affordable Water and Sanitation Technology (CWAST). (2013) .** Introduction à l'Analyse de Qualité de l'Eau de Boisson. Calgary, Alberta, T2E 8H6, Canada.
- **Charpin.D, J.-C. Pairon, I. Annesi-Maesano, D. Caillaud, F. de Blay, G. Dixsaut, B. Housset, J.-C. Meurice, I. Roussel, D. Zmirou, P. Delaval, J.-C. Dalphin 2016.** La pollution atmosphérique et ses effets sur la santé respiratoire. Document d'experts

du groupe pathologies pulmonaires professionnelles environnementales et iatrogéniques (PAPPEI) de la Société de pneumologie de langue française (SPLF), Revue des Maladies Respiratoires (2016) 33, 484—508.

- **Chaterjee S. and Bhattacharya S., 1984.** Detoxification of industriel pollutants by the glutathione-S-transferase system in the liver of *Anabas testideneus* (Bloch). Toxicol. Lett., 22:187-198.
- **Chaouki , M .(2016).** Cours Pollution (Air, Eau, Sol). UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA. P50.
- **Chenaïfia, D.(2012).** Effets de l'extraction des granulats sur la nappe Alluviale d'Oued El-Harrach (Mitidja amont)-Wilaya de Blida (Doctoral dissertation, Remini Boualem).
- **Chouahda S., 2006.** Impact de deux xenobiotiques (cadmium et halofénoside) sur *Gambusia affinis* et évaluation du stress environnemental dans le golf de ANNABA par l'utilisation de *Donax trunculus*. Mémoire de Magister. Université d'ANNABA.
- **Claiborne A., 1985.** In Greenwald R.A (Ed). Handbook of Methods for Oxygen Radical Research CRC press, Boca Raton, FL., 283.
- **Davis, J.C. (1975).** Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species: a review. *J. Fisher. Board Canada*, 32: 2295-2332.
- **Dellali M., Gnassla-Barelli M., Rome O. M. & Aïssa P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 130 C : 227-235.
- **Dell'Anno A. , Mei ML., Ianni C. et Danovaro R. (2003).** Impact of bioavailable heavy metals on bacterial activities.
- **Denat.A , Denat .P, Sammut.F,** « L'ÉPURATION DE L'EAU », Centre de formation de l'eau.
- **Djouad.H. L, 2016.** Etude de la biologie et de la biochimie des néréidés (Annélides, polychètes) du Littoral Est Algérien Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA154,75p.
- **Dutta H. M. & Arends D. A., 2003.** Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile blue gill sun fish. *Environmental Research*, 91:157-162.

- **Eckert R. & D. Randall.** 1999. Physiologie animale: mécanismes et adaptations. De Boeck Supérieur. 840p.
- **El Blidi S., Fekhaoui M. (2003).** Hydrologie et dynamique marégraphique de l'estuaire du Sebou (Gharb, Maroc). Bull. Inst. Sci., 25 : 57–65.
- **Elisabeth, S. (2014).** Traitement de la pollution des eaux pluviales et protection des milieux aquatiques sur le territoire du Grand Lyon : guide méthodologie. Métropole de Lyon. P55.
- **Ellman G. L., Courtney K.D., Andres V. & Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7 (3): 88-95.
- **Eric Belnot, Aude Lamerandt, et Rémi Duguet, accompagnés de Florence Delay(François Oger, Jean Muratet, ... Frédéric Melki, mars 2014** Plan national d'actions en faveur du Crapaud vert Bufo viridis(Laurenti, 1768)2018-2014)**pp2-3.**
- **Ezzaouaq M. (1991).** Caractérisation hydrodynamique, physico-chimique et bactériologique des eaux superficielles de l'estuaire du Bouregreg (Maroc) soumis aux rejets des villes de Rabat-Salé. Thèse D.E.S. Fac. Sci. Rabat, 140 p.
- **Fall, C. (2007).** Etude de la qualité de l'eau de robinet et de celle de la nappe phréatique dans les différentes Communes d'Arrondissement du département de Guédiawaye. Dakar, Sénégal: Université Cheikh Anta Diop Dakar, département de Géographie.
- **Fallon L MD Jr., ,(2006).** Infancy through Adolescence : Heavy Metal Poisoning . Gale Encyclopedia of Children's Health . 4 :866-868.
- **Fernandez-Vega C., Sancho E., Ferando M. D. & Andreu-Mliner E., 1999.** Thiobencarb toxicity and plasma AchE inhibition in the euppen eel. Journal of Environmental Science and Health, Part B . 34B, 64.
- **Flammarion P., Garric J. & Monod G., 1998.** Utilisation de l'activité enzymatique EROD chez les poissons des hydrosystèmes continentaux. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F., Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 57-75.
- **Fleuriau.R ,Bosc.V, 2014** Synthèse annuelle 2014 relative au Plan national d'action en faveur du Crapaud vert en Corse **p P4-7 .**

- **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.
- **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.
- **Frédéric, D 2014** Le Pélobate brun et le Crapaud ver . .p6.
- **Galgani F., Bocquené G., 1990.** In vitro inhibition of acetylcholinesterase of four marine species by organophosphate and carbamates. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 45, 243-249.
- **Galgani F. & Bocquené G., 1998.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organo-phosphorés et carbamates. In : Lagadic G. L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F. (Eds.). *Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*. Paris, Tec & Doc, 111-134.
- **Garcia1 F. Cortes S. Oyarzun J. Ceruelo A. Vazquez P., 2012.** Pesticides Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks, Article, *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology*.
- **Gaujous, D., (1995).** La pollution des milieux aquatiques, aide mémoire, 2^{ème} édition. Ed. TEC & DOC. Lavoisier. France. 229 p.
- **Geores G.S. & Young P., 1988.** Purification and properties of plaice liver cytosolic glutathione S-transferase. *Mar. Environ. Res.*, **24**: 93-96.
- **Gerard & Grassé 1954 Gerard, P. & Grassé, P.-P., 1954.** Organe Olfactif. Dans *Traité de zoologie : anatomie, systématique, biologie T12*. Paris, p. 521-552
- **Gouasmia.G, Amarouayache.M, Frihi .H, Kara.M.H, (2016).** Caractérisation physico-chimique de trois lacs salés permanents de la vallée d'oued righ (sahara septentrional, algérie nord-est) *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*, Vol. 71 (4), 2016 : 330-341)
- **Grenet, A 2013.**thèse doctorat parasite digestive.
- **Grondin.L. (1982).** Paramètres physico-chimiques des eaux naturelles mesures in situ. Centre de Dakar Hanna .p50.
- **Grosselet O., Bartheau F., Dusoulier F. et Gouret L., 2001 .**Guide de détermination des Amphibiens et des Reptiles du Massif armoricain. Association « De Mare en Mare ». 71

- **Guemmouda ,M .2014.** Impact de la pollution par les hydrocarbures sur *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) dans le littoral Est-Algérien . Thèse de Doctorat . Université De Badji – Mokhtar Annaba ,300p.
- **Guermazi, W. (2016).** Cours de pollution & nuisances. Université de gabs. P27.
- **Habig W.H., Pabst M.J. & Jacobi W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.*, **249**: 7130-7139.
- **Habig C. & Di Giulio R. T., 1988.** The anticholinesterase effects of the cotton defoliant S,S,S,-tri-n -butyl phosphorotrithioate(DEF) on channel catfish. *Marine Environmental Research*, 24 : 193-197.
- **Hamed. M, Guettache A & Bouamer L, 2012,** Etude des propriétés physico-chimiques et bactériologiques de l'eau du barrage DJORF- TORBA Bechar. Mémoire d'Ingénieur d'état en Biologie. Université de Bechar. pp 7, 9.
- **Hannachi .R , Gousmi.R ,2016.** Effet du carbofuran sur l'activité enzymatique chez un poisson téléostéen *Gambusia affinis* MEMOIRE DE MASTER Université de Larbi Tébessi –Tébessa.71p.
- **Hceflcd (Haut Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification), 2007.** Etude diagnostique de la zone humide AL Massira- Faija, cercle d'EL Brouj et Cercle de Settat (Maroc), 242p.
- **Healy B., 1997.** Long-term changes in a brackish lagoon, Lady's Island Lake, South-east Ireland. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 97 B: 33-51.
- **Hecini, L. (2014).** Glossaire de l'eau. Ed. CRSTRA. Algérie.174 p.
- **Hebert S., Legre, S.(2000).** Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau. Direction du suivi de l'état de l'environnement, Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec, 5 p.
- **Hennad. M. A, Harratt. R ,2018 .**Contribution à l'étude de la composition biochimique des Polychètes Nereididae au niveau du littoral Est-Algérien Mémoire de Master Université 8 Mai 1945 Guelma140, 62 p.
- **Himmi N., Fekhaoui M., Foutlane A., Bourchic H., El Mmaroufy M., Benazzout T., Hasnaoui M. (2003).** Relazione plankton-parametri fisici chimici in un bacino dimaturazione

- (laguna mista Beni Slimane – Morocco. Rivista Di Idrobiologia. Università degli studi di perugia, Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia laboratorio Di Idrobiologia “G.B. Grassi”, 110–111p.
- **Hugues, M2014.** les amphibiens maintenir la biodiversité dans le grand Lyon.
 - **Idder-I 2013-2014** .chapitre de cours de zoologies Les vertébrés Université KASDI Merbah-Ouargla p 8.
 - **Jacob J.P, 1999.** Discret reptiles, Aves (G.T.Raîgne) & Observationre Faune- Flore Habitats de la Région wallonne. Forêt Wallonne n°42. 15 p.
 - **Jean, T 2007.**document pour l'étude et la détermination des amphibiens massif armoricain
 - **Jeng H . (2007).** Encyclopedia of Cancer and Society. Ed. Graham Colditz. , Los Angeles: Sage Publications Inc. 2: 695-697 .
 - **Kaiser, J., 2001.** Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment (Enfield: Sciences publishers inc.).
 - **Kalia, K. , Flora ,S.J.(2005).** Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning. *J Occup Health.* , **47** :1–21.
 - **Kammenga J.E., Dllinger R., Donker H.M., Koheler H.R., Smonsen V., Triebkorm R. & Weeks M.J., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assesement. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 164: 93-147.
 - **Kassim C., 2005.** Etude de la qualité physico-chimique et bacteriologique de l'eau des puits de certains quartiers du district de Bamako. Thèse de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie, université de Bamako pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état), 42p.
 - **Khaled A., 1995.** La pollution, un phénomène universel qui s'aggrave et nécessite une lutte soutenue. 10/1995. [base.d-p-h.info/fr/fiches/premierdph/fiche-premierdph – 2589.html](http://base.d-p-h.info/fr/fiches/premierdph/fiche-premierdph-2589.html).
 - **Kirby M.F., Morris S., Hurst M., Kirby S.J., Neall P., Tylor T. & Fagg A., 2000.** The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 780-791.
 - **Labrot, F., Ribera, D., Saint Denis, M. And Narbonne, J. F. (1996),** In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: Lipid

- peroxidation, acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxidase activities in three non mammalian species. *Biomarkers*, 1, 21-28.
- **Lachraf, I Et Ben Amor, R 2019** memoire de fin d'étude. Université d'El Oued Contribution à l'étude de l'effet toxique de certains polluants et parasites sur l'espèce (*Bufo viridis*) dans la région d'El Oued.
 - **Ladjel F. (2006)-** Exploitation d'une station d'épuration à boue activée niveau 02. Centre de formation au métier de l'assainissement. CFMA-Boumerdes, p80.
 - **Lahouel, A. (2010).***Contribution à l'étude de quelque paramètres physico-chimique du lac Témachine(Touggourt)*. Mémoire de fin d'études d'ingénieur en aquaculture, Université Kasdi Merbah Ouargla.
 - **Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., 1997.** Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 393-401 p.
 - **Leaver M.J., clarke D.J and George S.D., 1992.** Molecular studies of the phase 11 xenobiotic conjugative enzymes of marine pleuronectid flatfish. *Aquat. Toxicol.* 22 :265-278.
 - **Leberre M., 1989-** La faune du Sahara I, Poissons, Amphibiens, Reptiles. Ed Raymond chanbaud le chevalier. Paris. Coll (Terre Africaine). 328 p
 - **Leineo .S., Lehtoten K.K, 2005.** Seasonal variability in biomarkers in tfe bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma Balthica* from the northen Baltic sea. *Comp.Biochem.Physiol.C Toxicol.Pharmacol.*, 140: 408-21.
 - **Livingstone, D. R. (1993),** Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. In *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, R. Gilles Ed. (Berlin: Springer- Verlag), 7, 45-185.

- **Livingstone D.R., Lemaire P., Matthews A., Peters L., Bucke D. & Amlap W.R., 1993.** Pro-oxidant, anti-oxidant and 7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity responses in liver of Dab (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Mar. Pollut. Bull.*, **26**: 602-606.
- **Livingstone D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, **42**: 656-666.
- **Losange, 2008.** Amphibiens et Reptiles. Artenis, Paris. 127p.
- **Lounnas, A. (2009).** *Melioration des procedes de Clarification des eaux De la station hamadi-kroma de skikda.* Mémoire de magister en chimie, Université du 20 Août 1955 Skikda.
- **Latfaoui . H, 2017.** Impact de la pollution marine par organochlorés chez les oursins (*Paracentrotus lividus*) au niveau de la station de Béni-Saf (Wilaya d'Ain-Temouchent) mémoire de master UNIVERSITE de TLEMCEM.94p
- **Makhoukh, M. Sbaa, M. Berrahou, A.Clooster,A.(2011).** Contribution a l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (Maroc oriental). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 09, pp. 149-169
- **Malmezat T., Breuille D., Capitan P., Mirand P.P and Obled C., 2000.** Glutathione turnover is increased during the cute phase of sepsis in rats.*J. Nutr*; **130**:1239-1246.
- **Mamy L. Barriuso E. Gabrielle B., 2008.** Evaluer les Risques Environnementaux des Pesticides, Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate, *Innovations Agronomiques*, Livre, p. 3, 121-143.
- **Markert, B.A., Breure, A.M .,Zechmeister,H.G.,2003.**Definitions,strategies and principles for bioindication /biomonitoring of the environnement. *Bioindicators and biomonitors:principles,concepts and applications*, B.A Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister,editors.(Oxford:Elsevier Science Limited),3-39.

- **Martinez-Lara E., George S.G., Lopez-Barea J. & Barcena J.A., 1997.** Purification and characterization of multiple glutathione transferase isoenzymes from grey mullet liver. *Cell. Mol. Life. Sci.*, **53** (9):759-68.
- **Mason A. Z. & Jenkins K. D., 1995.** Metal detoxication in aquatic organisms. In Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Eds Tessier A, Turner DR, Vol 3. Wiley & Sons, Chichester, p. 469-608.
- **Masson J. P., (1988).** Suivi de la qualité des eaux superficielles: l'expérience française. In : la qualità della acqua superficiale; Criteria per una metodologia omogenea di valutazione, atti del convegno interazione. Palazzo dei congressi. (28-29 Aprile), 99-110p.
- **Massoulié J., Bon S., 1993.** L'acétylcholinestérase: une structure originale pour une fonction vitale. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités*, 4(1) : 35-49.
- **Matthieu, B 2010.** Guide des amphibiens et reptiles d'Aquitaine.
- **Maxime. Let Françoise. X1986) amphibiens 32 .p773.**
- **Mazrou, L., Tekili, D. (2017).** Analyse de quelques paramètres physico-chimiques et métaux lourds dans les zones humides de la Kabylie et leurs impacts potentiels sur la faune. Mémoire de Master 02 : Environnement et santé publique . Université Abderrahmane Mira-Bejaia, Algérie. 43p.
- **McCarthy, J.F.; Shugart, L.R., 1990.** Biomarkers environmental contamination. Boca Raton Floride, Lewis (Eds.).
- **Mddefp, (2013).** Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs, *Guide pour l'évaluation de la qualité bactériologique de l'eau en lac*, Québec. Direction du suivi de l'état de l'environnement.
- **Meghlaoui .Z , 2015.** Stress environnemental et biodiversité des Polychètes dans le littoral Est algérien : Analyse phylogénétique Thèse de Doctorat en biologie UNIVERSITE DE BADJI-MOKHTAR-ANNABA 218.112p.
- **Merabet. S, 2010.** Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux brutes et Distribuées du barrage réservoir de Beni Haroun. Mémoire de magister chimie analytique. Université Mentouri de Constantine. pp 4, 5,9.
- **Melghit. M,(2010).** Qualité physico-chimique, pollution organique et métallique des compartiments Eau / Sédiments de l'Oued Rhumel, et des barrages Hammam Grouz et Beni Haroun. Université Mentouri de Constantine. p 175.

- **Nechad I., El Harchli E.et Fadil F., 2014** : Caractérisation physico-chimique des eaux de la source Tataw à Imouzzer Marmoucha (Maroc) ; Science Lib Editions Mersenne : Volume 6, N ° 140103
- **Normand M. (2007)** . Application de la spectrophotométrie ultraviolette à la caractérisation d'eaux naturelles du Québec. Mémoire en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (M.env.).135p.
- **Nsikak Benson. (2008)**. Encyclopedia of Global Warming and Climate Change. Ed. S. Philander. Vol 3. Thousand Oaks. CA: Sage Publications Inc .3 :813-817
- **Olga Patricia Gomez.(2015)**. APPROCHE PAR BASSIN VERSANT POUR CARACTÉRISER LES CAUSES DE DÉGRADATION DE LA QUALITÉ DE L'EAU DU LAC BAIE D'OR. Mémoire de Maîtres sciences. Université du Québec .p2016.
- **OMAR ROUANE ;H.(2007)**.Biosurveillance de la pollution marine au niveau de la côte occidentale algérienne par l'étude de la contamination du Merlu méditerranéen (Merliccius merliccius L., 1758) par les polluants organochlorés.(Diplôme de Magister, université d'Oran).
- **ONA, 2017**Office nationale d'assainissement d'Alger.
- **Ouali. N ,2018**. entification et quantification d'une matrice de métaux traces dans le milieu marin : Cas de la baie d'Annaba DJI Mokhtar- ANNABA THÈSE de Doctorat en Sciences de la Mer UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA 223,83p.
- **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 Total Environment, 309: 105–115
- **Park Chris. (2007)**. A Dictionary of Environment and Conservation : water pollution. Oxford University Press, 2007. Oxford Reference Online www.oxfordreference.com.edlis.ied.edu.hk/views/ENTRY.html?subview=Main&entry=t244.e8816.
- **Payne J., 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: 225-231.
- **Perez-Lopez M., Anglade P., Bec-Ferte M.P., Debrauwer L., Perdu E., Cravedi J.P. & Rouimi P. ; 2000**. Characterization of hepatic and extrahepatic glutthione S-transferases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their induction by 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl. *Fish. Physiol. Biochem.*, 22: 21-32.

- **Ramade,F; 1982.**Elément d'écologie, écologie impliqué , megraw H,LL, Ed,452PP.
- **Ramade F., 1984 .**Eléments d'écologie-écologie fondamentale. Ed Mac Graw-Hill. Paris, 397p.
- **Redouane .A, Aouali .A, 2012.** Caractérisation physico-chimique des eaux superficielles de l'Oued Agrioun de la région de Bejaia, Diplôme d'Ingénieur , Université de Bejaia ,88p.
- **Régis, M. (2017).** POLLUTIONS HYDRIQUES : Diu Toxicologie Médicale. Université Paris .P 59
- **Rejesk, F., (2002).** L'analyse des eaux. Ed. Ressource par l'éducation nationale, France, 358 p.
- **Renden-von Osten J., Ortiz-Arana A., Guirhermino L. and Soares A.M.V.M.,2005.**In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia affinis*) exposed to pesticides.Chemosphère., 58:627-636.
- **Rial-Otero R. Cancho-Grande B. Arias-Estévez M. López-Periago E. Gándara J., 2003 :** Procedure for the Measurement of Soil Inputs of Plant- Protection Agents Washed off Through Vineyard Canopy by Rainfall. *J. Agricult. Food Chem.*, 51 : 5041-5046.
- **Rodier J. (1984)** Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7ème édition, Dunot, Paris.
- **Rodier J., Bazin C., Broutin J-P., Chambon P., Champsaur H. et Rodi L. (1996) .** L'analyse de l'eau : eau naturelles, eau résiduaires, eaux de mer. 8 Eme édition. Dunod. Paris.1365p.
- **Rodier, J. (1997).** L'analyse de L'eau (Eaux Naturelles, Eaux Résiduaires Et Eaux De Mer).8 ème éd. Dunod, Paris, 66 p.
- **Rodier, J., (2005).** L'analyse de l'eau, eau naturelles, eau résiduaire, eau de mer, 8ème édition, DUNOD, Paris, 1526 p.
- **Sacchi & Testard., 1971 :** Ecologie animale (organismes et milieu). Edition Doin, p480.
- **Schleich .H , Kastle W. Et Kabisch K., 1996 :** Amphibians and Reptiles of North Africa. Koeltz, Koenigstein, 627 p.

- **Sicilia, A., Marrone, F., Sindaco, R., Turki, S., Arculeo, M. (2009).** Contribution to the knowledge of Tunisian amphibians: notes on distribution, habitat features and breeding phenology. *Revue Herpetology Notes*. Vol. 2. P. 107-132.
- **Sifi K., Chouahda S. & Soltani N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée*, **63**: 11-18.
- **Soltani N., Amira A, Sifi K. & Beldi H., 2012.** Environmental monitoring of the Annaba gulf (Algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bulletin de la Société Zoologique*, 137 (1-4): 47-56.
- **Stöck M., Roth P., Podloucky R. & Grossenbacher K. 2008a** - Wechselkröten –unter Berücksichtigung von *Bufo viridis viridis* LAURENTI, 1768; *Bufo variabilis* (PALLAS, 1769) ; *Bufo boulengeri* LATASTE, 1879 ; *Bufo balearicus* BÖTTGER, 1880 und *Bufo siculus*.
- **Sturm A., Wogram J., Hansen P. D. & Liess M., 1999.** Potential use of cholinesterase in monitoring (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 194-200.
- **Stuyfzand, P.J. (1989).**— A new hydrochemical classification of water types. Regional characterization of water quality. *Proceedings of the Baltimore Symposium. Iahs Publ.* 182: 89-99).
- **Talatizi, A. (2014).** *Etude des infiltrations à travers une digue de barrage en terre cas d'un barrage algérien.* Thèse de magistère en géotechnique et environnement, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.
- **Talbi .L.B, 2015.** Etude biochimique, enzymologique et cytologique chez *Donax trunculus*: rapport avec le cycle biologique et la pollution dans le golfe de Annaba. Thèse de Doctorat 3eme cycle UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA 138.71p.
- **Thomas O., 1995 :** Métrologie des eaux résiduaires. Edition CEBEDOC sprl, pp53-56.
- **Thomazeau, R; 1981.** station d'épuration ,eaux potables-eaux uses. précis théoriques et technique et documentation : 08.

- **Tissoukai. H, Ouatmani. M , 2013** Dosage de quelques métaux lourds dans les régions de haute vulnérabilité du golfe de Béjaia memoire de master Université Abderrahmane Mira de Bejaïa 87.45p.
- **Trevors J. T . et Saier Jr M. H.,(2007) .** Regulation of Pollution . *Water Air Soil Pollution*
- **Tu T. H., Silvestre F., Meulder D. B., Thome J. P., Phuong N. T. & Kestemont P., 2012.** Combined effects of deltamethrin, temperature and salinity on oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Chemosphere*, 86: 83–91.
- **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.
- **Varo I., Pastor A., Ramo J. & Torreblanca A., 2012.**Long-term effect of temperature on bioaccumulation of dietary metals and metallothionein induction in *Sparus aurata*. *Chemosphere*, **87**: 1215–1221.
- **Viala A. & Botta A., 2005 :** Toxicologie. 2^{ème} édition TEC & DOC. p248, 1096p.
- **Wetzel, R.G. (1983).** *Limnology*. Saunders, Philadelphia.
- **Zaidi N., 2005.** Effets secondaires d'un insecticide sélectif (Dimilin) sur un organisme nonciblé, *Gambusia affinis*: croissance, activités enzymatiques et analyse par CLHP des résidus. Mémoire de Magistère. Université d'ANNABA. Algérie.
- **Zinkl J. G., Lockhart W. L., Kenny S. A., & Ward F. J., 1991.** The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In "Chemicals in Agriculture" (P. Mineau, Ed), 2 : 233-253.

Références (Internet)

- [1].https://fr.wikipedia.org/wiki/Siphonops_paulensis .Consulter le 10/02/2020

Résumé

Cette étude a pour but de connaître la pollution du milieu aquatique et les effets des différentes contaminations et Comme nous l'avons conclu des études précédentes :

Les données physico-chimiques indiquent une contamination des stations par les métaux lourds (Zn, Pb, et Cd) dont les plus fortes concentrations des métaux lourds ont à cause de la présence des usines industrielles.... Pour ces derniers, ceci explique la biodisponibilité de ces polluants. Qui seraient accompagnée par une bioaccumulation de certains éléments métalliques dans l'organisme d'aquatique.

L'utilisation des réponses des organismes vivants aux polluants, a permis d'une- part d'évaluer les variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AchE, de la GST et de la CAT chez les femelles Concernant l'aspect biochimique, il y a une induction de l'activité enzymatique de la GST, de la CAT, et une inhibition de l'activité enzymatique de l'AchE enregistrées chez les femelles au niveau des sites contaminés confirment le transfert des polluants de milieu abiotique vers le milieu biotique.

indiquent une contamination des stations par les pesticide dont les plus fortes concentrations et effet sur induction de l'activité enzymatique de la GST, de la CAT, et une inhibition de l'activité enzymatique de l'AchE ont à cause de la présence subit l'influence d'une pollution d'origine agricole et des rejets des habitants voisin es. et leurs effets néfastes sur les organismes aquatiques, en augmentant le risque de contamination de l'homme par plusieurs voies directes et indirectes.

Mots clés : organisme aquatique, Glutathion S-transférase, Catalase, Acétylcholinestérase, pesticide, Métaux lourds, Contamination.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد مستوى التلوث وآثار تلوث البيئة المائية كما خلصنا من دراسات سابقة: تشير البيانات الفيزيائية والكيميائية إلى تلوث المحطات بالمعادن الثقيلة (الزنك والرصاص والكاديوم) ، وأعلى تراكيز للمعادن الثقيلة ترجع إلى وجود مصانع صناعية... بالنسبة لهذا الأخير ، وهذا ما يفسر التوافر البيولوجي لهذه الملوثات. والتي من شأنها أن تكون مصحوبة بتراكم أحيائي لعناصر معدنية معينة في الكائنات المائية. جعل استخدام استجابات الكائنات الحية للملوثات من الممكن ، من ناحية ، تقييم الاختلافات الشهرية في النشاط الأنزيمي لـ AchE و GST و CAT في الإناث فيما يتعلق بالجانب البيوكيميائي ، يوجد تحريض للنشاط الأنزيمي لـ GST ، CAT ، وتنشيط النشاط الأنزيمي لـ AchE المسجل في الإناث في المواقع الملوثة يؤكد انتقال الملوثات من الوسط اللاأحيائي إلى الوسط حيوي. تشير إلى تلوث المحطات بمبيدات الآفات التي يكون أعلى تركيز لها وتأثيرها على تحريض النشاط الأنزيمي لـ GST ، CAT ، وتنشيط النشاط الأنزيمي لـ AchE بسبب الوجود المفاجئ لـ تأثير التلوث الزراعي والصرف من السكان المجاورين. وتأثيراتها الضارة على الكائنات المائية ، من خلال زيادة مخاطر التلوث البشري بعدة طرق مباشرة وغير مباشرة.

الكلمات المفتاحية : الكائنات الحية المائية ، الجلوتاثيون S- ترانسفيراز ، الكاتالاز ، أسيتيل كولينستراز ، مبيدات الآفات ، المعادن الثقيلة ، التلوث.

ABSTRACT

This study aims to determine the level of contamination and the effects of pollution of the aquatic environment As we have concluded from previous studies:

The physicochemical data indicate contamination of the stations by heavy metals (Zn, Pb, and Cd), the highest concentrations of heavy metals of which are due to the presence of industrial plants.... For the latter, this explains the bioavailability of these pollutants.

This would be accompanied by a bioaccumulation of certain metallic elements in the aquatic organism.

The use of the responses of living organisms to pollutants made it possible, on the one hand, to assess the monthly variations in the enzymatic activity of AchE, GST and CAT in females Concerning the biochemical aspect, there is an induction of the enzymatic activity of GST, CAT, and an inhibition of the enzymatic activity of AchE recorded in females at the level of contaminated sites confirms the transfer of pollutants from abiotic medium to the medium biotic.

indicate contamination of stations by pesticides whose highest concentrations and effect on induction of the enzymatic activity of GST, CAT, and an inhibition of the enzymatic activity of AchE due to the sudden presence of influence of pollution from agricultural sources and discharges from neighboring inhabitants. and their harmful effects on aquatic organisms, by increasing the risk of human contamination by several direct and indirect routes.

Keywords: aquatic organism, Glutathione S-transferase, Catalase, Acetylcholinesterase, pesticide, Heavy metals, Contamination.