الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

**Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'INGENIEUR D'ETAT ET DE MASTER EN SCIENCES DE LA MER**

**Option : Environnement**

**Sujet :**

# *Mise en place d'indicateurs écotoxicologiques pour la surveillance et l'évaluation de la pollution marine (indice hépatique et gonadique des poissons)*

**Présenté par :**

**M$^{elle}$ IMAMI Meriem**

**Soutenu le 16/06/2016 devant la commission :**

| | | |
|---|---|---|
| **M. GUERFI M.** | **Professeur** | **Président** |
| **Mme BOUDJELLEL-KAIDI N.** | **Maître assistante** | **Examinatrice** |
| **Mme MAZOUZI S.** | **Magister** | **Examinatrice** |
| **M. REFES W.** | **Maître de conférences** | **Promoteur** |

**Promotion : 2015/2016**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

**Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'INGENIEUR D'ETAT ET DE MASTER EN SCIENCES DE LA MER**

**Option : Environnement**

**Sujet :**

# *Mise en place d'indicateurs écotoxicologiques pour la surveillance et l'évaluation de la pollution marine (indice hépatique et gonadique des poissons)*

**Présenté par :**

**M$^{elle}$ IMAMI Meriem**

**Soutenu le 16/06/2016 devant la commission :**

| | | |
|---|---|---|
| **M. GUERFI M.** | **Professeur** | **Président** |
| **Mme BOUDJELLEL-KAIDI N.** | **Maître assistante** | **Examinatrice** |
| **Mme MAZOUZI S.** | **Magister** | **Examinatrice** |
| **M. REFES W.** | **Maître de conférences** | **Promoteur** |

**Promotion : 2015/2016**

*À la mémoire d'environ 100 poissons morts pour ce travail.*

*À la mémoire de tous les poissons morts pour la science.*

*"La théorie, c'est quand on sait tout mais que rien ne fonctionne.*

*La pratique c'est quand tout fonctionne mais que personne ne sait pourquoi.*

*En science on allie la théorie à la pratique : rien ne fonctionne et personne ne sait pourquoi."*

Albert Einstein

# Remerciement

*Mes souhaits les plus chers seront de remercier vivement toutes les personnes, qui de près ou de loin, se sont impliquées dans la réalisation de ce mémoire, tant par leur soutien opérationnel, que professionnel.*

*Il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma profonde reconnaissance, mes plus sincères remerciements et ma gratitude à* ***M.REFES Wahid*** *pour avoir accepté d'être mon promoteur. Merci pour votre confiance, vos conseils et votre disponibilité.*

*J'adresse mes respectueux remerciements aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de participer à l'évaluation de mon travail :*
*Je tiens à remercier* ***Mme BOUDJLEL-KAIDI,*** *maitre assistante à l'ENSSMAL d'avoir accepté de juger mon travail.*
*Je remercie également* ***Mme MAZOUZI SAKINA*** *pour l'aide qu'elle m'a apporté afin de mettre ce travail à terme, ainsi d'avoir accepté de juger mon travail, je l'adresse ma profonde reconnaissance.*
*Je fais part également de mes sincères remerciements à* ***M. GUERFI MOKHTAR****, un grand merci pour votre aide, j'apprécie votre soutien qui m'a encouragé pour le commencement de mon mémoire, ainsi d'avoir accepté de présider ce jury.*

*J'aimerais également remercier l'ensemble des personnes que j'avais l'honneur de connaitre au sein du Laboratoire de Biologie Marine à l'ENSSMAL.*

*Je profite l'occasion pour remercier mes chères amies qui ont été tout le temps à côté de moi.*
*Je ne peux pas finir ces remerciements sans dire merci à ma famille : cher père* ***Rabah*** *et ma belle-mère* ***Fatima****, mes frères* ***Chouaib*** *et* ***Djaber*** *et ma sœur* ***Salha****. Je ne trouve pas de mots pour définir ce que je ressens pour vous si ce n'est que je suis très heureuse lorsqu'on est ensemble.*

*J'espère n'avoir oublie personne, et si c'est le cas que j'en sois pardonné.*

# Sommaire

Liste des figures……I
Liste des tableaux ……...II
Introduction ..... 11
I Généralités..... 14
I.1 Écotoxicologie..... 14
I.1.1 Définition..... 14
I.1.2 Processus d'écotoxicologie ..... 15
I.1.3 Biomarqueurs en écotoxicologie..... 16
I.1.4 Intérêt du modèle poisson en écotoxicologie..... 21
II Matériel et méthodes..... 31
II.1 Travaux effectués au laboratoire..... 31
II.1.1 Prélèvement des organes ..... 31
II.1.2 Fixation..... 36
II.1.3 Déshydratation..... 37
II.1.4 Inclusion ( paraffine) ..... 38
II.1.5 Coupes ..... 40
II.1.6 Colorations..... 42
II.1.7 Observation..... 44
III.1 Histologie des poissons..... 47
III.1.1 Structure histologique du foie des poissons ..... 47
III.1.2 Structure histologique des gonades des poissons..... 49
III.2 Présentation des résultats ..... 50
III.2.1 Foie..... 50
III.2.2 Gonades..... 58
Conclusion..... 65
Références bibliographiques..... 66

# Liste des figures

**Figure 1.** Représentation des méthodologies faisant appel à l'utilisation des biomarqueurs dans l'évaluation des risques écotoxicologiques ..... 20
**Figure 2.** Présentation des échantillons durant la fixation ..... 36
**Figure 3.** Lavage des organes ..... 37
**Figure 4** Préparation avant inclusion (déshydratation) ..... 38
**Figure 5.** Présentation des tissus placés dans de la paraffine fondue au niveau de l'étuve ..... 39
**Figure 6.** Présentation de la paraffine fondue dans le moule contenant le prélèvement 40
**Figure 7.** Démoulage des blocs ..... 40
**Figure 8.** Microtome ..... 41
**Figure 9.** Rubans tissulaires collés sur des lames en verre ..... 41
**Figure 10.** Plaque chauffante ..... 42
**Figure 11.** Déparaffinage et coloration ..... 43
**Figure 12.** Présentation du système microscopique ..... 45
**Figure 13.** Microphotographie du foie normal de *Trachinus draco* G: 100x ..... 48
**Figure 14.** Microphotographie de gonade femelle normal d'*Aspitrigla obscura* G: 100x ..... 49
**Figure 15.** Microphotographie de gonade mâle normal de *Trachinus draco* G: 100x .. 50
**Figure 16.** Microphotographie du foie de *Raja asterias* G: 100x ..... 50
**Figure 17.** Microphotographie du foie de *Raja montagui* G: 100x ..... 51
**Figure 18.** Microphotographie du foie de *Torpedo marmorata* G: 100x ..... 52
**Figure 19.** Microphotographie du foie de *Torpedo marmorata* G: 100x ..... 52
**Figure 20.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x ..... 54
**Figure 21.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x ..... 54
**Figure 22.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x ..... 55
**Figure 23.** Microphotographie du foie de *Synodus saurus* G: 100x ..... 56
**Figure 24.** Microphotographie du foie de *Trachinus draco.* A. G:100x B. G:400x ..... 57
**Figure 25.** Microphotographie du foie d'*Uranoscopus scaber* G: 100x ..... 58
**Figure 26.** Microphotographie de gonade femelle d'*Aspitrigla obscura* G: 400x ..... 59
**Figure 27.** Microphotographie de gonade femelle de *Trigla lyra* G: 100x ..... 61
**Figure 28.** Microphotographie de gonade femelle de *Trachinus draco* G: 100x ..... 62
**Figure 29.** Microphotographie de gonade femelle de *Trachinus draco* G: 100x ..... 62
**Figure 30.** Microphotographie de gonade mâle de *Trachinus draco* G: 100x ..... 63

# Liste des tableaux

**Tableau 1.** Principales perturbations de la structure hépatique de poissons sauvages capturés dans divers milieux naturels contaminés
(d'après Pierce *et al.*, 1980; Casillas *et al.*, 1985; Murchelano *et al.*, 1986; Rhodes *et al.*, 1987; Cormier et Racine, 1990 ; Lagadic et *al.*, 1997). ..... 24
**Tableau 2.** Quelques réponses histo-cytologiques du foie de poissons contaminés expérimentalement par des concentrations subaigües de contaminants liposolubles (*leg :* réticulum endoplasmique granulaire; *rel* réticulum endoplasmique lisse; VLDL: lipoprotéines de très basse densité) (Lagadic *et al.*, 1997). ..... 27
**Tableau 3.** Systématique de quelques espèces de poissons utilisées comme des échantillons pour le prélèvement des organes (fiche FAO). ..... 31
**Tableau 4.** Les différentes concentrations utilisées ..... 38
**Tableau 5.** Durée d'utilisation de la paraffine. ..... 39
**Tableau 6.** Les différents colorants utilisés lors de la coloration des tissus histologiques ..... 43
**Tableau 7.** Classification des espèces de la population traitée selon le degré d'altération. ..... 64

# INTRODUCTION

# Introduction

La prise en conscience actuelle des problèmes liés à la dispersion de polluants dans l'environnement a généré une demande sociale forte en faveur de la préservation et de la restauration des écosystèmes terrestres et aquatiques (Lagadic et *al*., 1997).

Dans la nature, les polluants n'agissent jamais sur des individus isolés mais au minimum sur les populations des espèces les plus sensibles aux polluants, sur des peuplements et au-delà sur des biocénoses prises dans leur ensemble (Ramade, 2010).

Par suite du nombre immense d'interactions existant à l'intérieur d'un écosystème, il peut apparaitre des déséquilibres favorisant certaines espèces dites « pollutolérantes » mais néfastes à la plupart des autres (Ramade, 2010). Même si tel ou tel polluant introduit dans un biotope considéré n'est pas toxique pour la majorité des espèces constituant la communauté qui le peuple, ses effets sur une espèce fonctionnellement importante pour l'ensemble de la biocénose peuvent conduire à des dommages considérables sur la santé de l'écosystème tout entier (Ramade, 2010).

La majorité des préoccupations scientifiques afférentes à la problématique de la pollution environnementale s'est regroupée au cours des dernières décennies dans une nouvelle subdivision des sciences écologiques que l'on a dénommée « écotoxicologie » (Ramade, 2010). Cependant, ce terme a été dès ses origines l'objet d'interprétations divergentes (Ramade, 2010). Il fut créé, il est vrai, par un célèbre toxicologue R. Truhaut (1974) qui, par la nature même de son domaine d'investigation, la toxicologie humaine, a de façon involontaire contribué à faire assimiler la problématique de cette discipline avec une partie celles propres à la toxicologie de l'environnement (Ramade, 2010).

Les dégradations de plus en plus étendues qui résultent de cette pollution de la biosphère compromettent la stabilité des écosystèmes et menace le renouvellement des ressources naturelles biologiques voire minérales considérées voici peu de temps encore comme inépuisables et gratuites telles l'air et l'eau (Ramade, 2010). De la sorte, si la tendance actuelle n'était pas rapidement compromise par les diverses pollutions (Ramade, 2010).

La surveillance de la qualité des écosystèmes repose en grande partie sur l'évaluation de l'impact **écotoxicologiques** des polluants grâce à des méthodes simples et fiables (Lagadic et *al*., 1997).

L'objet de cette étude s'articule en différents chapitres. Le chapitre I est consacré à une synthèse bibliographique sur l'écotoxicologie et leur processus. Ainsi que les biomarqueurs étudiés en écotoxicologie, leurs types et leurs rôles biologiques.

Dans un second temps, un éclaircissement de l'intérêt des poissons, de leurs foies et gonades comme des modèles en écotoxicologie a été faite.

Le deuxième chapitre commence par une exposition de différents poissons traités durant notre travail. Puis, il regroupe les différentes étapes à suivre de la technique histologique qu'on avait effectué au niveau du Laboratoire de Biologie Marine ( LBM3) à l'Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et d'Aménagement du Littoral (ENSSMAL) avec une dissection d'environ 100 individus de poissons et une concrétisation d'un nombre énorme de lames occupés par les rubans tissulaires (plus de 400 lames).

Au dernier chapitre, l'ensemble des résultats a été présenté sous forme d'observations histologiques réalisées avec un microscope monté d'un appareil photographique et l'interprétation de ces microphotographies.

Enfin, et devant deux indices écotoxicologiques (indice hépatique et indice gonadique) ce travail aura nous permis de mettre en lumière le meilleur indicateur écotoxicologique pour une bonne surveillance et évaluation de la pollution marine sur les poissons.

# GÉNÉRALITÉ

# I Généralités

## I.1 Écotoxicologie

### I.1.1 Définition

Dès le début des années 70, Truhaut (1975, 1977) soulevait la question d'un risque croissant pour la santé et l'environnement lié au développement de l'industrie chimique, qui au milieu du 20ème siècle apparaissait comme la clé de l'amélioration des conditions de vie (Garric et *al.*, 2009). Il soulignait déjà les besoins de connaissances et de recherche sur le devenir et les effets des produits chimiques dans l'environnement (Garric et *al.*, 2009).

Il proposait en même temps une des premières définitions de l'écotoxicologie (sous-discipline de la toxicologie médicale) et reconnaissait déjà le caractère nécessairement multidisciplinaire des approches (Garric et *al.*, 2009). Il sera relayé ensuite par des auteurs à la fibre plus « écologique » (Moriarty 1983, Ramade 1987) qui élargirent la définition de l'écotoxicologie à l'impact des produits chimiques et des rayonnements ionisants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes, et définissaient pour leur part l'écotoxicologie, comme une sous-discipline de l'écologie (Garric et *al.*, 2009). En effet, alors que la toxicologie classique limite ses études aux organismes, l'écotoxicologie vise à la connaissance de l'impact des substances chimiques, physiques ou biochimiques, non seulement sur les individus mais aussi sur les populations et les écosystèmes entiers et sur les équilibres dynamiques qui les caractérisent (Garric et *al.*, 2009).

On peut aujourd'hui définir l'écotoxicologie comme une discipline à l'interface entre l'écologie et la toxicologie, qui étudie le comportement et les effets d'agents polluants sur les écosystèmes, qu'il s'agisse d'agents d'origine artificielle ou d'agents naturels dont l'homme modifie la répartition et/ou les cycles dans les différents compartiments de la biosphère (Garric et *al.*, 2009). Les objectifs de l'écotoxicologie sont la connaissance et la prévention, mais également la prévision des effets des pollutions et des risques associés (Garric et *al.*, 2009).

### I.1.2 Processus d'écotoxicologie

L'étude de l'interaction entre les contaminants et les barrières biologiques est d'un intérêt considérable pour la compréhension des phénomènes écotoxicologiques, particulièrement la bioaccumulation et les transferts à travers les chaînes trophiques (Amezelel, 2014).

Les processus impliqués sont très complexes et sont influencés par le contaminant (taille molécule, spéciation chimique, etc.), l'organisme récepteur (propriétés membranaires, composition chimique, processus actifs, etc.) et l'environnement intra et extracellulaire (température, pH, etc.) (Gourlay-Francé et *al.*, 2011 ; Amezelel, 2014).

#### I.1.2.1 Toxicité

Le terme toxique pendant longtemps a été identifié à celui de poison, donc des substances chimiques qui peuvent causer des problèmes de santé, voire une mort après avoir été ingérée (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

#### I.1.2.2 Bioconcentration

On désigne par bioconcentration le processus par lequel une substance prélevée dans un biotope par un être vivant va se rencontrer dans l'organisme de ce dernier à des concentrations supérieures à celles auxquelles il se trouve selon le cas dans les eaux, l'air et/ou les sols (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

Il n'existe pas de différence fondamentale entre les processus de bioaccumulation et de bioconcentration, cette dernière ne constituant qu'un cas particulier de la précédente : celui où existe un accroissement de concentration quand le polluant passe du biotope dans la biomasse, quel que soit le niveau trophique de l'organisme concerné (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

#### I.1.2.3 Bioaccumulation

La bioaccumulation est le processus d'absorption par lequel les êtres vivants peuvent accumuler dans leur organisme des nutriments, toute autre substance naturellement dans l'environnement ou encore un polluant de synthèse avec différentes voies de pénétration dans l'organisme considéré. Chez les organismes aquatiques la bioaccumulation sera la somme des absorptions par contact et par ingestion, plus celle par voie transbranchiale (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

Elle est mesurée par le dosage de la concentration d'une substance donnée dans l'organisme entier, dans un organe, ou dans un tissu. La concentration est souvent rapportée au poids sec de l'organe ou l'organisme analysé, ou à la masse de lipides quand il s'agit de molécules fortement lipophiles (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

#### I.1.2.4 bioamplification

Phénomène dont les polluants cénobitiques qui sont pas biodégradables se bioconcentrent dans toute la chaine alimentaire le long du quelle la concentration du toxique dans les êtres vivants s'élèvera à chaque niveau trophique dans tous les cas, ce seront les prédateurs, situés au sommet de la pyramide trophique qui présenteront les taux de contamination les plus élevés (Ramade, 2007 ; Amezelel, 2014).

#### I.1.2.5 Biodisponibilité

La biodisponibilité d'un contaminant désigne sa capacité à pénétrer dans un organisme et attendre des organes ou cellules en franchissant les différentes barrières. Elle peut être différente selon la structure chimique des micropolluants, en fonction de leur comportement dans le milieu où ils peuvent prendre différentes formes chimiques, et selon l'organisme cible. Un point crucial pour l'évaluation correcte du risque écotoxicologique réside dans l'aptitude à prédire, non pas la concentration totale dans un milieu, mais surtout la concentration biodisponible de ces micropolluants (Gourlay-Francé et *al.* 2011 ; Amezelel, 2014).

### I.1.3 Biomarqueurs en écotoxicologie

#### I.1.3.1 Définition

Depuis une vingtaine d'années, plusieurs définitions ont été données des marqueurs biologiques (Amiard et Amiard-Triquet, 2008). Le développement historique de l'approche biomarqueur est étroitement lié aux avancées en médecine et en biologie des vertébrés (National Research Council : NRC, 1987 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Dans les publications du National Research Council (NRC, 1987 ; 1989), les auteurs soulignent que les marqueurs biologiques peuvent être utilisés à la fois pour la surveillance biologique et la surveillance de la santé (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Selon McCarthy et Shugart (1990), les marqueurs biologiques sont des mesures aux niveaux moléculaire, biochimique ou cellulaire réalisées soit sur des populations sauvages provenant d'habitats contaminés ou sur des organismes exposés expérimentalement aux polluants qui indiquent que l'organisme a été exposé à des toxiques chimiques ainsi que la magnitude de la réponse de l'organisme au contaminant (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

La définition a été généralisée : un biomarqueur est défini comme une variation biochimique, cellulaire, physiologique ou comportementale qui peut être mesurée dans un tissu, un fluide biologique ou au niveau d'un organisme entier et qui apporte la preuve d'une exposition et/ou de l'effet d'un ou plusieurs polluants chimiques biologiques ou encore des radiations (Depledge, 1993 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Dans le volume de septembre 1994, le journal *Ecotoxicology* a présenté quatre revues sur le rôle des biomarqueurs dans l'évaluation environnementale sur les invertébrés (Depledge et Fossi, 1994 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008), sur les vertébrés (Peakall et Walker, 1994 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008), sur les plantes terrestres ( Ernst et Peterson, 1994 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008), sur les populations et les communautés d'invertébrés (Lagadic *et al*., 1994 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008),Van Gestel et Van Brummelen (1996) ont tenté une redéfinition des termes de biomarqueurs, bioindicateurs et indicateurs écologiques , en se fondant sur les travaux précédents parus dans le journal *Ecotoxicology* en 1994 où Lagadic *et al.* ont fait une distinction claire entre biomarqueurs et bioindicateurs et ont restreint l'utilisation du terme «biomarqueur» aux changements sublétaux biochimiques dus à l'exposition individuelle aux xénobiotiques (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Toutefois, cette définition réductionniste n'a pas été entérinée par l'usage (Van der Oost *et al*., 2005 ; Allan *et al*., 2006 Amiard et Amiard-Triquet, 2008), beaucoup de spécialistes étant soucieux de ne pas négliger des réponses (e.g. physiologiques, comportementales) qui pourraient être utilisées dans une démarche d'évaluation du risque impliquant un changement d'échelle de l'individu à la population (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

D'après Van Gestel et Van Brummelen (1996), le biomarqueur est défini comme toute réponse biologique à un contaminant chimique environnemental à un niveau infra-individuel, mesuré dans un organisme ou dans ses «produits» (urine, fèces, poils, plumes…), indiquant un changement par rapport à l'état normal qui ne peut être détecté chez l'organisme sain (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Le terme bioindicateur devrait être restreint à un organisme donnant des informations sur les conditions environnementales de son habitat par sa présence ou son absence ou son comportement (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Le terme indicateur écologique est équivalent à celui de paramètre de l'écosystème en ce qu'il décrit la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Du fait de la diversité des contaminants environnementaux, de la multiplicité de leurs effets et des nombreuses interactions entre eux, le diagnostic environnemental doit s'appuyer sur la mise en œuvre d'approches multi-biomarqueurs basées sur l'association de paramètres complémentaires en terme de substances prises en compte, d'effets mesurés et de niveau d'intégration biologique (Minier et *al*., 2000 ; Sanchez et Porcher, 2009 ; Sanchez, 2014).

### I.1.3.2 Types de biomarqueurs

Il est classique, en écotoxicologie, de distinguer trois types de biomarqueurs (NAS/NRC, 1989) : les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique, les biomarqueurs d'effets de l'exposition et les biomarqueurs de sensibilité aux effets provoqués par l'exposition (Lagadic et *al.*, 1997).

**Les biomarqueurs d'exposition** indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Généralement, les biomarqueurs d'exposition sont le résultat de l'interaction du polluant avec des molécules biologiques dans des tissus et/ou dans des liquides corporels. Ainsi, par exemple, la mesure de la quantité de métabolites spécifiques de la conjugaison au glutathion (ex. : acides mercapturiques spécifiques) a déjà été utilisée comme biomarqueur d'exposition aux polluants lors d'études chez l'homme (Timbrell *et al.*, 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997).

De la même manière, la formation d'adduits à l'ADN est couramment utilisée chez l'homme (Timbrell *et al.*, 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997) ou chez l'animal (Varanasi *et al.*, 1989; Van der Oost *et al.*, 1994; Walsh *et al.*, 1995 ; Lagadic et *al.*, 1997) comme biomarqueur d'exposition à des molécules cancérigènes ou génotoxiques, et il a été suggéré qu'elle pourrait jouer un rôle similaire chez les invertébrés aquatiques exposés aux polluants organiques (Livingstone, 1993 ; Lagadic et *al.*, 1997).

L'utilisation des **biomarqueurs d'effet** permet de monter que le xénobiotique est entré dans l'organisme et qu'après avoir été distribué entre les différents tissus, il a exercé un effet, toxique ou non, sur une cible critique (Lagadic et *al.*, 1997).

Certains biomarqueurs peuvent être appliqués à tous les organismes (protéines de stress par exemple) (Lagadic et *al.*, 1997).

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

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

Ils apportent donc des informations sur l'impact global de changements environnementaux (Lagadic et *al.*, 1997). Les biomarqueurs plus spécifiques sont les réponses de l'organisme entier ou de tissus qui peuvent être associées à une classe particulière de xénobiotique (Lagadic et *al.*, 1997).

Ces indices, spécifiques de xénobiotiques ou de tissus, regroupent des paramètres biochimiques, des altérations histopathologiques et cellulaires, et des réponses immunologiques (McCarthy et Shugart, 1990; Huggett *et al.*, 1992; Peakall, 1992; Peakall et Shugart, 1993; Fossi et Leonzio, 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997).

Récemment, le phénomène de variation d'origine génétique de la réponse à la contamination par les polluants qui se traduit par une **variation de la sensibilité** (Depledge *et al.*, 1993; Forbes *et al.*, 1995; Forbes et Depledge, 1996 ; Lagadic et *al.*, 1997) a suscité un grand intérêt lors d'études portant sur l'exposition à des composés toxiques chez l'homme (Timbrell *et al.*, 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997).

Par ailleurs, la résistance, qui est définie comme une diminution de sensibilité, d'origine génétique, en réponse à la sélection par des molécules toxiques, a été largement étudiée chez les invertébrés, plus précisément chez les insectes (Roush et Tabashnik, 1990; Raymond, 1996 ; Lagadic et *al.*, 1997).

Des facultés acquises génétiquement, comme l'augmentation de la quantité de glutathion S-transférases et d'enzymes du système à monooxygénases ou encore la diminution de la sensibilité des AChE, constituent des manifestations communes de ce phénomène, dont l'utilisation en tant que biomarqueurs peut être envisagée (Livingstone, 1993; Lagadic *et al*., 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997).

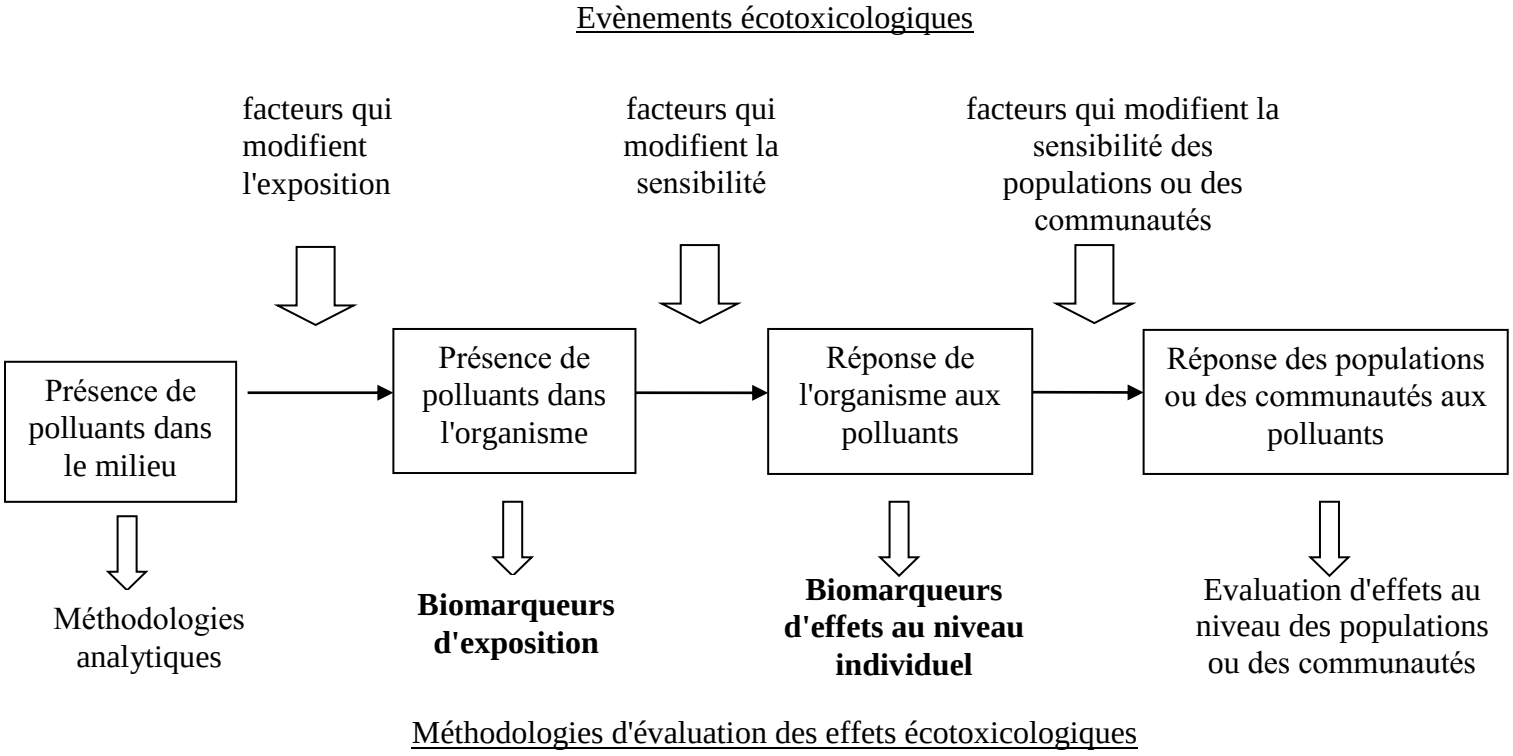



**Figure 1.** Représentation des méthodologies faisant appel à l'utilisation des biomarqueurs dans l'évaluation des risques écotoxicologiques (d'après Lagadic *et al.*, 1997).

### I.1.3.3 Rôle(s) biologique(s) des biomarqueurs

Actuellement, la plupart, voire toutes les études intégrant des biomarqueurs dans un objectif de surveillance ou d'évaluation du risque associent une batterie de biomarqueurs: moléculaire, cellulaire, physiologique. Des biomarqueurs de « stress » au niveau cellulaire non spécifiques d'un type de contamination sont systématiquement intégrés pour caractériser un« état de santé» individuel fragilisé (Garric *et al.*, 2010).

L'utilisation la plus courante des biomarqueurs, en particulier en milieu marin dans le cadre de conventions internationales pour la Méditerranée (MEDPOL, Convention de Barcelone) ou l'Atlantique (OSPAR), est la surveillance à long terme de l'exposition des organismes à des contaminations biodisponibles, sur organismes autochtones ou sur organismes implantés, voire la recherche de causes de pollution (Garric *et al.*, 2010).

Plus récemment, et toujours en milieu marin, les biomarqueurs sont envisagés comme une contribution efficace à la classification des risques écologiques pour les écosystèmes (approche « poids de l'évidence »), pour justifier d'une situation impactée, en partie par une pression toxique (Garric *et al.*, 2010).

Dans cet objectif des efforts sont faits pour construire des « indicateurs » basés sur une combinaison raisonnée de biomarqueurs, susceptibles d'être ensuite associés à des informations chimiques et écologiques (Dagnino *et al.*, 2008 ; Garric *et al.*, 2010).

D'une manière générale, et plus particulièrement pour la surveillance des écosystèmes d'eau douce, il faut souligner qu'on ne dispose pas de méthodologies basées sur une stratégie raisonnée pour le choix des biomarqueurs, le choix des espèces, non plus que pour la mise en œuvre d'un échantillonnage adapté aux objectifs : évaluation du risque chimique dans l'écosystème, surveillance à long terme de la qualité écologique d'un milieu, sélection d'options de restauration. Une telle stratégie reste à élaborer pour une utilisation pertinente et efficace des biomarqueurs maintenant disponibles (Garric *et al.*, 2010).

### I.1.4 Intérêt du modèle poisson en écotoxicologie

Les poissons, compte tenu de leur diversité dans le règne animal (28 000 espèces recensées, soit plus que l'ensemble de toutes les autres espèces de vertébrés), de leur ubiquité dans les eaux de surface (présence dans la quasi-totalité des environnements aquatiques) et de leur position dans les chaînes trophiques, sont parmi les plus à même de constituer de bons intégrateurs de la qualité de l'environnement aquatique (Labrot, 1996 ; Barillet, 2007).

C'est pourquoi un fort intérêt a été porté aux poissons dans le cadre d'études visant à estimer les réponses biologiques et biochimiques à des contaminations environnementales aquatiques (Powers, 1989 ; Barillet, 2007).

Les espèces sentinelles doivent en outre être sélectionnées au sein de communautés biocénotiques sur la base de leur pertinence vis-à-vis des types de biomarqueurs choisis ainsi que de leur praticité expérimentale (Suter, 1993 ; Barillet, 2007).

Dans l'optique d'une évaluation de la qualité des écosystèmes, de nombreuses espèces de poissons répondent à ces deux critères (van der Oost et al., 2003 ; Barillet, 2007).

La compréhension des mécanismes de prise en charge des toxiques, leurs comportements ainsi que leurs effets chez les poissons peuvent, de ce fait, constituer des éléments dont la pertinence écologique est importante. Cependant, selon les différentes espèces de poisson considérées, des variations considérables peuvent exister, notamment au niveau de leurs caractéristiques physiologiques ou de leurs capacités de réponse vis-à-vis d'évènements de contamination. Bien que le modèle poisson puisse présenter certains inconvénients tels que sa mobilité parfois importante, il est généralement considéré comme l'organisme dont l'étude est la plus pertinente dans le cadre de surveillance des écosystèmes aquatiques (van der Oost et al., 2003 ; Barillet, 2007).

Le choix des espèces modèles pertinentes en bio-indication est une préoccupation constante de l'écologue et de l'écotoxicologue. Les caractéristiques d'une espèce modèle sont les suivantes (Ramade, 2010) :

-tous les individus d'une espèce bio-indicatrice devraient présenter une **corrélation identique** et simple entre leur teneur en la substance polluante et la concentration moyenne de cette dernière dans le biotope ou dans l'alimentation quelles que soient la localisation et les conditions environnementales ;

-l'espèce devrait être **sédentaire** afin d'être sûr que les concentrations trouvées soient bien en rapport avec sa contamination dans le site géographique où elle a été prélevée ;

-l'espèce devrait être **abondante** dans l'ensemble de l'aire étudiée et si possible avoir une distribution biogéographique étendue afin de favoriser les comparaisons entre zones distinctes;

-les espèces à **forte longévité** sont préférables parce qu'elles permettent un échantillonnage sur plusieurs classes d'âge si nécessaire. En outre, les espèces à forte longévité subissent une exposition à un contaminant pendant de longues périodes ce qui par suite permet de disposer de preuves expérimentales sur les effets à long terme

-l'espèce devrait être **facile à échantillonner** et assez résistante pour être amenée en laboratoire afin de réaliser par exemple des études de décontamination.

Leur capacité d'adaptation aux variations qualitatives de l'environnement ainsi que la grande diversité de leurs habitats et de leurs comportements rendent les poissons particulièrement intéressants en tant que modèles pour les études (éco) toxicologiques. Physiologiquement inféodés au milieu aquatique (respiration, osmorégulation, nutrition, excrétion, reproduction), ils sont susceptibles de subir, au cours de leurs cycle de vie, diverses agressions provenant du milieu environnant (Biagianti-Risbourg, 1990; Gony-Lemaire, 1990 ; Ramade, 2010).

Tout changement des caractéristiques physiques (salinité, température, pH), chimiques ($O_2$, $CO_2$, produits toxiques, etc.) ou biotiques (alimentation, parasites, biotoxines, etc.) provoque des perturbations fonctionnelles et structurales (tissulaires et cellulaires) au niveau de divers organes des poissons (branchie, tégument, foie, rein, intestin, gonade). Lorsque ceux-ci pénètrent dans les zones polluées (eau et sédiments), ils subissent un stress dont deux des phases, la résistance et l'épuisement, définies par Selye (1950) puis Wedemeyer et Goodyear (1984), peuvent être caractérisées à l'aide des techniques histocytologiques (Biagianti-Risbourg, 1990; Gony-Lemaire, 1990 ; Ramade, 2007).

### I.1.4.1 Intérêt du foie de poisson comme un modèle en écotoxicologie

Depuis plus d'une trentaine d'années, des perturbations hépatiques sont observables chez les poissons sauvages dulçaquicoles et marins capturés dans divers milieux aquatiques perturbés par l'action de l'homme (fleuves, étangs, lagunes, zones de pêche margino-littorales) (Lagadic et *al.*, 1997).

L'histologie a permis de distinguer, chez ces poissons, sept grandes catégories d'altérations **(Tableau.1)**, la prévalence de ces atteintes augmente de façon très significative dans les milieux aquatiques contaminés par diverses substances chimiques (polychlorobiphényles, hydrocarbures, pesticides organochlorés, métaux lourds) (Lagadic et *al.*, 1997).

Chez les poissons, le foie intervient, comme chez les mammifères, dans de nombreuses fonctions essentielles : digestion (synthèse et excrétion de bile), stockage des réserves énergétiques (glycogène, lipides), excrétion (uréogenèse, ammoniogenèse), reproduction (synthèse de la vitellogénine), détoxication (métabolisation oxydative de

molécules xénobiotiques liposolubles par le complexe multienzymatique cytochrome P-450 dépendant; conjugaison et excrétion des métabolites conjugués dans la bile; séquestration et transport jusqu'aux lysosomes et corps résiduels des métaux lourds par les métallothionéines) (Lagadic et *al.,* 1997).

**Tableau 1.** Principales perturbations de la structure hépatique de poissons sauvages capturés dans divers milieux naturels contaminés
(d'après Pierce *et al.,* 1980; Casillas *et al.,* 1985; Murchelano *et al.,* 1986; Rhodes *et al.,* 1987; Cormier et Racine, 1990 ; Lagadic et *al.,* 1997).

| **Grandes catégories d'altérations** | **Principales perturbations histopathologiques de la structure hépatique** |
|---|---|
| Lésions dégénératives ou nécrotiques | - désorganisation des travées hépatocytaires<br>- dégénérescence vacuolaire des hépatocytes<br>- nécroses hépatocellulaires<br>- lyses cellulaires<br>- hyalinisation hépatocytaire<br>- pléomorphisme nucléaire<br>- hépatite mégalocytique |
| Foyers d'altérations | - régions éosinophiles ou basophiles<br>- vacuolisation locale<br>-hyperplasie nodulaire<br>-foyers de clarification cellulaire<br>- nécrose hyaline focale |
| Néoplasmes | - adénomes hépatocellulaires<br>- carcinomes hépato-ou/et cholangiocellulaires<br>- néoplasmes mésenchymateux |
| Perturbations de l'accumulation des réserves hépatocytaires | - stéatose<br>- accumulation excessive de lipofuchsines<br>- augmentation ou réduction excessive du taux de glycogène |

| | |
|---|---|
| Désordres vasculaire | - congestion vasculaire<br>- thrombus<br>- dilatation vasculaire<br>- hémorragies |
| Désordres prolifératifs non néoplasiques | - foyers de régénération hépatocellulaire<br>- prolifération des canaux biliaires<br>- cholangiofibrose |
| Inflammation | - œdèmes<br>- infiltration leucocytaire, phagocytaire<br>- augmentation du nombre et/ou de la taille des centres mélano-macrophages |

Malgré des taux de contamination de l'environnement relativement faibles, le foie bioaccumule fortement de nombreux xénobiotiques qui pénètrent dans l'organisme par voie branchiale et/ou trophique (Bendell-Young *et al.*, 1986; Falandysz *et al.*, 1994; Jan *et al.*, 1994 ; Lagadic et *al.*, 1997).

Cette bioaccumulation concerne, en particulier, des contaminants liposolubles (pesticides organochlorés, polychlorobiphényles, hydrocarbures polycycliques) et des métaux lourds (cadmium, plomb, mercure). Il en résulte que l'impact hépatique de ces toxiques environnementaux peut être très important (Lagadic et *al.*, 1997).

Compte tenu de la diversité des écosystèmes aquatiques, des fluctuations naturelles de leurs caractéristiques physico-chimiques et de la multiplicité des caractéristiques biologies et éco-éthologiques des espèces qui les occupent, il est très difficile d'établir, en milieu naturel, une relation simple de cause à effet entre les atteintes hépatiques observables chez les poissons sauvages et la présence de polluants environnementaux (Lagadic et *al.*, 1997).

La situation est d'autant plus complexe qu'il existe généralement des interférences entre plusieurs contaminants différents (synergie ou antagonisme entre métaux lourds ou

entre métaux lourds et molécules organiques par exemple) ou entre contaminants chimiques et parasites (bactérie, virus, trématodes; Möller, 1987 ; Lagadic et *al.,* 1997).

Dans certains cas, l'avancée des recherches n'a pas permis de déterminer, dans ces milieux naturels, quels étaient les inducteurs spécifiques des perturbations ou des lésions hépatiques qui ont alors été nommées « maladies d'origine inconnue» (Pierce *et al.,* 1978 ; Lagadic et *al.,* 1997) ou «d'étiologie mixte» (Sindermann, 1983 ; Lagadic et *al.,* 1997), «*possible pollution-related fish diseases*» (Bucke, 1991) ou «*pollution-associated diseases*» (Möller, 1985 ; Lagadic et *al.,* 1997).

Devant la nécessité de déterminer des critères fiables et sensibles (biomarqueurs) de la qualité sanitaire des milieux naturels, les recherches se sont orientées vers des études aux niveaux organique, cellulaire et sub-cellulaire (Lagadic et *al.,* 1997).

A ces niveaux, les réponses présentent en effet une courte période de latence et peuvent être analysées avec davantage de précision (Lagadic et *al.,* 1997).

Compte tenu de son rôle important dans les mécanismes de détoxication, le foie constitue un organe cible privilégié pour les études toxicologiques (Lagadic et *al.,* 1997).

Chez les téléostéens principalement, l'analyse de l'impact hépatique de concentrations sublétales des contaminants majeurs de l'environnement a donc été entreprise dans des conditions d'élevage contrôlé aussi proches que possible de celle rencontrées dans les milieux naturels (température, photopériode, salinité, oxygène et carbonate de calcium dissous) (Lagadic et *al.,* 1997).

Ces contaminations expérimentales, menées en évidence et de caractériser diverses perturbations structurales hépatiques dont l'utilisation en tant que biomarqueurs de la qualité sanitaire des milieux naturels a parfois été effectuée (Lagadic et *al.,* 1997).

Le **Tableau 2** fournit quelques exemples de réponses (ultra) structurales hépatiques résultant de contaminations expérimentales (Lagadic et *al.,* 1997).

Ces études hépatologiques avaient également pour objectif, d'une part, de caractériser les divers mécanismes bioprotecteurs hépatiques qui permettent aux poissons de mieux résister à l'agression toxique et qui appartiennent donc à la phase de résistance, et d'autre part de révéler et de décrire (étendue, nature) les processus dégénératifs qui accompagnent la phase d'épuisement, laquelle succède à la phase de résistance et s'accompagne d'une réduction de la capacité de survie de l'individu (Biagianti-Risbourg, 1990; Braunbeck et Volkl, 1991; Biagianti-Risbourg et Bastide, 1995; Braunbeck, 1995 ; Lagadic et *al.*, 1997).

Le foie des poissons est constitué de nombreuses catégories cellulaires (Lagadic et *al.*, 1997):

-les hépatocytes, éléments fondamentaux du parenchyme,

-les cellules endothéliales et les cellules de Ito, cellules annexées aux sinusoïdes,

-les «*rodlet cells*» disséminées dans le parenchyme et la paroi des canaux,

-les monocytes, macrophages, mélano-macrophages, lymphocytes, granulocytes, cellules immunitaires libres ou regroupées dans des centres mélano-macrophages,

-les cellules biliaires préductales, ductales et canalaires, cellules constituant la paroi des conduits biliaires.

**Tableau 2.** Quelques réponses histo-cytologiques du foie de poissons contaminés expérimentalement par des concentrations subaigües de contaminants liposolubles (*leg :* réticulum endoplasmique granulaire; *rel* réticulum endoplasmique lisse; VLDL: lipoprotéines de très basse densité) (Lagadic *et al.*, 1997).

| **Produit chimique (concentration) Espèce** | **Réponses hépatocellulaires** | **Auteur** |
|---|---|---|
| Dinitro-o-crésol (50-250 µg/l) Juvéniles d'anguille (*Anguilla anguilla)* | Disparition de l'hétérochromatine, forte réduction du *reg* et prolifération du *rel*, prolifération des mitochondries et des peroxysomes (cristallisation de la matrice), altérations du chondriome (empilement des crêtes et *whorls*) forte déplétion glycogénique et accroissement modéré du nombre des inclusions lipidiques. | Braunbeck et Volkl, 1991 |
| Dinitro-o-crésol (50-250 µg/l) Juvéniles d'ide mélanote (*Leuciscus idus melanotus)* | Dilatation de l'enveloppe nucléaire, faible réduction du *reg* (fenestration des citernes) et faible développement du *rel*, prolifération des mitochondries et des péroxysomes, altérations du chondriome (empilement des crêtes et *whorls*), forte augmentation du nombre des vésicules golgiennes et des | Braunbeck et Volkl, 1993 |

| | | |
|---|---|---|
| | inclusions lipidiques, présence de collagène dans l'espace de Disse. Invasion de macrophages. | |
| Attazine (25 µg/l)<br>Juvéniles de mulet<br>(*Liza sp.*) | Hyperdéveloppement nucléolaire, forte réduction du *reg* et grand développement du *rel*, importante déplétion glycogénique, figures myéliniques intramitochondriales, forte augmentation du nombre des vésicules d'endocytose et des inclusions lipidiques dans la région périsinusoïdale. | |
| Attazine (170 µg/l)<br>Juvéniles de mulet<br>(*Liza sp.)* | Développement du *reg*, mitochondries vacuolisées, augmentation du nombre des inclusions lipidiques et des corps résiduels à lipofuchsines, forte déplétion glycogénique, accroissement de la surface sinusoïdale et canaliculaire. Augmentation du nombre et de la taille des centres mélano-macrophages, nécrose de cellules biliaires. Dégénérescence lipidique du foie | Biagianti-Risbourg, 1990 |
| Attazine (280 µg/l)<br>Juvéniles de mulet<br>(*Liza sp.*) | Peu de perturbations ; importante réduction des vésicules d'endocytose au pôle sinusoïdal.<br>Nécrose d'hépatocytes isolés puis nécrose massive du foie. Nécrose des canaux biliaires. | |
| Attazine (40-160 µg/l)<br>Juvéniles de truite<br>(*Oncorhynchus mykiss)* | Déformation nucléaire, ségrégation des éléments nucléolaires, réduction du *reg* (dilatation, fenestration), faible développement du *rel*, altérations mitochondriales (empilement des crêtes, *whorls*), augmentation du nombre des autophagosomes, très forte déplétion glycogénique, bioaccumulation de lipides (160µg/l). Forte invasion de macrophages. | Braunbeck *et al*., 1992 |

Des perturbations ont été décrites au niveau de l'ensemble de ces types cellulaires; cependant, nous ne décrirons ici que les perturbations hépatocytaires les plus importantes provoquées par des molécules xénobiotiques liposolubles non métalliques, perturbations qui ont fait l'objet d'une abondante littérature. les hépatocytes constituent, par ailleurs, à la fois catégorie cellulaire la plus étudiée en toxicologie de l'environnement et le type cellulaire quantitativement le plus représenté dans le foie; ils représentent par exemple environ 80% du volume total chez la truite (Hinton et Laurén, 1990 ; Lagadic et *al.*, 1997).

### I.1.4.2 Intérêt des gonades de poisson comme un modèle en écotoxicologie

La reproduction constitue chez le poisson l'étape par laquelle passent leur survie et leur maintien dans la nature (Poncin, 1996 ; Djadji *et al.*, 2010).

Les cycles de reproduction impliquent un ensemble de processus physiologiques et comportementaux en rapport avec divers facteurs de l'environnement biotique et abiotique (Paugy et Levêque, 1999 ; Djadji *et al.*, 2010). Ils sont synchronisés avec les variables environnementales par le biais d'événements réguliers qui agissent comme des signaux déclenchant ou inhibant des stades spécifiques de la gamétogénèse ou autre processus de reproduction (Paugy et Levêque, 1999 ; Djadji *et al.*, 2010).

Chez certaines espèces, ces signaux sont perceptibles et permettent de faire la distinction entre les sexes (mâles et femelles) (Djadji *et al.*, 2010).

# MATÉRIEL
# ET
# MÉTHODE

# II Matériel et méthodes

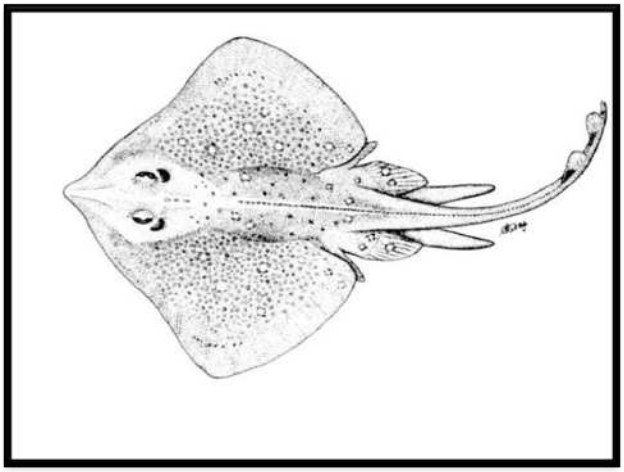
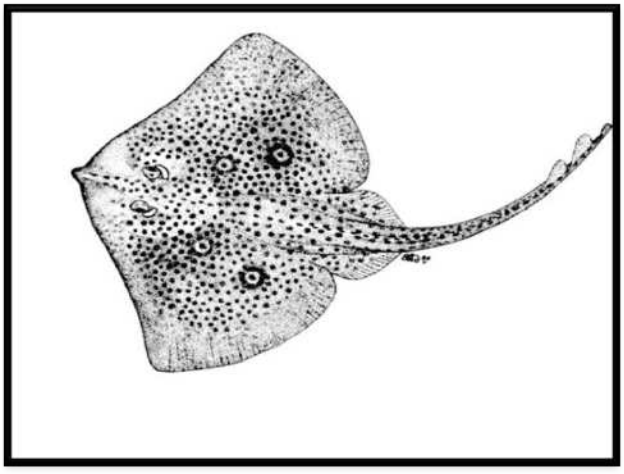
## II.1 Travaux effectués au laboratoire

### II.1.1 Prélèvement des organes

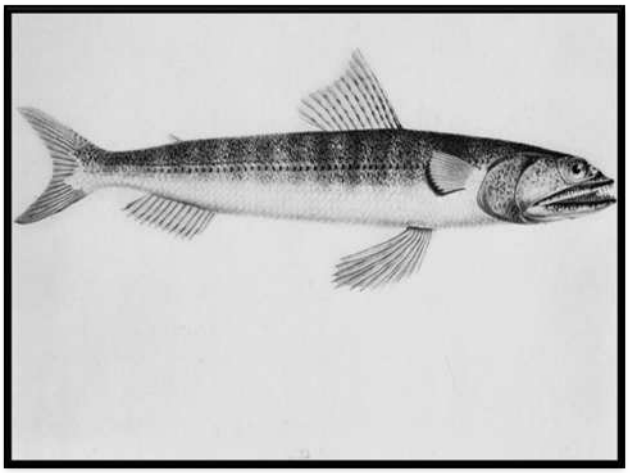
Plusieurs individus de différentes espèces des poissons **(Tableau 3 )** ont été ramenés du port de Rais hamidou à 12km d'Ouest d'Alger pour prélever leurs organes (foie, gonades).

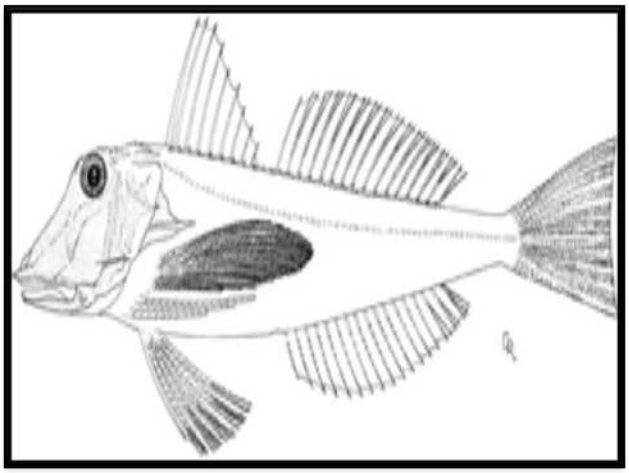
**Tableau 3.** Systématique de quelques espèces de poissons utilisées comme des échantillons pour le prélèvement des organes (fiche FAO).

| ESPECE | SYSTEMATIQUE |
|---|---|
| ***Aspitrigla obscura*** | **FAMILLE:** Triglidae<br>**GENRE:** *Aspitrigla*<br>**ESPECE:** *A.obscura* |
| ***Conger conger*** | **FAMILLE:** Congridae<br>**GENRE:** *Conger*<br>**ESPECE:** *C.conger* |

| | |
|---|---|
| <br>***Muraena helena*** | **FAMILLE:** *Muraenidae*<br><br>**GENRE:** *Muraena*<br><br>**ESPECE:** *M.helena* |
|  <br>***Raja asterias*** | **FAMILLE:** Rajidae<br><br>**GENRE:** *Raja*<br><br>**ESPECE:** *R. asterias* |
|  <br>***Raja montagui*** | **FAMILLE:** Rajidae<br><br>**GENRE:** *Raja*<br><br>**ESPECE:** *R. montagui* |

| | |
|---|---|
| <br>***Raja miraletus*** | **FAMILLE:** Rajidae<br><br>**GENRE:** *Raja*<br><br>**ESPECE:** *R.miraletus* |
| <br>***Scorpaena porcus*** | **FAMILLE:** Scorpaenidae<br><br>**GENRE:** *Scorpaena*<br><br>**ESPECE:** *S.porcus* |
| <br>***Serranus cabrilla*** | **FAMILLE:** Serranidae<br><br>**GENRE:** *Serranus*<br><br>**ESPECE:** *S. cabrilla* |

| | |
|---|---|
|  <br>***Synodus saurus*** | **FAMILLE:** Synodontidae<br><br>**GENRE:** *Synodus*<br><br>**ESPECE:** *S. saurus* |
| <br>***Torpedo marmorata*** | **FAMILLE:** Torpedinidae<br><br>**GENRE:** *Torpedo*<br><br>**ESPECE:** *T.marmorata* |
| <br>***Trachinus draco*** | **FAMILLE:** Trachinidae<br><br>**GENRE:** *Trachinus*<br><br>**ESPECE:** *T.draco* |

| | |
|---|---|
|  <br>***Trigla lucerna*** | **FAMILLE:** Triglidae<br><br>**GENRE:** *Trigla*<br><br>**ESPECE:** *T. lucerna* |
| <br>***Trigla lyra*** | **FAMILLE:** Triglidae<br><br>**GENRE:** *Trigla*<br><br>**ESPECE:** *T.lyra* |
| <br>***Uranoscopus scaber*** | **FAMILLE:** Uranoscopidae<br><br>**GENRE:** *Uranoscopus*<br><br>**ESPECE:** *U.scaber* |

Les ciseaux et les pinces sont en inox inoxydable, lavés au détergent puis à l'eau distillée, séchés et stérilisés et les piluliers utilisés sont subi un traitement spécifique. Les couvercles en plastique sont rincés à l'eau du robinet puis à l'eau distillée.

Le foie et les gonades des poissons ramenés ont été mis après la dissection dans des piluliers fermés et étiquetés.

### II.1.2 Fixation

Fixer veut dire immobiliser. Le but de la fixation histologique est d'immobiliser les structures, en respectant, dans toute la mesure du possible, leur morphologie, de les conserver et de permettre la confection des préparations permanentes (Gabe, 1968).

Le liquide de Bouin a été choisi comme fixateur car son pouvoir décalcifiant permet de ramollir les structures osseuses et donc évite une étape de décalcification séparée ; il donne également une meilleure fixation que le formol, notamment pour le tissu adipeux. Le liquide est préparé extemporanément à partir d'une solution acide picrique saturée (75% du volume), d'acide acétique (5% du volume), et de formaldéhyde tamponné 4% (Bauchet, 2006). Ce fixateur, d'usage courant en histologie, pénètre rapidement, fixe les pièces de manière homogène et ne pose pas de problème de sur fixation (Choulika, 2002).

**Figure 2.** Présentation des échantillons durant la fixation

La plupart des auteurs estiment qu'un lavage à l'eau courante d'une durée de 12 à 24 heures suffit pour débarrasser les pièces de tout excès de fixateur chromique ou osmique (Gabe, 1968).

Lorsque les pièces sont lavées à l'eau renouvelée, la fin de l'opération est indiquée par le fait que la dernière eau de lavage, laissée au contact des pièces pendant deux à trois heures reste incolore (Gabe, 1968).

**Figure 3.** Lavage des organes

Il est essentiel d'utiliser des récipients à fond large, de veiller à ce que les pièces ne tombent pas au fond et de prévoir l'évacuation de l'eau par le fond du récipient (Gabe, 1968). Certains auteurs conseillent, néanmoins de soumettre les pièces fixées par un liquide riche en acide picrique à un bain d'alcool à 70º (Gabe, 1968).

### II.1.3 Déshydratation

C'est le traitement par de l'éthanol de concentration progressivement croissante qui représente le mode de déshydratation traditionnel, utilisé pour amorcer l'extraction de l'eau même dans les cas où la déshydratation est achevée grâce à un autre composé (Gabe, 1968).

Les concentrations à mettre en œuvre et les temps d'action sont appréciés de façon très diverse par les auteurs (Gabe, 1968).

**Tableau 4.** Les différentes concentrations utilisées

| Ethanol | | | Ethanol + Butanol | Butanol |
|---|---|---|---|---|
| 70% | 90% | 100% | 50% | 100 % |
| 1h | 1h | 1h | 1h | 1h |

**Figure 4** Préparation avant inclusion (déshydratation)

### II.1.4 Inclusion (paraffine)

Introduite en technique histologique par Klebs (1869), l'inclusion à la paraffine représente, encore à l'heure actuelle, le plus utilisé parmi tous les procédés d'inclusion. Aucun des nombreux autres composés proposés n'a réussi à supplanter la paraffine, ce qui illustre clairement les avantages de cette méthode (Gabe, 1968).

Le but de cette partie du processus d'inclusion est l'obtention d'une imprégnation aussi complète que possible des pièces, le refroidissement au moment du coulage du bloc transformant le tissu, hétérogène du point de vue de la consistance et de l'élasticité, en une masse homogène dont les différents parties se comportent de façon sensiblement égale lors de la confection des coupes (Gabe, 1968).

La température de fusion de la paraffine explique la nécessité d'exécuter à chaud cette partie des opérations, le temps de séjour à l'étuve des pièces étant conditionné d'une part par leur consistance, d'autre part par la nature du liquide employé pour l'imprégnation (Butanol) (Gabe, 1968).

**Tableau 5.** Durée d'utilisation de la paraffine.

| Butanol + paraffine | paraffine | paraffine |
|---|---|---|
| 1h | 1h | 1h |

**Figure 5.** Présentation des tissus placés dans de la paraffine fondue au niveau de l'étuve

L'étape finale de l'inclusion est manuelle et consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine (Rousselet et *al.*, 2005).

**Figure 6.** Présentation de la paraffine fondue dans le moule contenant le prélèvement

On procède alors au démoulage : on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

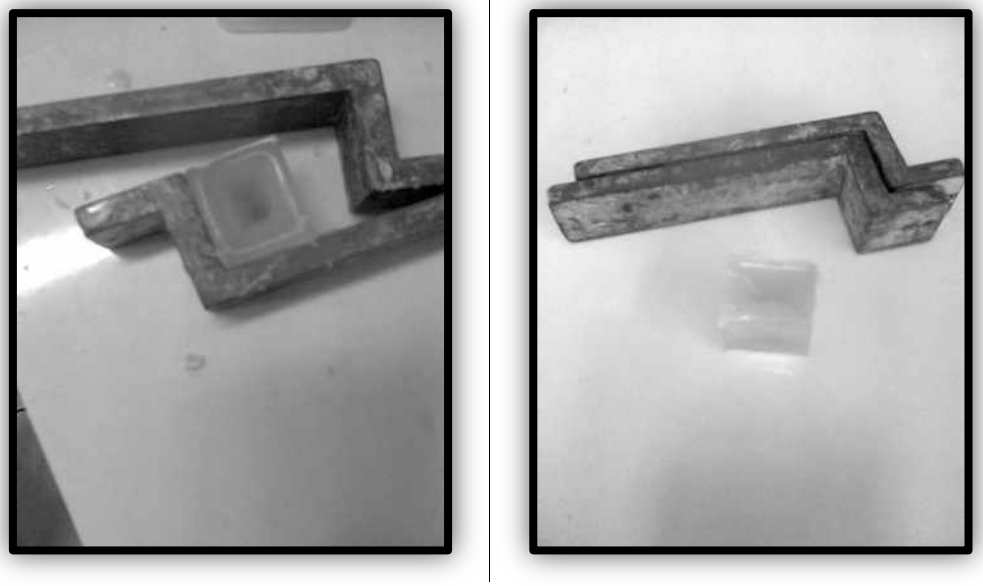


**Figure 7.** Démoulage des blocs

### II.1.5 Coupes

Le bloc de paraffine, refroidi depuis plus de 12 heures est taillé de manière à enlever le plus de paraffine possible sur les quatre côtés destinés à former les bords des coupes (Gabe, 1968). Il est utile de laisser une certaine épaisseur de paraffine du côté de la base du bloc, destinée à être collée sur la platine porte-objet du microtome (Gabe, 1968).

Le collage des blocs sur le porte-objet se fait à la paraffine, une couche de paraffine est déposée sur le porte-objet, chauffée jusqu'à fusion (Gabe, 1968).

**Figure 8.** Microtome

Lorsque le ruban de coupes a atteint une certaine longueur, on arrête le mouvement de rotation du volant de manière à immobiliser la pince porte-objet au point le plus bas de sa trajectoire (Gabe, 1968). L'étalement sur liquide indifférent est plus facile à obtenir (Gabe, 1968). Le collage à la gélatine représente la méthode de choix dans la plupart des cas (Gabe, 1968).

**Figure 9.** Rubans tissulaires collés sur des lames en verre

**Figure 10.** Plaque chauffante

### II.1.6 Colorations

La coloration est une étape importante de la technique histologique (Cannet, 2006).

Elle a pour but de mettre en évidence les différents éléments tissulaires et de les différencier entre eux afin de permettre l'étude de leur structure, de leur morphologie et de leurs modifications pathologiques (Cannet, 2006).

Les coupes à la paraffine, collées sur lames, doivent être débarrassées de la masse d'inclusion avant de subir l'action des colorants ou réactifs histochimiques (Gabe, 1968). Cette dissolution de la paraffine peut être obtenue au moyen de composés divers, dont les plus utilisés sont les hydrocarbures benzéniques (Gabe, 1968). Selon Gabe (1968), il parait utile d'insister sur la nécessité d'une élimination complète de la paraffine avant le traitement ultérieur des pièces.
Un récipient contenant de l'alcool absolu dans lequel sont plongées les lames est évidemment à proscrire (Gabe, 1968). L'alcool absolu servant à éliminer le toluène de déparaffinage est versé sur les deux faces de la lame (Gabe, 1968).

**Figure 11.** Déparaffinage et coloration

**Tableau 6.** Les différents colorants utilisés lors de la coloration des tissus histologiques

| COLORANT | UTILISATION | COLORATION | DUREE DE COLORATION |
|---|---|---|---|
| **Rouge neutre** | Indicateur de pH, utilise également la propriété des vacuoles de retenir les colorants à faible concentration jusqu'à la mort cellulaire (à pH 7). Il permet donc de différencier les cellules vivantes des cellules mortes.<br>Il a été largement utilisé dans les recherches de cytologie végétale et animale (Gabe, 1968). | Rouge (pH < 6,8)<br>Jaune (pH > 8)<br>Rouge neutre (pH<5) | 5 min |
| **Safranine O** | mettre en évidence le cartilage, les mucines et les granules des mastocytes sur des coupes de tissus. | Rouge | 5 min |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Ponceau S** | Pour la coloration réversible des protéines sur les membranes et pour la microscopie | | 5 min |
| **Naphtol Yellow S** | Technique particulièrement adaptée pour la mesure du contenu nucléaire en protéines totales grâce à la réaction de leur groupement aminé avec le colorant (El Amrani et *al.*, 1994). | | 5 min |
| **Vert d'iode** | Colore les tissus lignfiés ou subérifiés et également le chondriome. | Verte | 5 min |
| **Violet cristal** | Colore les noyaux cellulaires.Parfois utilisé pour la coloration de Gram. | Violet | 5 min |

### II.1.7 Observation

Les coupes choisies pour l'observation et pour être constitutives du fond photographique passent par un contrôle de qualité qui élimine les lames en fonction de la qualité de prélèvement du tissu et de la qualité de la coupe.

Les lames microscopiques ainsi produits étaient lues sur un microscope optique équipé d'objectifs (x50, x100, x400, x1000) et d'un système photographique permettant la prise des images histologiques.

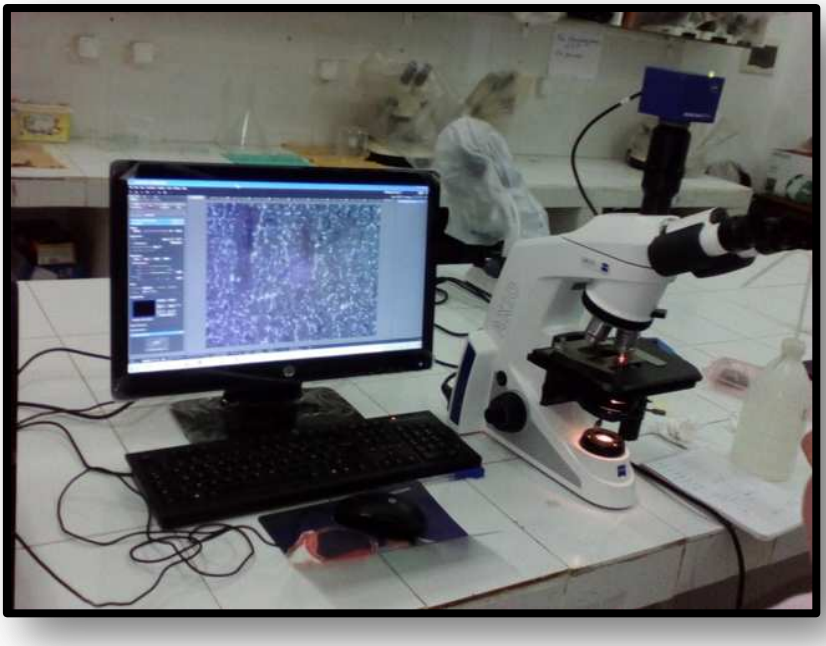


**Figure 12.** Présentation du système microscopique

Les photographies des lames microscopiques s'effectuent à plusieurs niveaux de grossissement sur une lame d'une coupe d'organe permettant la présentation histologique.

# RÉSULTATS
# ET
# DISCUSSION

# III Résultats et discussion

## III.1 Histologie des poissons

### III.1.1 Structure histologique du foie des poissons

L'histologie du foie des poissons diffère sensiblement de celle du foie des mammifères. Les hépatocytes ont beaucoup moins tendance à se disposer en cordons ou en lobules (Choulika, 2002).

Les sinusoïdes **(Figure 13)**, irrégulièrement distribués entre les polygones d'hépatocytes, sont plus rares et bordés de cellules endothéliales à noyau très proéminent, leur tunique ne comporte pas de cellules de Kuppfer. L'hépatocyte est polygonal, centré d'un noyau bien distinct, le réseau des voies biliaires est formé de canalicules biliaires, intracellulaires qui s'anastomosent au hasard, pour former des canaux typiques qui fusionnent et aboutissent éventuellement à une vésicule biliaire (Choulika, 2002).

Le foie des poissons est entouré d'une paroi séreuse très mince, d'où s'échappent quelques fibres conjonctives discrètes qui pénètrent le parenchyme hépatique **(Figure 13)** mais qui ne le compartimentent jamais : il n'existe donc pas de lobules hépatiques analogues à ceux des vertébrés supérieurs (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

Toute la glande est un réseau de lames hépatiques à disposition tortueuse, anastomosées et relativement épaisses (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

Les espaces entre ces lames (comme chez les autres vertébrés) sont occupés par un réseau de sinusoïdes sanguines drainant le sang apporté par la veine porte **(Figure 13)** et l'artère hépatique (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des lipides et des glucides (Bauchet, 2006).

Ils servent également à détoxifier et à stocker certains nutriments. Parmi ces nutriments, on compte les lipides et surtout le glycogène (Bauchet, 2006).

Les lipides et le glycogène ne sont pas préservés ni colorés par les méthodes classiques d'histologie (fixation, inclusion en paraffine et coloration HES), si bien que leur présence est visible sous la forme de vacuoles dans le cytoplasme des hépatocytes (Bauchet, 2006).

Comme la nature de ces réserves ne peut être déduite de la forme des vacuoles, des colorations spéciales sont nécessaires (Bauchet, 2006).

D'un point de vue cytologique, les hépatocytes de poissons possèdent les mêmes caractéristiques que ceux des mammifères mais ils diffèrent par de grandes variations dans le contenu de leurs **inclusions glycogéniques** et surtout **lipidiques** (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

Ces variations sont fonction du régime alimentaire mais également du stade de développement : le foie d'un poisson juvénile sera très différent de celui d'un adulte mâle ou encore, de celui d'une femelle en vitellogenèse (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004). Il est donc un « miroir » très fidèle de l'état d'activité et de santé de l'individu (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004). Des hépatocytes gorgés de lipides sont fréquents chez les poissons : il en résulte un écrasement des sinusoïdes et souvent la présence de petits foyers inflammatoires (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

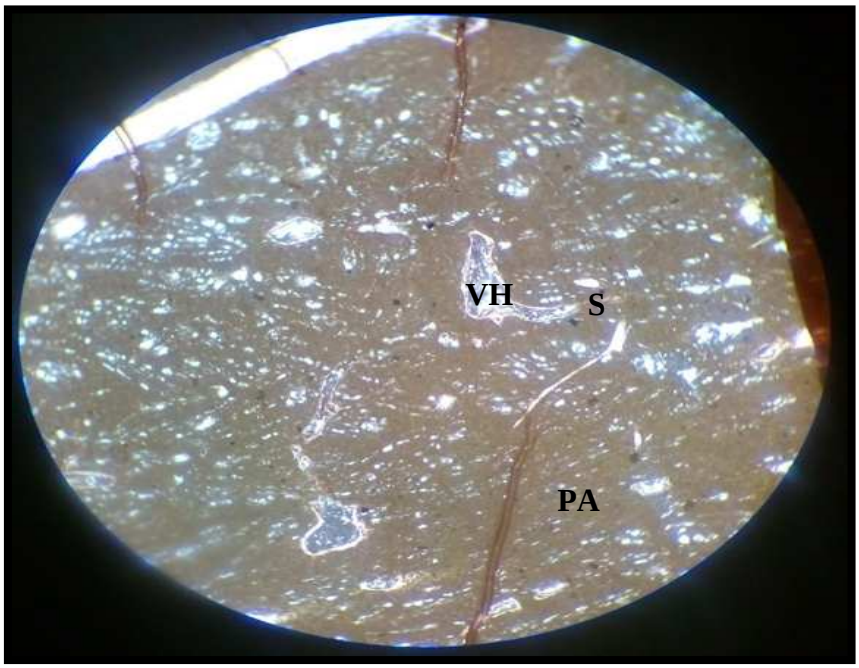



**Figure 13.** Microphotographie du foie normal de *Trachinus draco* G: 100x (**VH:** veine hépatique; **S:** sinusoïdes; **PA:** parenchyme).

### III.1.2 Structure histologique des gonades des poissons

Les gonades des poissons téléostéens adultes sont généralement paires et de forme allongée ; elles sont localisées dans la cavité abdominale et sont rattachées au mésentère dorsal (Bauchet, 2006).

Chez de nombreuses espèces, la paroi des gonades s'étend vers l'arrière pour former les gonoductes, qui fusionnent avant de déboucher sur le pore génital, qui s'ouvre entre l'anus et le pore urinaire (Bauchet, 2006).

#### III.1.2.1 Ovaires

De tous les vertébrés, c'est chez les poissons qu'il existe la plus **grande diversité dans l'anatomie** des systèmes génitaux femelles des poissons (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

Les gonades peuvent être paires ou impaires, atrophiées (stade juvénile ou période de repos sexuel) ou hypertrophiées (périodes d'activité sexuelle) ; les oviductes sont plus ou moins développés et flanqués ou non de glandes annexes en fonction du mode de reproduction et de fécondation : la plupart des espèces sont **ovipares** mais d'autres sont **vivipares** ou **ovovivipares** ; la **période de frai** peut être annuelle ou saisonnière, courte ou longue ; la **fécondation** peut être interne ou externe (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

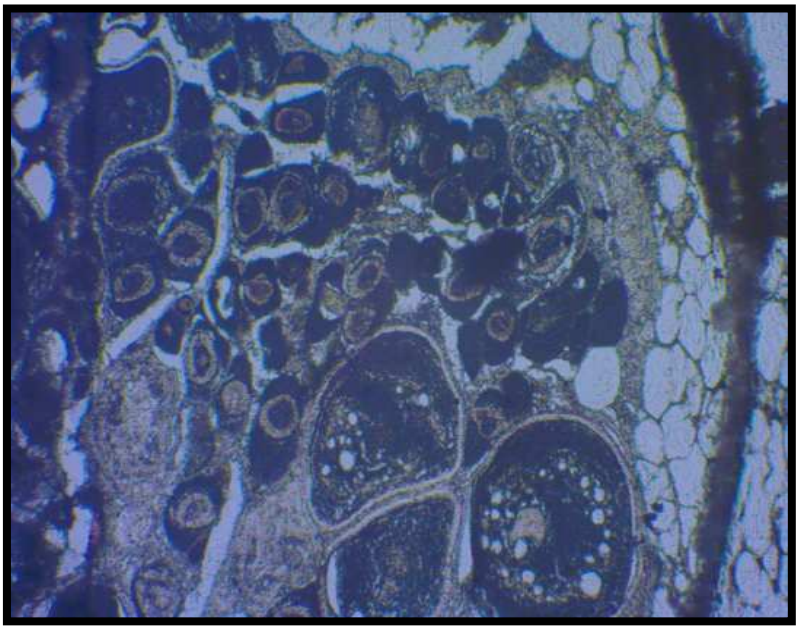


**Figure 14.** Microphotographie de gonade femelle normale d'*Aspitrigla obscura* G: 100x

### III.1.2.2 Testicules

Comme pour les femelles, il existe une grande variabilité dans l'anatomie de l'appareil génital des poissons mâles (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004). Les poissons téléostéens mâles matures possèdent **deux testicules internes** (qui peuvent parfois fusionner en un seul organe), de forme généralement très allongée, situés dorsalement, de part et d'autre du tube digestif (Leclercq-Smeken et Hérin, 2004).

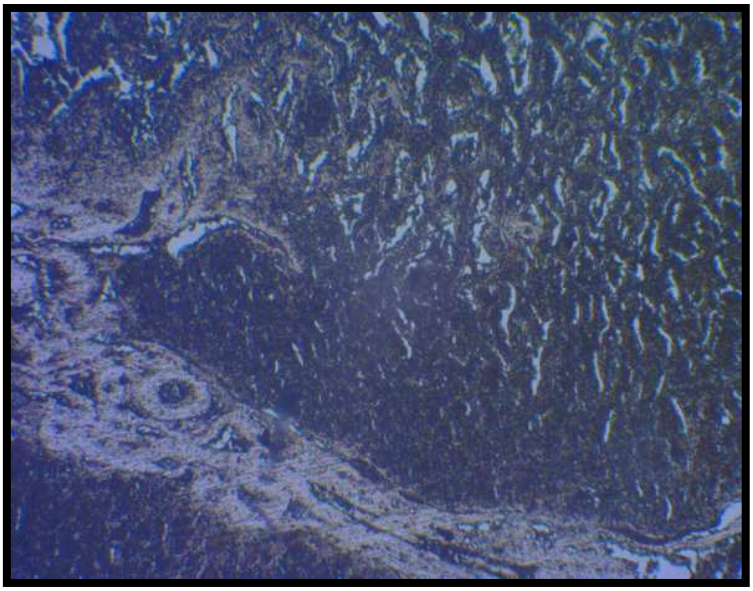


**Figure 15.** Microphotographie de gonade mâle normale de *Trachinus draco* G: 100x

## III.2 Présentation des résultats

### III.2.1 Foie

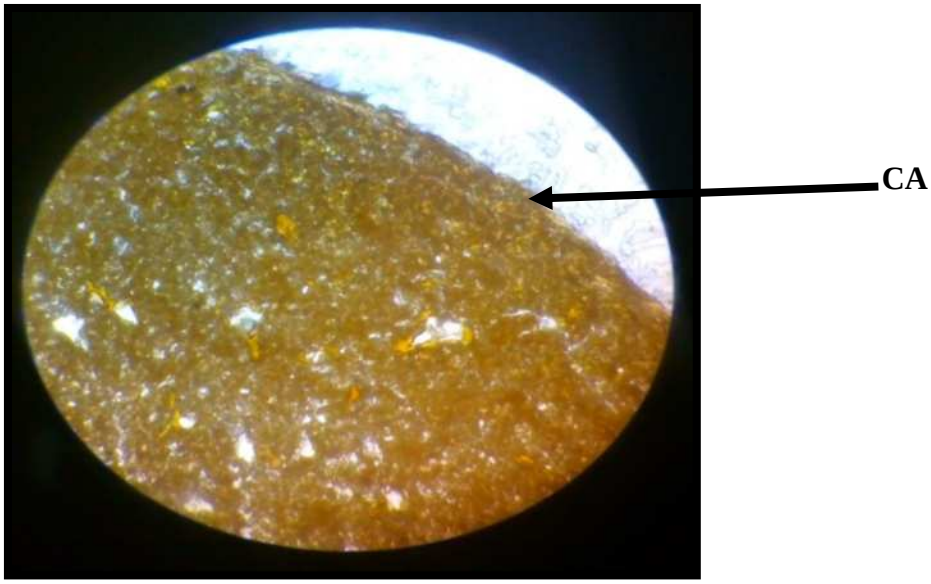



**Figure 16.** Microphotographie du foie de *Raja asterias* G: 100x
(CA**:** capsule hépatique).

Selon Lagadic et *al.* (1997) en p. 361, le foie des poissons est entouré d'une fine paroi séreuse ou capsule hépatique **(Figure 16)** et ne présente pas, à la différence des mammifères, de structure lobulaire.

Chez les Chondrichtyens, les lipides se colorent en jaune, et cette coupe histologique qui représente le foie d'une raie **(Figure 16)**, peut nous montrer une bioaccumulation des lipides qui peut revenir selon Leclercq-Smeken et Hérin (2004) au contenu des inclusions lipidiques des hépatocytes.

Cependant, une forte bioaccumulation hépatique de toxiques peut être observable selon Lagadic et *al.* (2004) dans les milieux naturels contaminés car les lipides de réserve hépatocytaires constituent le site de stockage principal des molécules xénobiotiques liposolubles.

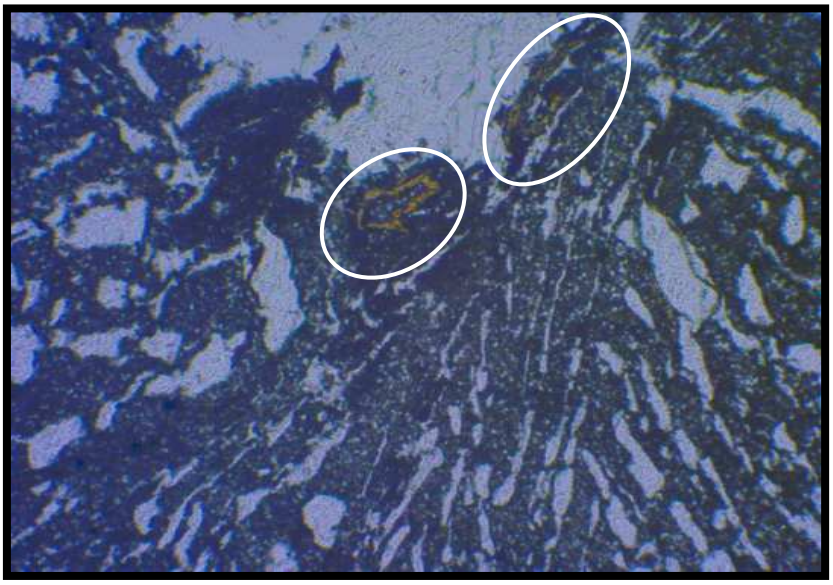


**Figure 17.** Microphotographie du foie de *Raja montagui* G: 100x

On peut remarquer qu'au niveau de ce tissu **(Figure 17)**, les parties entourées par un cercle blanc peuvent représenter des nécroses hépatiques.

Les nécroses hépatiques, locales, diffuses ou très étendues, peuvent être provoquées expérimentalement, chez les poissons, à la suite d'intoxications de longue durée par des produits très hépatotoxiques et/ou par de fortes concentration en polluant (Lagadic et *al.*, 1997). Selon Lagadic et *al.* (1997), l'agression toxique du foie peut également aboutir à une lyse de portions entières du parenchyme.

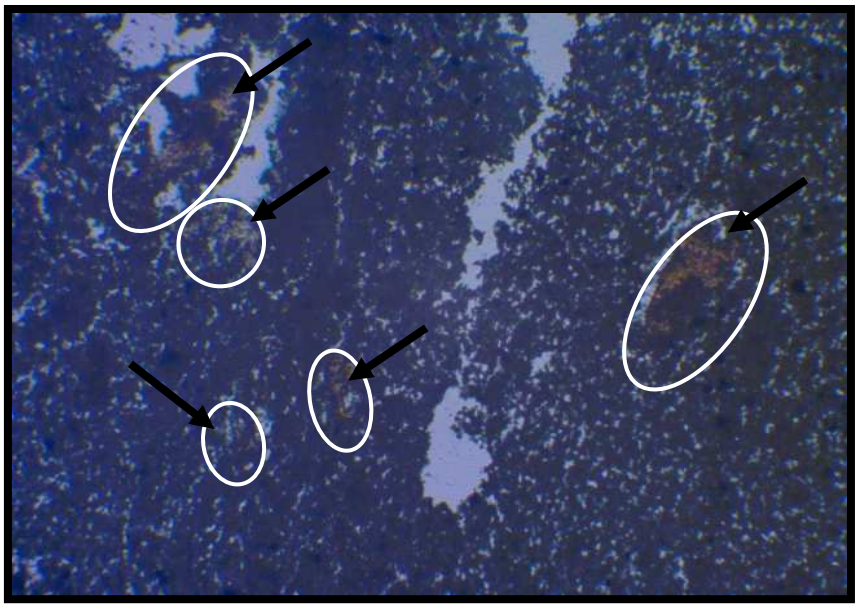


**Figure 18.** Microphotographie du foie de *Torpedo marmorata* G: 100x

Tout comme *Raja montagui* **(Figure 17)**, on peut considérer les éléments cerclés **(Figure 18)** comme des nécroses hépatiques avec un niveau d'altération plus élevé.

Cette dégénérescence lipoïde correspond selon Lagadic et *al.* (1997) à une nécrose cellulaire avec accumulation excessive et pathologique de lipides.

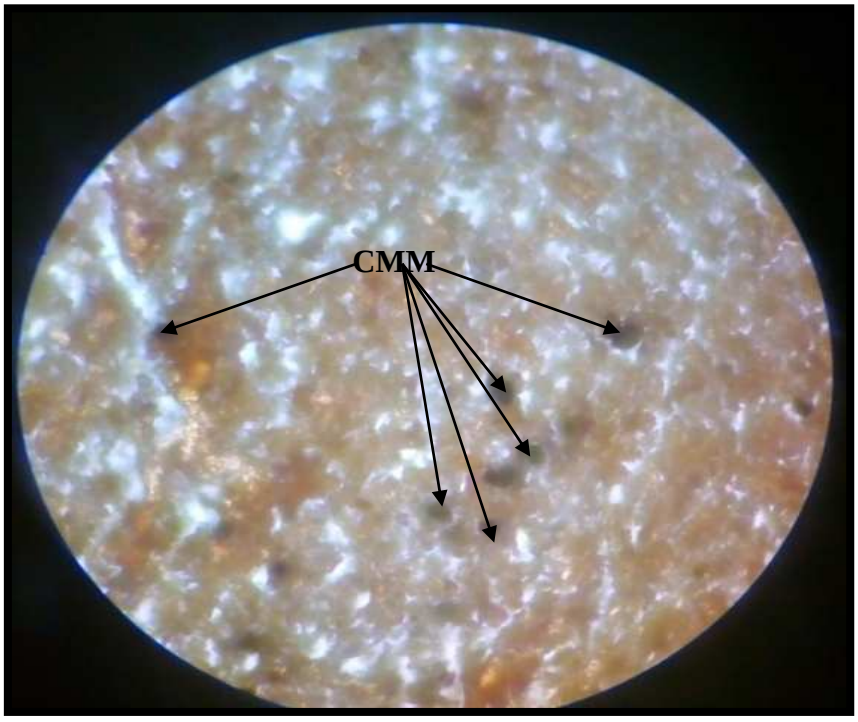



**Figure 19.** Microphotographie du foie de *Torpedo marmorata* G: 100x

On peut supposer qu'il y a une accumulation lipidique au niveau du parenchyme **(Figure 19)**, qui peut être relié aux stocks lipidiques dans le foie ou bien à cause de la contamination des milieux naturels selon Lagadic et *al*. (1997).

Le foie des poissons contient également des cellules immunitaires localisées dans la lumière des sinusoïdes (monocytes, lymphocytes), sous l'endothélium vasculaire, dans la paroi et autour des conduits biliaires et entre les hépatocytes (mélano-macrophages, macrophages, lymphocytes) ainsi que dans les centres mélano-macrophages (Biagianti-Risbourg, 1993; Lagadic et *al*., 1997) (p. 366).

Des CMM (centres mélano-macrophages) sont aussi observables dans ce parenchyme **(Figure 19)**.

Selon Lagadic et *al*. (1997) en p. 366, ces centres mélano-macrophages sont constitués d'une part de lymphocytes et d'autre part de macrophages et mélano-macrophages chargés de déchets d'origine endogène (corps résiduels à lipofuchsines, cristaux d'esters de cholestérol).

Mais ces centres qui sont nombreux, peuvent nous conduire à penser qu'il y a une attaque de substances exogènes qui peuvent être toxique et qui reflètent l'état du milieu et donc il existe une présence d'une pollution au niveau du milieu naturel impactant la population de *Torpedo marmorata* de la zone d'étude.

On peut confirmer cette hypothèse à partir d'une intoxication expérimentale par des molécules xénobiotiques variées, selon Biagianti-Risbourg (1990); Braunbeck (1995); Hinton et Laurén (1995); Lagadic et *al*. (1997) après cette intoxication, une augmentation du nombre et de la taille des **CMM** a également été observée.

Un tel accroissement du nombre et/ou de la taille des **CMM** hépatiques constitue un critère suffisant et pratique pour juger de l'état sanitaire des poissons (Lagadic et *al.*, 1997).

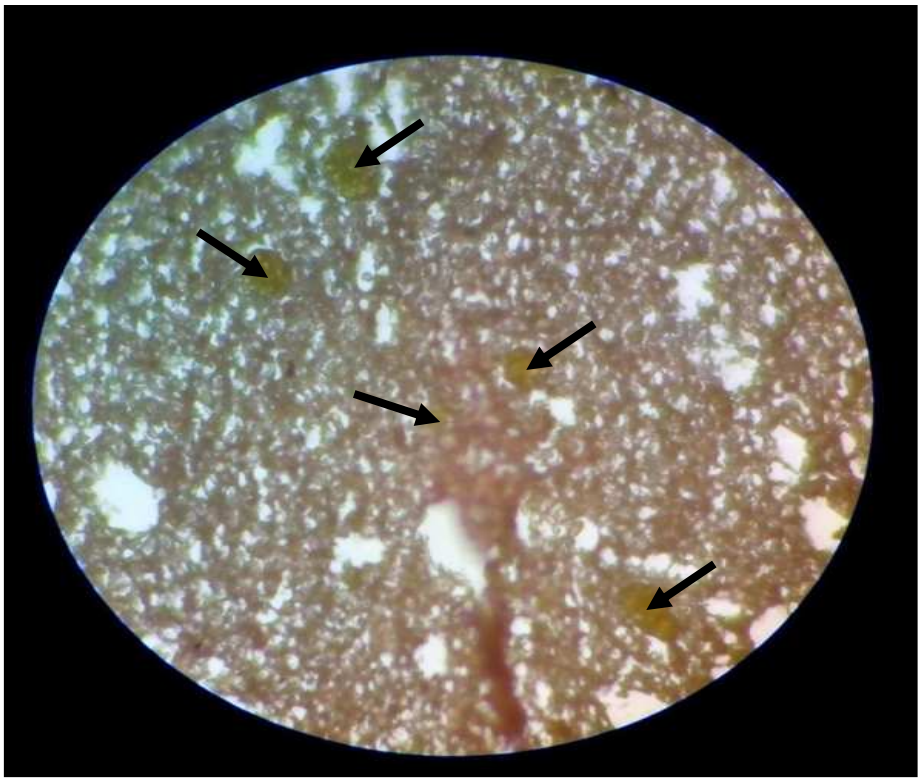


**Figure 20.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x

Une accumulation lipidique est remarquée sur cette coupe histologique **(Figure 20)**, ça peut être selon Lagadic et *al.* (1997) due à des contaminants liposolubles de nature chimique très différente qui provoquent une accumulation de lipides hépatiques.

Les parties vides au niveau du parenchyme **(Figure 20)** sont le résultat d'un excès de paraffine lors de la manipulation de notre protocole histologique.

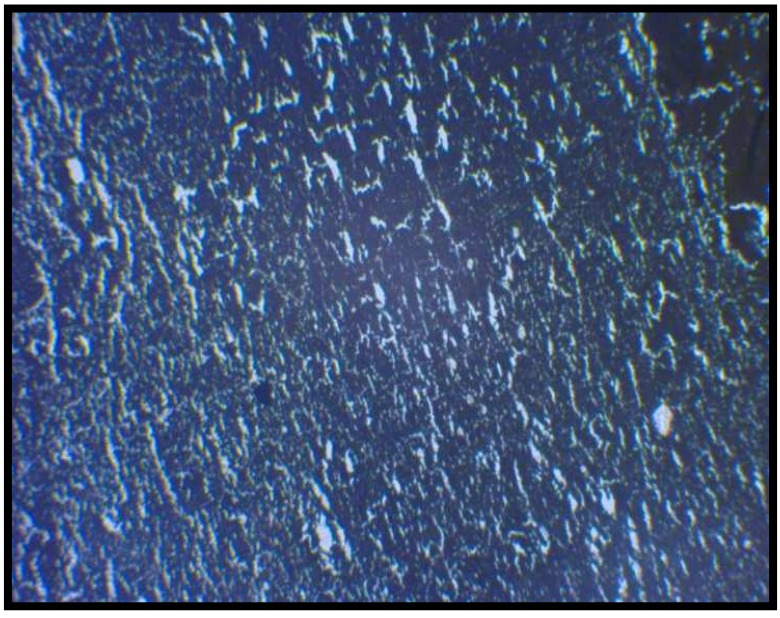


**Figure 21.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x

La mal formation de ce tissu **(Figure 21)** hépatique peut être interpréter par une dilatation des cellules hépatiques ou ce que Lagadic et *al.* (1997) a nommé sous le terme « d'Atteintes nucléaires ».

D'une façon générale, les altérations nucléaires morphologiquement reconnaissables, après intoxication expérimentale, sont toujours précédées de modifications de l'ultra-structure du cytoplasme (Popper, 1982; Biagianti-Risbourg, 1990; Lagadic et *al.*, 1997).

La stimulation des mitoses, la réduction de taille et la déformation du noyau, l'augmentation ou la réduction de la quantité d'hétérochromatine, la réduction de taille du nucléole, la présence d'inclusions lipidiques ( limitées ou non par une membrane) au sein du nucléoplasme, la dilatation de l'enveloppe nucléaire ou la pycnose sont les altérations nucléaires les plus communes et elles constituent autant de biomarqueurs potentiels de pollution des milieux aquatiques ( Braunbeck, 1995; Lagadic et *al.*, 1997).

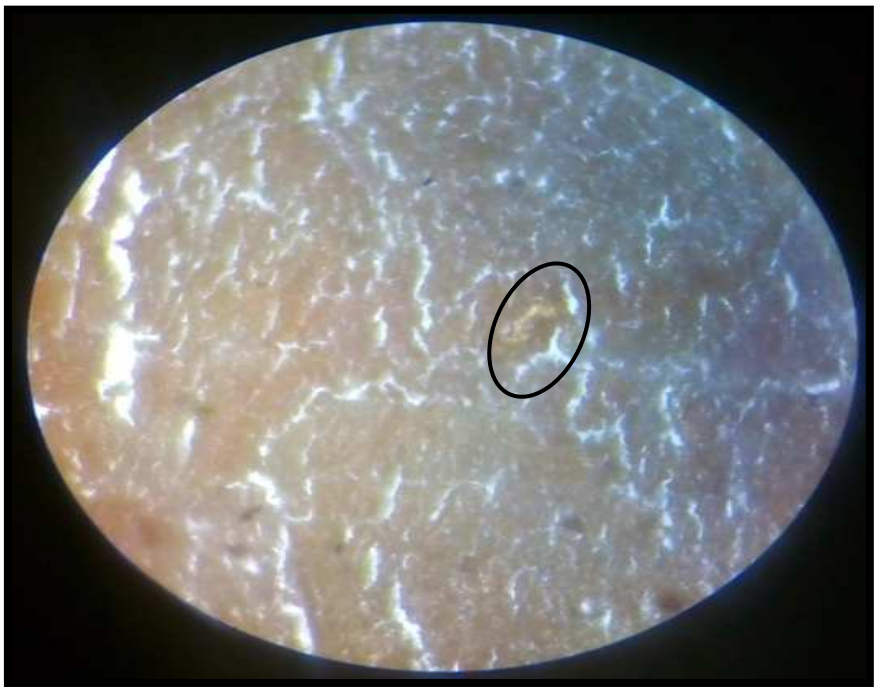


**Figure 22.** Microphotographie du foie d'*Aspitrigla obscura* G: 100x

On a remarqué précédemment la présence des nécroses chez les Chondrichtyens : *Raja montagui* **(Figure 17)** et *Torpedo marmorata* **(Figure 18)**, et sur ce Téléostéen, *Aspitrigla obscura* **(Figure 22)**, aussi, ce qui peut exprimer une altération ou même une attaque toxique non seulement sur un individu ou une espèce mais sur une population, donc une atteinte de l'écosystème.

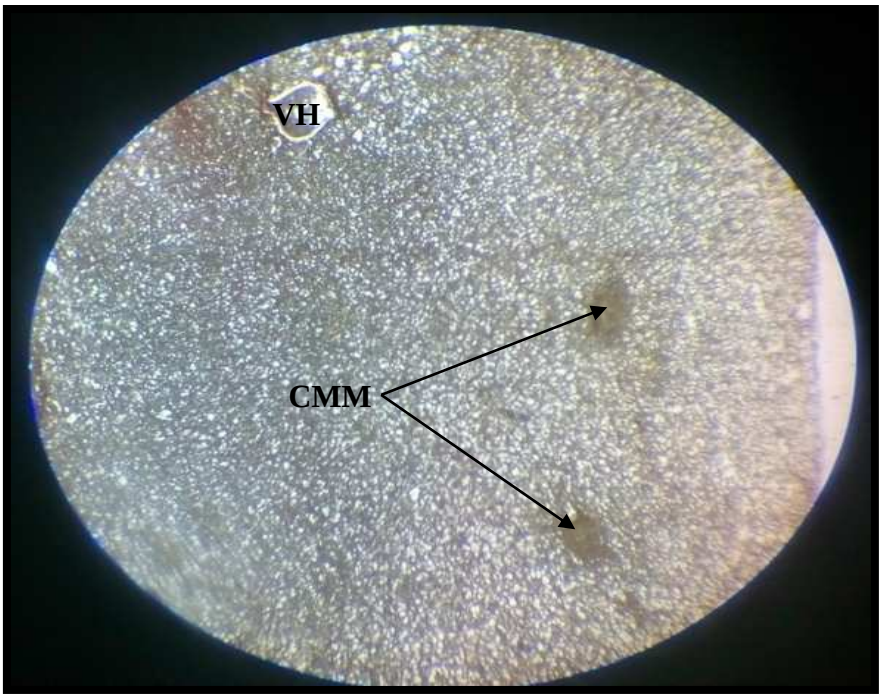



**Figure 23.** Microphotographie du foie de *Synodus saurus* G: 100x
(**CMM:** centres mélano-macrophages; **VH:** veine hépatique)

On peut observer une veine hépatique sur cette coupe **(Figure 23)** selon Lagadic et *al*. en p. 361

La taille et le nombre des centres mélano-macrophages au niveau de cette coupe **(Figure 23)** ne sont pas importants, ce qu'ils ne s'expliquent que par leur rôle ordinaire du stockage des macrophages qui sont remplies par des résidus cellulaires d'origine hépatocytaire selon Agius et Agbede (1984) et Lagadic et *al*. (1997).

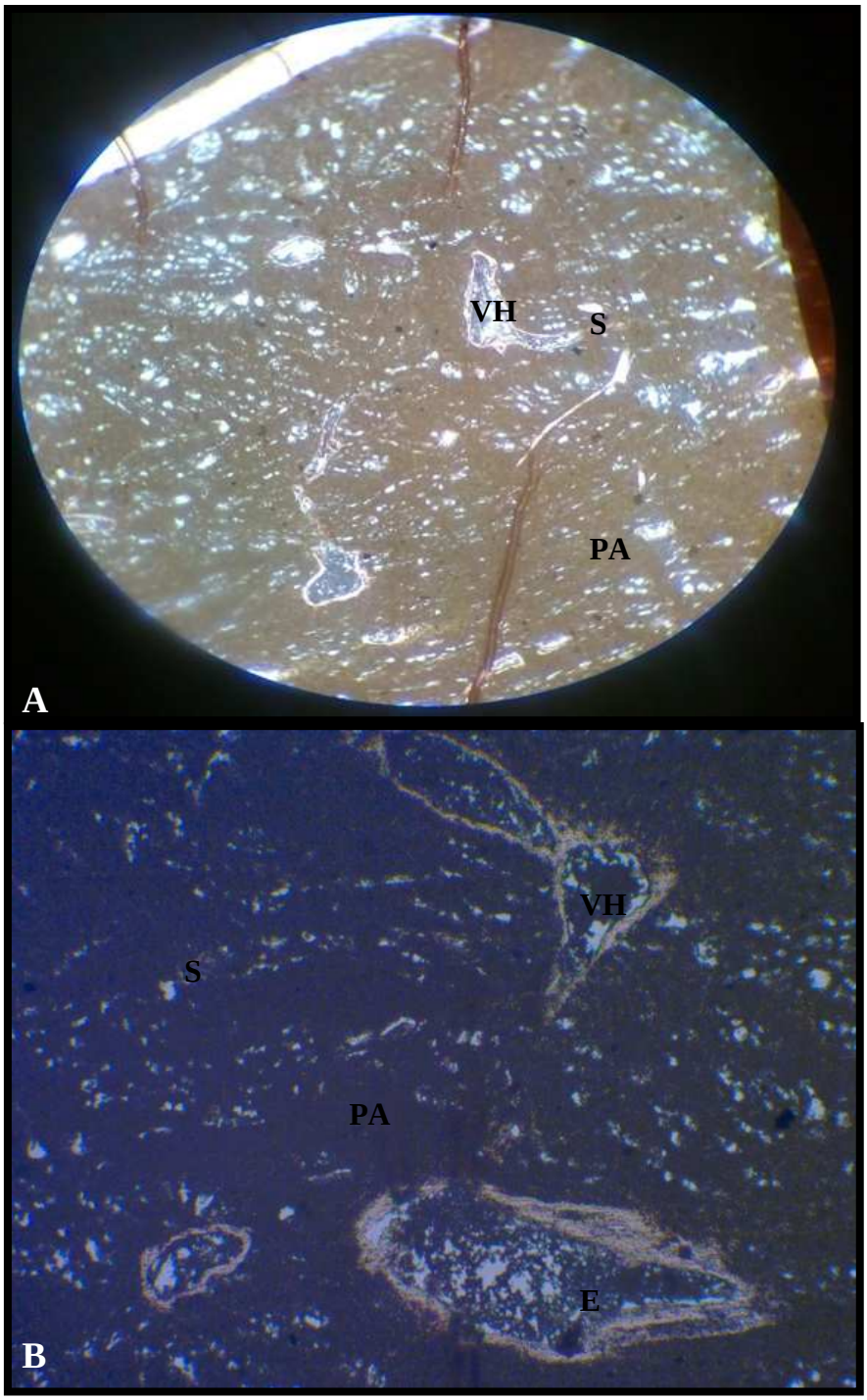



**Figure 24.** Microphotographie du foie de *Trachinus draco.* A. G: 100x B. G:400x (**S:** sinusoïde ; **PA:** parenchyme hépatique ; **VH:** veine hépatique ; **E:** Érythrocyte).

Les deux coupes histologiques du foie de *Trachinus draco* **(Figure 24)** nous représente une coupe microstructurale dont tous les éléments semblent proches de leur état normal.

À partir des présentations des coupes ultra-structurales de Lagadic et *al.* (1997) en p. 361, on peut distinguer ces éléments clairement, et par la suite on peut conclure que ce foie est normal.

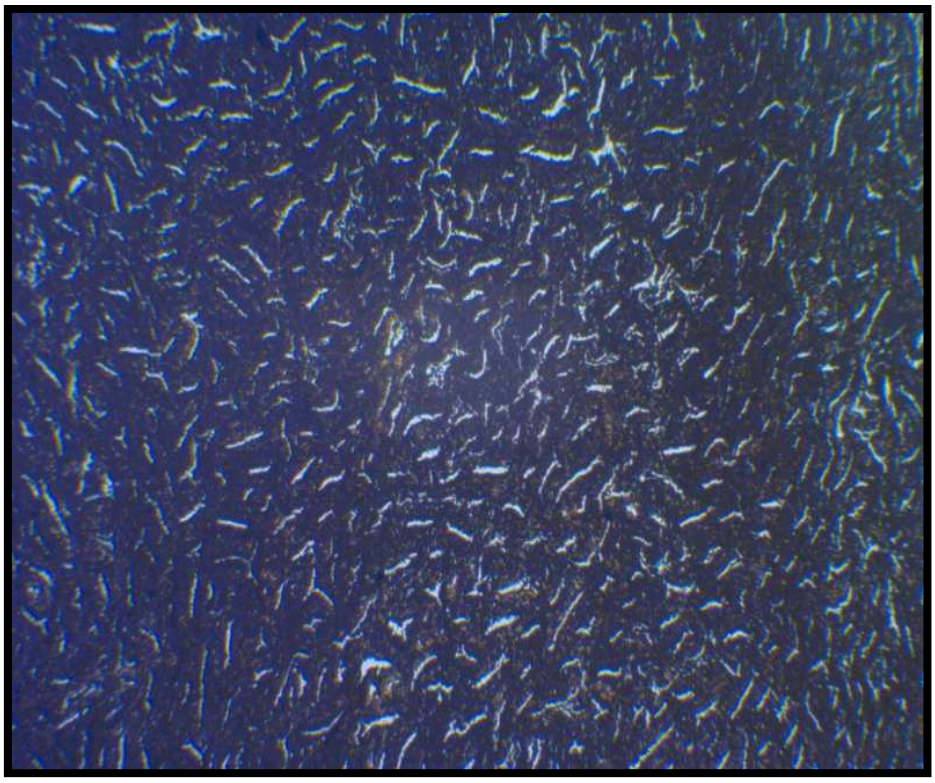


**Figure 25.** Microphotographie du foie d'*Uranoscopus scaber* G: 100x

Ce tissu hépatique **(Figure 25)** est complètement déchiré. On suppose à une mauvaise coupure lors de l'utilisation du microtome ou bien à cause d'un mauvais étalement du ruban de paraffine.

### III.2.2 Gonades

Le cycle ovarien n'est guère que le reflet de l'ovogenèse, de la ponte ou de la dégénérescence d'une partie des ovocytes de l'ovaire. Le stade de développement des ovocytes, observés sur des coupes histologiques, permet d'estimer le degré d'évolution de l'ovaire et de mettre en évidence les grandes étapes du cycle ovarien (Sarano, 1986; Bouaziz, 2007).

L'ovogenèse chez les poissons peut être divisée en trois étapes : la croissance, où sont inclusent la vitellogenèse, la maturation et l'ovulation. Les différents critères utilisés pour définir ces étapes sont : la taille des ovocytes, la quantité et la distribution des inclusions cellulaires dans le cytoplasme, comme les globules vitellins (Guraya, 1986; Bouaziz, 2007).

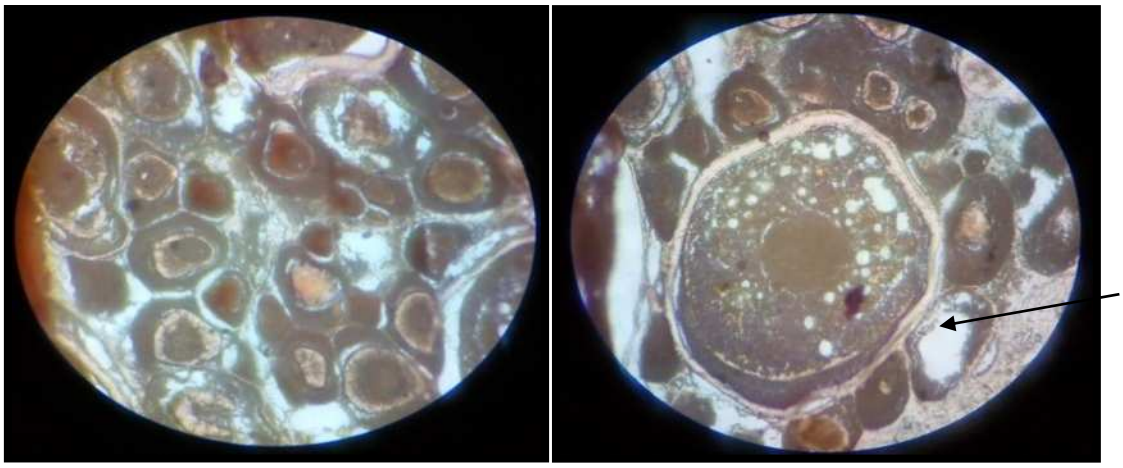



**Photo 1.** stade I **Photo 2.** stade II

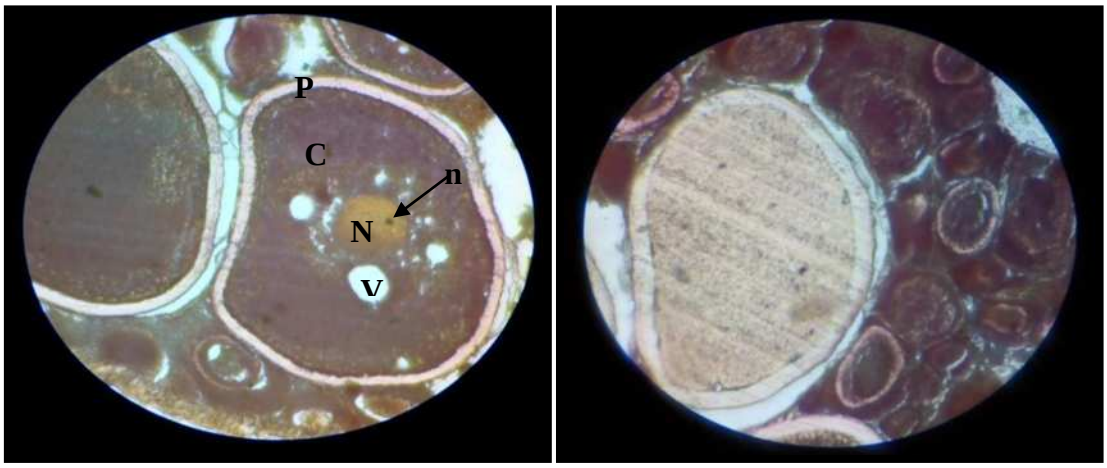



**Photo 3.** stade III **Photo 4.** fin du stade III

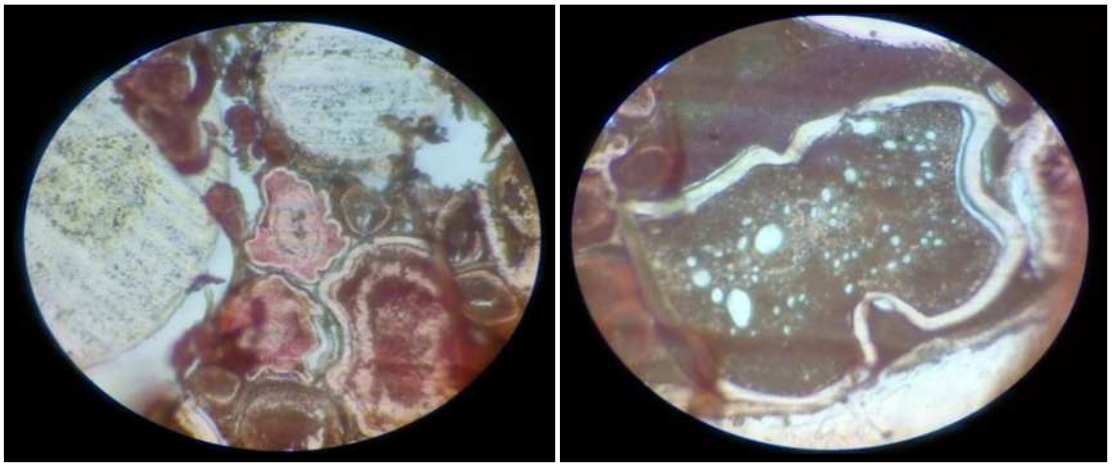


**Photo 5.** division mitotique **Photo 6.** division mitotique

**Figure 26.** Microphotographie de gonade femelle d'*Aspitrigla obscura* G: 400x
( **P:** paroi ovocytaire; **N:** noyau; **n:** nucléole; **V:** globule vitellin; **C:** cytoplasme)

Plusieurs stades du développement ovocytaires ont été observés concernant les gonades femelles d'*Aspitrigla lyra* **(Figure 26)** :

**Photo 1**

Stade 1 : Immature

Il est caractérisé par des cellules très peu développées. Ces cellules peuvent être des ovogonies ou de jeunes ovocytes. Le vitellus n'y est pas apparent (Mukasikubwabo, 1990).

Les ovocytes de forme polyédrique ont leur cytoplasme homogène. Ils sont entourés d'une mince couche de cellules folliculaires. Ces ovocytes sont en phase de prévitellogenèse (Ouattara et Fantodji, 2008).

**Photo 2**

L'atrésie folliculaire est un processus de dégénérescence par lequel les ovocytes à différents stades du développement n'arrivent pas à terme; le plus souvent elle affecte les ovocytes vitellogéniques pendant la période de pré-ponte, de ponte ou de post-ponte (Guraya, 1986; Bouaziz, 2007).

Stade II : Immature

Il est caractérisé surtout par le début de la vitellogenèse. Il y a apparition et développement d'une couronne de granules vitellins de la périphérie de la cellule vers le noyau.

A la fin du stade II le vitellus occupe tout l'espace protoplasmique a l'exception de deux zones cytoplasmiques, une à la périphérie de la cellule et l'autre autour du noyau (Fontana, 1969).

Les ovocytes de forme arrondie ont augmenté de volume. Le noyau occupe une position centrale (Ouattara et Fantodji, 2008).

**Photo 3**

Stade III

Les ovocytes en phase d'accroissement présentent un cytoplasme granuleux qui contient des vacuoles arrondies de taille irrégulière, entourant le noyau volumineux dont lequel tous les nucléoles sont repoussés à la périphérie (Baron, 1985).

**Photo 4**

Fin du stade III

Le vitellus apparait homogène et le noyau migre à la périphérie de la cellule, dans le cytoplasme ces transformations résultent d'une coalescence des inclusions vitellines observées sur de nombreux Téléostéens marins) (Baron, 1985).

**Photo 5 et Photo 6** (division mitotique)

Le processus de formation des œufs est appelé ovogenèse, après la détermination du sexe en femelle, les cellules germinales deviennent des ovogonies, qui continuent la division méiotique pendant un certain temps (Slack, 2004). Après la dernière division mitotique, la cellule germinale prend le nom d'ovocyte (Slack, 2004). Il s'agit d'un ovocyte primaire jusqu'à la fin de la première division méiotique, et d'un ovocyte secondaire jusqu'à la fin de la seconde division méiotique (Slack, 2004). Après cela, il est connu sous le nom d'œuf non fécondé, ou ovule. Parce que, se produit toujours avant la fin de la seconde division, c'est techniquement un ovocyte plutôt qu'un œuf qui subit la fécondation. Néanmoins, le terme « œuf » est souvent utilisé plutôt vaguement pour se rapporter aux ovocytes, aux ovules fécondés, et même parfois aux embryons précoces (Slack, 2004).

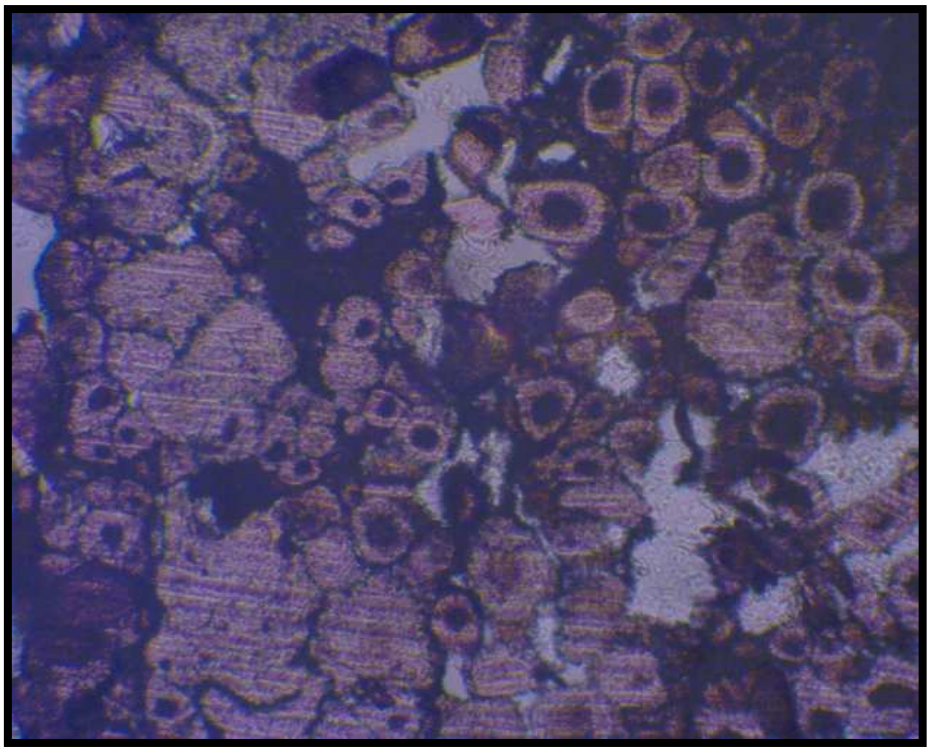


**Figure 27.** Microphotographie de gonade femelle de *Trigla lyra* G: 100x

On peut remarquer des ovocytes au stade I et II dispersées dans tout le tissu gonadique de *Trigla lyra* **(Figure 27)** avec une paroi mince et un noyau visible qui occupe un volume important de la cellule.

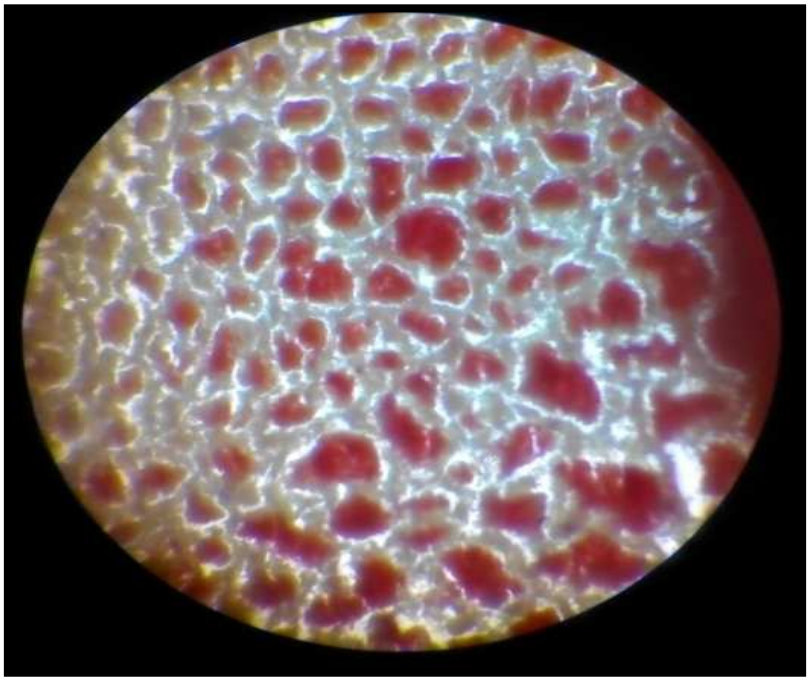


**Figure 28.** Microphotographie de gonade femelle de *Trachinus draco* G: 100x

Les cellules ovocytaires de *Trachinus draco* **(Figure 28)** sont colorées en rouge et ça peut être due à une coloration mauvaise du tissu gonadique de *Trachinus draco*.

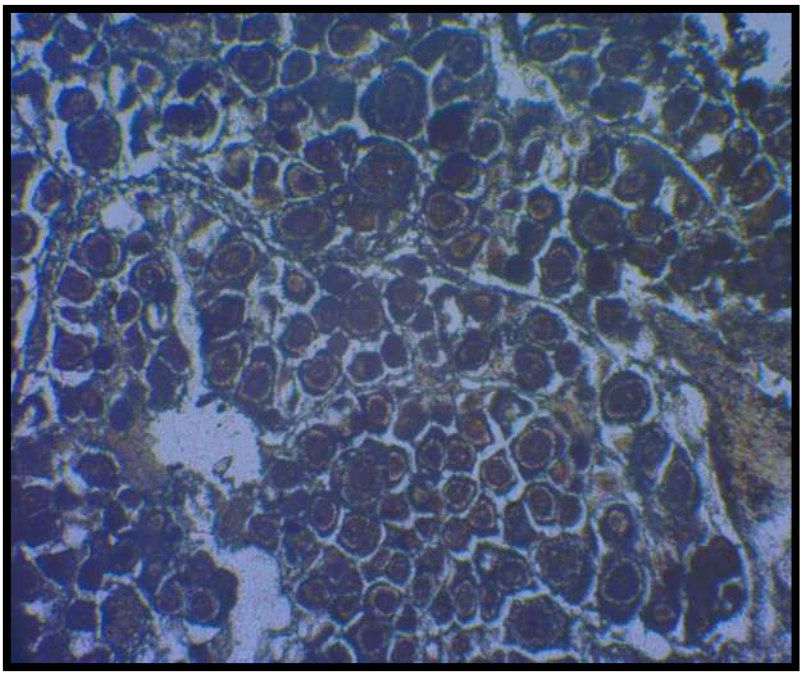


**Figure 29.** Microphotographie de gonade femelle de *Trachinus draco* G: 100x

Dans les ovaires immatures (stade I), les ovocytes de forme polyédrique se trouvent disposés régulièrement le long des lamelles ovariennes **(Figure 29)**. Leur cytoplasme est homogène et fortement basophile. Le noyau est bien délimité (Fontana, 1969).

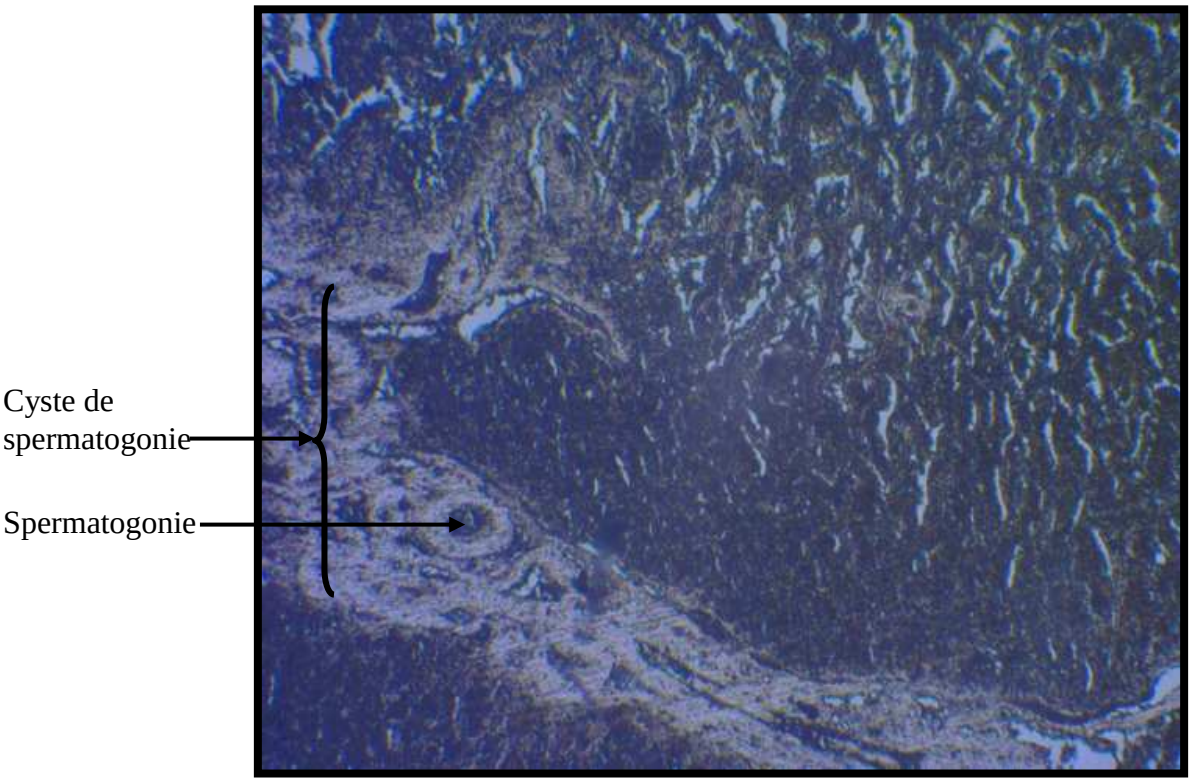



**Figure 30.** Microphotographie de gonade mâle de *Trachinus draco* G: 100x

La spermatogenèse est habituellement divisée en deux stades : la maturation et la spermiogenèse. La formation des cystes commence avec la division mitotique des spermatogonies qui se transforment en spermatocytes primaires. Au cours de la spermatogenèse, la première division méiotique produit deux cellules-filles dites spermatocytes secondaires, qui à travers la deuxième division méiotique se transforment en spermatides. Ces dernières possèdent un lot de chromosomes haploïdes. Au cours de la spermiogenèse, les spermatides se différencient en spermatozoïdes. Selon Monteiro (2004) et Bouaziz (2007), les gonocytes primordiaux qui sont à l'origine des spermatogonies se développent dans des cystes formés par les cellules de Sertoli (Bouaziz, 2007).

On ne peut distinguer que les spermatogonies sur cette coupe histologique **(Figure 30)** de la gonade mâle de *Trachinus draco* (faible grossissement).

**Tableau 7.** Classification des espèces de la population traitée selon le degré d'altération.

| ORGANE | ESPECE | DEGRÉ D'ALTÉRATION |
|---|---|---|
| Foie | *Raja asterias* **(Figure 16)** | Subnormal |
| | *Raja montagui* **(Figure 17)** | Subnormal |
| | *Torpedo marmorata* **(Figure 18)** | Anormal |
| | *Torpedo marmorata* **(Figure 19)** | Anormal |
| | *Aspitrigla obscura* **(Figure 20)** | Subnormal |
| | *Aspitrigla obscura* **(Figure 21)** | Anormal |
| | *Aspitrigla obscura* **(Figure 22)** | Subnormal |
| | *Synodus saurus* **(Figure 23)** | Subnormal |
| | *Trachinus draco* **(Figure 24)** | Normal |
| | *Uranoscopus scaber* **(Figure 25)** | Mauvaise manipulation |
| Gonade | *Aspitrigla obscura* **(Figure 26)** | Normal |
| | *Trigla lyra* **(Figure 27)** | Normal |
| | *Trachinus draco* **(Figure 28)** | Anormal |
| | *Trachinus draco* **(Figure 29)** | Normal |
| | *Trachinus draco* **(Figure 30)** | Normal |

# CONCLUSION

## Conclusion

La connaissance scientifique des modalités, des mécanismes et des effets ( non seulement sur les êtres vivants isolés mais aussi sur les systèmes écologiques ) de la pollution de la biosphère constitue un préalable nécessaire si l'on veut préserver la qualité et la pérennité des habitats terrestres et aquatiques en luttant contre la contamination des milieux naturels et en mettant en œuvre des méthodes de prévention (Ramade, 2010).

Face aux risques qu'exerce la pollution marine sur un écosystème entier et non seulement sur un individu, la mise en place d'outils permettant une détection précoce des altérations parait nécessaire.

Dans notre travail, nous nous sommes attachés à l'étude des indices hépatiques et gonadiques à partir de la méthode histologique qui nous permet de détecter l'altération à l'échelle microscopique et par la suite sur une échelle de population.

Ce travail a permis d'apporter des informations nouvelles et complémentaires sur la qualité environnementale d'un milieu ainsi que le meilleur indicateur écotoxicologique à adopter pour la surveillance et l'évaluation de la pollution marine.

Les résultats qu'on a obtenus durant le déroulement de notre travail ont montré des altérations sur la majorité des organes de poissons traités (le foie en particulier).

On a donc classé nos résultats selon le degré d'altération de chaque tissu hépatique ou bien gonadique, et on a créé une échelle pour cette altération (normale, subnormale et anormale).

L'indice hépatique peut répondre aux questions environnementales concernant la qualité du milieu naturel d'une population, contrairement à l'indice gonadique qui n’apporte pas les informations nécessaires à l’étude de la qualité du milieu naturel, sans oublier que l’étude de l’indice gonadique s’est sur une faible période sans avoir aborder l’ensemble du cycle reproducteur sur une année. Peut-être l’étude de l’indice gonadique sur un cycle entier pourrait apporter des informations sur la qualité du milieu au même titre que l’indice hépatique.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques


AARAB, N. (2004). *Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain*. Thèse de doctorat. Ecotoxicologie des milieux aquatiques. Bordeaux : L'université de Bordeaux 1, 235 p.

ALLAIN, V. (1999). *Ecologie, biologie et exploitation des populations de poissons profonds de l'Atlantique du Nord-Est.* Thèse de doctorat. Océanologie biologique. France : Université de Bretagne occidentale, 376 p.

AMEZELEL, N. (2014). *Etude de la bioaccumulation des métaux traces chez le rouget de vase (Mullus barbatus Linnaeus, 1758) de la côte algérienne.* Mémoire d'ingénieur. Environnement. Alger : ENSSMAL, 71 p.

AMIARD, J-C., AMIARD-TRIQUET, C. (2008). *Les biomarqueurs dans l'évaluation écologique du milieu aquatique.* Paris : Lavoisier. 372 p.

BARILLET, S. (2007). *Toxicocinétique, Thèse de doctorat : Toxicologie environnementale.* Lorraine : université Paul Verlaine de Metz, 457 p.

BARON, J. (1985). *Les Triglidés (Téléostéens, Scorpaeniformes) de la baie de Douarnenez : la reproduction de Eutrigla gurnardus, Trigla lucerna, Trigloporus lastoviza et Aspitrigla cuculus*. Paris : Laboratoire d'Ichtyologie générale et appliquée. 281 p.

BOUAZIZ, A. (2007). *La sardinelle ( Sardinella aurita Valenciennes, 1847 ) des côtes algériennes : distribution, biologie et estimation des biomasses*. Thèse de doctorat. Océanographie. Alger : Université des sciences et de la technologie "Houari Boumediene", 135 p.

BAUCHET, E. (2006). *Réalisation d'un atlas interactif d'histologie topographique du poisson Mekada Oryzias latipes*. Thèse de doctorat. Vétérinaire. Alfort : Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 86 p.

BRUSLE, J., BRUSLE, S. (1983). La gonadogenèse des Poissons. *Reproduction Nutrition Développement.* Vol I, nº 3, p. 453-491.

CANNET, C. (2006). Artéfacts les colorations topographiques. *Revue française d'histotechnologie*, vol I, nº 1, p. 85-96.

CHOULIKA, M. (2002*). Contribution à l'étude de la biologie d'un poisson côtier le Saurel Trachurus trachurus: anatomie et histologie du tube digestif.* Mémoire de magister. Biologie et physiologie des organismes marins. Annaba : Université Badji Mokhtar, 79 p.

DJADJI, E., SYLLA, S., ATSE, B. (2010). Observations macroscopiques des gonades de deux espèces de des Mugilides. *Fiches Techniques et Documents de Vulgarisation*, vol I, nº 1, p. 34-36.

EL AMRANI, S., KELLER, J-M., DAUCA, M. (1994). Evolution du contenu nucléaire ADN et protéines des hépatocytes d'*Alytes obstetricans* au cours de la métamorphose spontanée et induite par la triiodothyronine. *Analyse cytophotométrique*, vol I, nº 1, p. 5-23.

FONTANA, A. (1969). Etude de la maturité sexuelle des sardinelles *Sardinella eba* et *Sardinella aurita* de la région de pointe-noire. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Océanogr.*, vol. VII, nº 2, p. 102-113.

GABE, M. (1968). *Techniques histologiques*. Paris : Masson. 1051 p.

GARRIC, J., PELTE, T., THYBAUD, E. (2009). L'écotoxicologie : entre recherche et applications, quelques notions introductives. *Programme piren-seine*. Vol I, nº 12,

GOURLAY-FRANCE, C., VINCENT-HUBERT, F., TUSSEAU, M., SANCHEZ, W., GEFFARD, A., LEVI, Y., OZIOL, L., THERY, S. (2011). *Le risque écotoxicologique dans le bassin de seine.* Décembre 2011, France : agence de l'eau seine Normandie. p. 27-32.

LAGADIC, L., CAQUET, T., AMIARD, JC. et *al.* (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie, aspects fondamentaux*. Paris : Masson, 356 p.

LECLERCQ-SMEKENS, M., HERIN, M. (2004). *Histologie spéciale animale : Notes théoriques.* Namur : Faculté universitaire Notre- Dame de la paix, 213 p.

MUKASIKUBWABO, V. (1990). *Contrôle de l'ovogénèse chez tilapia nilotica : effets de la température et de l'illumination nocturne. Mémoire de maîtrise*. Chicoutimi : Université du Québec, 105 p.

OUATTARA, S., FANTODJI, A. (2008). Etudes histologiques de l'évolution des ovocytes de l'anchois (Engraulis *encrasicolus*) du littoral d'Abidjan au du cycle sexuel. *Revue française d'histotechnologie,* vol I, nº 1, p. 47-57.

ROUSSELET, M., HENIN, D., JOSSET, P. (2005). Historique - Généralités – Introduction (Chapitre 1). *Pathologie générale des études médicales*. France : Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie Pathologiques, p. 1-34.

RAMADE, F. (2010). *Introduction à l'écotoxicologie : fondements et applications*. Paris : Lavoisier, 618 p.

SANCHEZ, W., BADO-NILLES, A., PORCHER, J. (2014). Biomarqueurs chez le poisson : un outil d'intérêt pour le contrôle d'enquête. *Revue internationale de l'eau,* vol I, nº 2, p. 49-54.

SLACK, J. (2004). *Biologie du développement*. Bruxelles : De Boeck. 228 p.

VENTEO, L., VELOT, E. (2010). L'importance de la fixation en histochimie. *Revue française d'histotechnologie*, vol I, nº 1, p. 25-32.

***Mise en place d'indicateurs écotoxicologiques pour la surveillance et l'évaluation de la pollution marine (indice hépatique et gonadique des poissons)***

**Résumé**

La surveillance de la qualité des écosystèmes repose en grande partie sur l'évaluation de l'impact **écotoxicologiques** des polluants grâce à des méthodes simples et fiables. Dans notre travail, nous nous sommes attachés à l'étude des indices hépatiques et gonadiques à partir de la méthode histologique qui nous permet de détecter l'altération à l'échelle microscopique et par la suite sur une échelle de population. Les résultats qu'on a obtenus durant le déroulement de notre travail ont montré des altérations sur la majorité des organes de poissons traités (le foie en particulier).

**Mots clés**

Ecotoxicologie, histologie, poisson, foie, gonades.

**Abstract**

Monitoring the quality of ecosystems is largely based on the assessment of the ecotoxicological impact of pollutants through simple and reliable methods. In our work, we focused on the study of liver and gonadal indices from the histological method that allows us to detect tampering on the microscopic scale and then on a population scale. The results achieved during the course of our work demonstrated alterations on the majority of treated fish organs (liver in particular).

**Keywords**

Ecotoxicology, histology, fish, liver, gonads.

**ملخص**

ان رصد نوعية الانظمة الإيكولوجية يستند إلى حد كبير على تقييم تأثير السمية البيئية للملوثات من خلال طرق بسيطة وموثوق بها. في عملنا، ركزنا على دراسة مؤشرات الكبد والغدد التناسلية من أسلوب النسيجي الذي يسمح لنا لكشف التلاعب على النطاق المجهري وبعد ذلك على النطاق السكاني. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أثناء عملنا تعديلات على معظم أجهزة الأسماك المعالجة (الكبد على وجه الخصوص).

**الكلمات المفتاحية**

السمية الإيكولوجية، والأنسجة، السمك، الكبد، الغدد التناسلية.