



REVUE ALGERIENNE DES SCIENCES -A

-Sciences de la Nature et de la Vie
- Sciences Techniques

ISSN : 2661-7064

<http://univ-eltarf.dz/fr/>


Evaluation du stress environnemental par l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) et le système de défense antioxydant, le glutathion (GSH) chez *Eupolybothrus nudicornis* (Gervais, 1837) dans le Nord-Est Algérien

Houd-Chaker Kahina^a*, Ben amara Amel^b, Lamia Boudechiche^c, Jean Jacques Geoffroy^d

^a Université Chadli Bendjedid, Laboratoire Agriculture et Fonctionnement Des Ecosystèmes, ElTarf, BP 73, El Tarf 36000, Algérie.

^b Université l'Arbi Tbessi, Département de biologie, Tébessa, Algérie

^c Université Chadli Bendjedid, Laboratoire d'Épidémiologie-Surveillance, Santé, Productions et Reproduction, Expérimentation et Thérapie Cellulaire des Animaux Domestiques et Sauvages, d'El Tarf, BP 73, El Tarf, 36000, Algérie

^d Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie Et Gestion de la Biodiversité 4 avenue du Petit Château 91800 Brunoy, France.

Informations	Résumé
Mots clés : Chilopode Pollution Bioindication *Correspondance : kahina_houd_chaker@yahoo.fr Reçu le 19/12/2018, Révisé 04/01/2019, Accepté le 05/01/2019.	Dans le Nord-Est algérien, en plus des variations climatiques ; la pression anthropique croissante (urbanisation, pollution industrielle) et l'activité agricole jouent un rôle critique dans sa biodiversité et son équilibre écologique. Ce présent travail a pour but d'évaluer l'effet éventuel du niveau de pollution environnementale sur l'activité spécifique d'un bio-marqueur de la neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et le système de défense antioxydant, le glutathion (GSH) chez les deux sexe d'un chilopode <i>Eupolybothrus nudicornis</i> (Gervais, 1837) et cela durant les deux saisons de reproduction (automne et printemps), dans trois zones du Nord-est algérien exposées à différents degré de perturbation anthropique soit El Tarf, zone rurale, Guelma, zone agricole et Annaba, un grand pôle industriel. La détermination de l'activité de l'AChE chez les individus de <i>E. nudicornis</i> d'El Tarf, Guelma et de Annaba échantillonnés, révèle une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE et une diminution des taux de GSH chez les individus de Annaba comparativement à ceux enregistrées à El Tarf et Guelma. Cependant, cette inhibition a été observée chez les des deux sexes tous deux en période d'activité sexuelle, cependant les mâles s'annoncent plus sensibles que les femelles à Guelma et Annaba ; alors, que pour le même sexe et site, des différences en matière de réponse des deux biomarqueurs étudiés sont observées, avec une inhibition plus marquée en automne comparativement au printemps, ceci est en rapport avec les pluies hivernales qui entraînent par lessivage les différents contaminants vers les couches les plus profondes du sol.

1. Introduction

La pédofaune est largement dominée par les Arthropodes. En conséquence, toutes modifications portant sur les populations d'Arthropodes ont des répercussions importantes sur le fonctionnement de l'écosystème du sol [6].

Ces invertébrés terrestres sont utilisés comme bioindicateurs de pollution des sols parmi ces bioindicateurs les Gastéropodes Pulmonés tel que *Helix aspersa* constituent le groupe zoologique le plus utilisé pour la biosurveillance de la qualité des sols [38]. Un indicateur biologique (ou bio-

indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un éco complexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées [11].

Cependant, un biomarqueur se définit comme changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au

moins une substance chimique à caractère polluant [51]. Classiquement ; on distingue les biomarqueurs d'exposition, témoins de la simple pénétration du polluant dans l'organisme, des biomarqueurs d'effets qui montrent que la substance a eu un effet, toxique ou non, sur une cible critique [16].

L'activité acétylcholinestérasique (AChE), qui n'entre pas dans le cadre de fonctions de détoxification, mais qui constitue la cible privilégiée de nombreux contaminants neurotoxiques et notamment les métaux lourds et dont l'inhibition constitue un excellent marqueur d'exposition aux polluants [7]. Contrairement à l'AChE, le glutathion (GSH) joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire [48]. L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress oxydatif, ces deux types de réponse dépendent de la durée du stress d'une part et de la sensibilité de l'espèce exposée d'autre part à l'induction du système de défense antioxydant peut être considéré comme une adaptation de l'organisme à un environnement pollué [23].

Ce présent travail a pour but d'évaluer l'effet éventuel du niveau de pollution environnementale terrestre liée principalement aux activités industrielles [38] et agricoles dans cette région [31], sur l'activité spécifique d'un biomarqueur de la neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et le système de défense antioxydant, le glutathion (GSH) chez les deux sexes d'*Eupolybothrus nudicornis* Gervais, 1837 (Myriapoda, Chilopoda), c'est le chilopode lithobiomorphe le plus répandu dans l'Est Algérien [34], un excellent invertébré prédateur du sol et de la litière, et qualifié aussi comme bioindicateur de la qualité des sols [19] et cela durant les deux saisons de reproduction soit le printemps et l'automne de l'année 2015.

2. Matériels et méthodes

2.1. Sites d'étude

Trois sites localisés au niveau du Nord-est de l'Algérie ont été sélectionnés pour cette étude (**Figure 1**). Les sites d'échantillonnage correspondent à des milieux ouverts avec une couverture végétale peu dense. La roche mère est constituée de grès de Numidie et les sols de couleur brunâtre voir noirâtre sont généralement profonds avec une texture argileuse renfermant en moyenne

6% d'élément grossiers [33]. Le climat est de type méditerranéen [10].

Site N°1 : la région d'Annaba est largement ouverte sur le littoral méditerranéen avec 80 km de côtes. Elle s'étend sur 1412 km². Elle est richement arrosée, les précipitations étant comprise entre 650 et 800 mm/an, la température moyenne est de 16°C. Annaba est la quatrième ville d'Algérie au plan économique. C'est une ville industrielle qui accueille deux grands complexe industriels, le premier est le complexe sidérurgique d'Arcelor Mittal et le second est le plus grand producteur d'engrais en Algérie, FERTIAL ; Le site d'échantillonnage correspond à un terrain nu localisé dans la partie Nord-est de cette région (36° 52' N, 7° 45' E).

Site N°2 : la région d'El-Tarf est limitée au Nord par la mer Méditerranée et à l'Est par la Tunisie. Elle bénéficie d'une reconnaissance internationale de par son ensemble de zones humides unique au Maghreb. Ainsi, elle est préservée par la convention RAMSAR (1970) et a été déclarée comme étant une réserve de la biosphère par l'UNESCO (1990) étant donné sa richesse en matière de biodiversité animale et végétale, à la fois terrestre et marine. Elle occupe une superficie de 3339 km². Les moyennes annuelles des précipitations et des températures sont respectivement de 910 mm et 18°C. Le site d'échantillonnage est localisé dans la partie Sud de la commune d'El-Tarf, (36° 44' N, 8° 17' E).

Site N°3 : la région de Guelma est limitée au Nord par Annaba et au Sud par Constantine et Souk Ahras. Elle est située à 290m d'altitude et se trouve distante de 537 Km de la capitale Alger. C'est une terre agricole entourée de montagnes. Sa fertilité est due à Oued Seybouse et à son grand barrage qui assure un vaste périmètre d'irrigation. Le climat est sub-humide, la pluviométrie est estimée à 450-600 mm/an et la moyenne des températures est de 17°C. Le site d'échantillonnage est localisé au nord de la wilaya de Guelma dans la commune de Nechmaya.

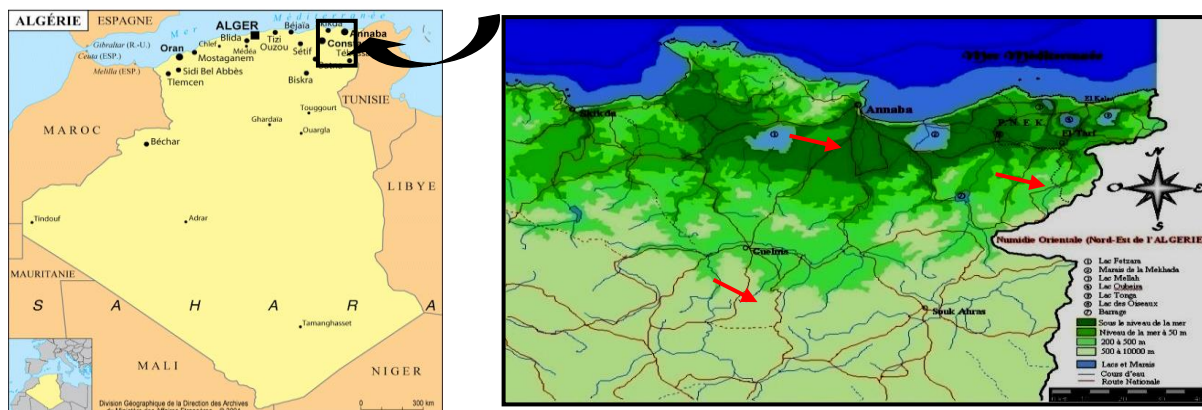


Fig.1 : Localisation géographique des sites d'étude

2.2. Récolte du matériel biologique

Les Chilopodes adultes d'*E. nudicornis* (Gervais, 1837) ont été récoltés à l'aide d'une pince souple au printemps et à l'automne de l'année 2015 (deux périodes de reproduction de l'espèce considérée), et ce, à partir des trois sites d'échantillonnages. Immédiatement et après l'anesthésie de l'arthropode avec de l'éther, la distinction sexuelle est réalisée sous une loupe binoculaire (Zeiss). L'observation est basée sur l'extrémité abdominale où se placent les appendices génitaux, chez les femelles, les gonopodes sont paires et tri-articulés portés par un sternite bien développé ; l'orifice génital chez le mâle est entouré de plaque formant le pénis [35].

Quantification de l'Acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'AChE la plus courante et celle d'Ellman et al, (1961) [25]; elle consiste à fournir à l'enzyme (AChE), un substrat artificiel, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse catalysée par l'AChE libère de la thiocholine et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique révélée grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir le DTNB (acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobensoïque) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune, le TNB (acide 5-thio-2-nitrobensoïque) qui est dosé.

L'activité spécifique de l'AChE est évaluée à partir des têtes des mâles et des femelles de l'espèce *E. nudicornis* récolté dans les trois zones. La concentration en protéines totales des différents

échantillons biologiques (homogénat) a été préalablement déterminée, par un dosage selon la technique de Bradford (1976) [12]. L'activité spécifique de l'AChE est exprimée en nMol/min/mg de protéines.

Quantification de glutathion

Le glutathion est dosé selon la méthode de Weckberker et Cory (1988) [56] qui est basée sur l'absorbance de l'acide 2-nitro5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Le taux de GSH est évalué à partir des tubes digestifs des mâles et des femelles de l'espèce *E. nudicornis* récolté dans les trois zones d'étude. Les résultats relatifs au taux de GSH sont exprimés en micromoles par milligramme de protéines.

Analyse statistique

Les résultats des deux biomarqueurs analysés ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) à trois facteurs de classification (saison/site/sexe) selon la procédure du modèle linéaire général (GLM) du logiciel SAS (2004). La différence entre les moyennes a été testée en utilisant la procédure LSMEANS. Le test de Tukey a été utilisé pour la comparaison multiple des moyennes au seuil de 5%.

3. Résultats

3.1. Variation de l'activité de l'AChE durant les deux périodes d'activité sexuelle

L'activité spécifique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) a été déterminée au cours de la période d'activité sexuelle printanière au niveau des têtes des mâles et des femelles d'*E. nudicornis* récoltés

dans les trois sites d'étude, El Tarf, Annaba et Guelma (**Tableau 1**).

Les résultats obtenus montrent une différence importante compte tenu du lieu de récolte ; cependant, le site d'Annaba qui représente un site exposé à une pollution quotidienne et intensive affiche des taux enzymatiques faibles par rapport à ceux obtenus à partir du site de Guelma et d'El Tarf, qui sont considérés comme des sites de référence vu leurs localisation lointaine des sources de pollution urbaine et industrielle. La comparaison des valeurs entre les deux sexes au sein d'un même site révèle une inhibition très significative ($p=0,007$) pour les individus d'Annaba et hautement significatives pour les individus d'El Tarf et Guelma. Les individus d'El Tarf présentent des valeurs maximales de l'ordre de $0,077 \pm 0,004$ nM/mn/mg de protéines chez les mâles et $0,101 \pm 0,002$ nM/mn/mg de protéines chez les femelles. Le site d'Annaba présente des valeurs minimales surtout chez les femelles avec $0,025 \pm 0,007$ nM/mn/mg de protéines contre des valeurs de $0,041 \pm 0,003$ nM/mn/mg de protéines chez les mâles (**Tableau 1**).

Alors que durant la deuxième saison d'activité sexuelle, le suivi de l'activité de l'AChE des têtes chez les mâles et les femelles dans les trois sites d'étude montre que le site d'Annaba affiche les valeurs les plus faibles par rapport El Tarf et Guelma. L'activité spécifique de l'AChE à Annaba est de $0,028 \pm 0,009$ nM/mn/mg de protéines chez les femelles, et de $0,102 \pm 0,004$ nM/mn/mg de protéines et $0,100 \pm 0,001$ nM/mn/mg de protéines chez les individus du même sexe à El Tarf et Guelma respectivement. Par contre chez les mâles, l'activité spécifique de l'AChE varie entre $0,043 \pm 0,003$ nM/mn/mg de protéines enregistrée à Annaba et $0,080 \pm 0,002$ nM/mn/mg de protéines au niveau du site d'El Tarf. (**Tableau 1**). L'analyse comparative des valeurs du même sexe entre les trois sites montre une inhibition significative ($p=0,000$) chez les deux sexes.

Tableau. 1 : Comparaison de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM /mn/mg de protéines)

chez les adultes mâles et femelles d'*E nudicornis* dans les trois sites d'étude récoltés au printemps et automne ($m \pm s$; $n=5$)

Sites	Printemps		Automne	
	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
El Tarf	$0,101 \pm 0,002$ Aa	$0,077 \pm 0,00$ 4Ab	$0,102 \pm 0,00$ 4Aa	$0,080 \pm 0,0$ 02Ab
Guelma	$0,099 \pm 0,002$ Aa	$0,065 \pm 0,00$ 3Bb	$0,100 \pm 0,00$ 1Ba	$0,070 \pm 0,0$ 03Bb
Annaba	$0,025 \pm 0,007$ Ba	$0,041 \pm 0,00$ 3Cb	$0,028 \pm 0,00$ 9Ca	$0,043 \pm 0,0$ 03Cb

NS: non significatif *significatif ($P<0,05$) **très significatif ($P<0,01$) ***hautement significatif ($P<0,001$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$. (Lettres majuscules pour la comparaison du même sexe entre les sites, et les lettres minuscules pour la comparaison entre les sexes du même site).

D'après l'analyse de la variance à trois critères de classification (site, sexe, saison) du tableau 2, il ressort un effet site, sexe, l'interaction site/sexe hautement significatif ($p<0,001$) avec $F(\text{site})=873,73$; $F(\text{sexe})=123,70$ et $F(\text{interaction})=146,11$. Cependant ; malgré que l'effet saison est significatif ($F=5,21$, $p=0,027$) mais les d'interactions qui incluent ce facteur sont eux non significatives ($p>0,05$). Néanmoins l'interaction site /sexe /saison n'est pas significative ($F=0,42$; $p=0,659$).

Tableau. 2 : Analyse de la variance à trois critères de classification (site, sexe, saison) de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM /mn/mg de protéines) chez *E nudicornis* ($m \pm s$; $n=5$).

Sources de variation	Degré de liberté (DDL)	Valeur de Fischer (F)	Probabilité au seuil de (%) Niveau de signification
Saison	1	5,21	0,027*
Site	2	873,73	0,000***
Sexe	1	123,70	0,000***
Saison /Site	2	0,04	0,963NS
Site/Sexe	2	146,11	0,000***
Saison /Sexe	1	0,33	0,569NS
Saison /Site /Sexe	2	0,42	0,659NS
Erreur résiduelle	48	-	-
Totale	59	-	-

NS: non significatif *significatif ($P<0,05$) **très significatif ($P<0,01$) ***hautement significatif ($P<0,001$).

3.2. Variation du taux de glutathion GSH durant les deux périodes d'activité sexuelle

Au cours de la période d'activité sexuelle printanière, les résultats obtenus montrent que les sites de références soit le site d'El Tarf et le site de Guelma affichent des taux de glutathion largement supérieurs à ceux enregistrés dans le site d'Annaba et cela quelque-soit le sexe soit une moyenne de $0,540 \pm 0,022$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les mâles contre $0,586 \pm 0,042$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les femelles (**Tableau 3**). La comparaison des moyennes enregistrées chez les mâles et les femelles durant cette période d'activité sexuelle, ne révèle aucune différence significative pour les échantillons récoltés dans les deux sites d'El Tarf et de Guelma ($p=0,385$ et $p=0,368$ respectivement); à l'exception d'une différence significative ($p=0,03$) à Annaba.

Le suivi des variations des taux de glutathion chez les deux sexes au cours de la période automnale révèle de faibles taux pour les échantillons du site industriel d'Annaba en comparaison à ceux des deux autres sites. Cependant; les moyennes les plus importantes sont enregistrées à El Tarf avec $0,912 \pm 0,033$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les femelles et $0,846 \pm 0,045$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les mâles. L'inhibition du taux de GSH est hautement significative entre les femelles dans les trois sites et entre les mâles des sites d'échantillonnage (Tableau 3). La comparaison des taux de GSH entre les deux sexes au sein d'un même site révèle une inhibition significative ($p=0,025$) pour les individus d'El Tarf, très significatives ($p=0,008$) pour les individus de Guelma, alors aucune différence ($p=0,089$) entre les deux sexes au niveau du site d'Annaba.

Tableau. 3 : Comparaison du taux du GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les adultes mâles et femelles d'*E nudicornis* dans les trois sites d'étude récoltés au printemps et en automne ($m \pm s$; $n=5$).

NS: non significatif *significatif ($P<0,05$) **très significatif ($P<0,01$) ***hautement significatif ($P<0,001$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$. (Lettres majuscules pour la comparaison du même sexe entre les sites, et les lettres minuscules pour la comparaison entre les sexes du même site).

D'après l'analyse de la variance à trois critères de classification (site, sexe, saison) du tableau 4, il ressort un effet site; un effet sexe et un effet saison hautement significative ($p<0,001$), par contre, aucune signification n'est notée par rapport à l'interaction site/sexe ($F=0,822$; $p=0,448$). Par ailleurs le facteur saison et les interactions qu'il inclut soit les interactions saison / site et saison / sexe contribuent significativement à la variation du taux du glutathion avec ($F=17,07$; $p<0,001$) et ($F=9,$

06 ; $p<0,004$) respectivement. Alors que, l'interaction site /sexe/saison n'est pas significative ($F=0,36$; $p=0,698$).

Tableau.4: Analyse de la variance à trois critères de classification (site, sexe, saison) du taux du glutathion ($\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez *E nudicornis* ($m \pm s$; $n=5$).

Sites	Printemps		Automne	
	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
El Tarf	$0,968 \pm 0,02$ 1Aa	$0,955 \pm 0,04$ 0Aa	$0,912 \pm 0,03$ 3Aa	$0,846 \pm 0,04$ 5Ab
Guelma	$0,960 \pm 0,01$ 0Ba	$0,945 \pm 0,03$ 1Ba	$0,852 \pm 0,03$ 3Ba	$0,763 \pm 0,04$ 0Bb
Annaba	$0,586 \pm 0,04$ 2Ca	$0,540 \pm 0,02$ 2Cb	$0,386 \pm 0,08$ 0Ca	$0,305 \pm 0,02$ 0Ca
Sources de variation	Degré de liberté (DDL)	Valeur de Fischer (F)	Probabilité au seuil de (%) Niveau de signification	
Saison	1	218,18	0,000***	
Site	2	846,02	0,000***	
Sexe	1	32,30	0,000***	
Saison /Site	2	17,07	0,000***	
Site/Sexe	2	0,82	0,448NS	
Saison /Sexe	1	9,06	0,004**	
Saison /Site /Sexe	2	0,36	0,698NS	
Erreur résiduelle	48	-	-	
Totale	59	-	-	

NS: non significatif *significatif ($P<0,05$) **très significatif ($P<0,01$) ***hautement significatif ($P<0,001$).

4. Discussion

Effet du stress environnemental sur l'activité de l'acétylcholinestérase

Les activités neurologiques et comportementales des animaux peuvent être extrêmement sensibles à la contamination environnementale [18]. Les mesures de l'activité de l'AChE renseignent sur l'exposition aux contaminants [29]. En effet, l'inhibition de l'AChE a été fréquemment employée en toxicologie pour diagnostiquer l'exposition aux produits chimiques anticholinestérase [27]. Par conséquent, ces troubles peuvent affecter la locomotion et l'équilibre des organismes exposés [46], qui conduisent généralement à la tétanie musculaire et à la mort de l'organisme [5].

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système nerveux central, elle est responsable de l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine en choline et acétate au niveau des synapses [24]. En effet, l'influx nerveux arrivant dans la terminaison pré-synaptique entraîne une libération d'acétylcholine qui se fixe sur des récepteurs membranaires post-synaptiques. Cette fixation permet l'ouverture des canaux sodium et potassium qui entraîne la dépolarisation de l'élément post-synaptique. L'hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE permet la fermeture des canaux associés aux récepteurs du neurotransmetteur. Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique reste continuellement excitée, ce qui conduit à l'accumulation de l'acétylcholine dans la région synaptique provoquant une hyperexcitation pouvant causer la mort de l'organisme [32].

L'AChE est un site cible d'inhibition par les organophosphorés et les carbamates qui agissent en inhibant son activité catalytique en se fixant sur le site actif de l'enzyme à la place de l'acétylcholine [32].

La détermination de l'activité de l'AChE chez les individus de *E. nudicornis* d'El Tarf, Guelma et de Annaba échantillonnés au cours des deux saisons de reproduction (printemps et automne), révèle une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE chez les individus de Annaba. Cependant, cette inhibition a été observée chez les des deux sexes mais celle-ci est plus marquée chez les mâles comparativement aux femelles à Guelma et El-Tarf. Par ailleurs, ceci s'explique par l'émission massive des polluants par les divers pôles industriels. Par contre, au niveau du site d'El-Tarf et Guelma, l'activité de l'AChE est

beaucoup plus élevée, surtout chez les femelles où l'activité ovarienne est extrême, autrement dit, il n'y a pas d'inhibition car ces sites ne sont pas exposés aux polluants et représentent de ce fait des sites de références.

De nombreux auteurs rapportent que l'activité enzymatique des organismes terrestres peut être extrêmement sensible aux variations saisonnières du milieu, ainsi que la contamination probable de l'environnement [31 ; 37]. Ceci est d'autant plus vrai que le site d'Annaba reçoit des déchets domestiques et essentiellement industriels provenant du complexe FERTIAL, spécialisé dans la production des fertilisants et des produits phytosanitaires et le complexe métallurgique d'ARCELOR Mittal d'El Hadjar [50] qui sont probablement à l'origine de l'inhibition de l'AChE enregistrée dans notre étude.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Houd-Chaker (2013) [34] sur le même lithobie et ceux de Sifi (2009) [49], et Beldi (2007) [8] ayant travaillé sur *Donax trunculus* récolté à partir du site de Sidi Salem qui se localise à proximité de notre site de récolte sur des organismes terrestres soit, *Helix aspersa* et *Helix aperta* respectivement, ; d'autres résultats confirment cette hypothèse [21;57]. Selon d'autres auteurs, une inhibition de l'AChE peut être un indicateur d'une pollution métallique [22 ; 3 ; 26 ;17 ; 9].

L'effet du cadmium sur l'activité AChE a également été testé chez d'autres espèces animales, Carageorgiou et al. (2004) [15] relatent que l'exposition à long terme (4mois) est sans effet sur l'AChE chez le rat gris. Ainsi qu'un traitement avec le cadmium à une concentration de 12.6mg/L au cours 48 heures stimulent l'activité de l'AChE dans le cerveau de *Conchionius barbatus* [28]. Néanmoins, De La Torre et al. (2000) [20] ont aussi démontré que le transfert de *Cyprinus carpio* dans une solution contaminée par le même métal à une dose (1,6 mg/L) ne présente aucun effet significatif sur l'activité de l'AChE. Néanmoins, [7], prouvent la toxicité du cadmium suite à une inhibition significative d'AChE chez le bivalve *D trunculus*.

Cependant, malgré que l'effet saison est significatif, mais les interactions qui les incluent avec les facteurs site et sexe ne le sont pas. Par ailleurs, plusieurs auteurs ont signalé l'effet de la saison et du site sur l'activité de ce biomarqueur et cela sur des organismes terrestres [34 ; 31], et aussi marins [50;

4 ; 42] les résultats de ces derniers prouvent la pollution métallique prépondérante dans la région d'Annaba (effet site) et que la concentrations des divers polluants essentiellement métalliques est en relation directe avec les saisons et les conditions climatiques principalement les précipitations hivernales [8] qui entraînent par lessivage (mouvement vertical) ou ruissèlement (mouvement horizontal) ces contaminants loin de la zone polluée.

Ce qui explique en partie l'importante activité de l'AChE durant la saison printanière comparativement à la saison automnale caractérisée par un déficit accru dans notre zone d'étude. En ce qui concerne l'effet sexe, nos résultats montrent à travers l'activité de l'AChE que les mâles sont plus sensibles, cependant, l'inhibition de l'AChE est plus importante chez les femelles provenant du site pollué d'Annaba ce qui dévoile la sensibilité de ces dernières.

Un degré de sensibilité chez les mâles vis à vis le stress environnemental a été évoqué par [30] en matière du contenu protéique gonadique chez *D trunculus*, alors que Merad et al. 2017 [42] prouvent que les Effets de l'exposition au cadmium sur les acides gras essentiels « oméga-3 » du même bivalve sont très marqués chez les femelles comparativement aux mâles dans les conditions expérimentales de l'essai. Cependant, Houd-Chaker (2013) [34] et Daas-Maamcha (2013) [19], attestent que les femelles de l'espèce *E. nudicornis* sont plus sensibles que les mâles aux effets du pesticide de troisième génération (RH-0345).

Système de défense antioxydant :

Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobies, il neutralise les réactions chimiques intermédiaires produites par voie endogène et/ou le métabolisme des xénobiotiques [58]. L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress chimique [52]; ainsi la capacité d'un organisme à s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropogénique, dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endogènes et exogènes [36].

Le glutathion est l'antioxydant non enzymatique majeur dans les cellules animales, c'est le thiol cellulaire le plus abondant, impliqué dans le métabolisme et les procédés de transport et dans la

protection des cellules contre les effets toxiques des composés endogènes et exogènes, y compris les espèces réactives de l'oxygène et les métaux lourds [1]. Les cations des métaux lourds sont caractérisés par une forte affinité pour les résidus (SH) du groupement thiol [53].

Le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense anti radicalaire par son implication dans les réactions de détoxification catalysées par la glutathion-S-transférase. En effet, Les enzymes du glutathion comprennent le glutathion peroxydase (GSH-Px) et le glutathion S-transférase (GST) qui sont impliqués dans la détoxification des réactions intermédiaires et des radicaux oxygénés [60]. Ce tri-peptide joue aussi un rôle crucial dans d'autres réactions cellulaires comprenant le système du glyoxalase, la réduction des ribonucléotides en déoxyribonucléotides, la régulation des protéines et l'expression des gènes [61]. Le glutathion existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH et une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif [23].

Nos résultats montrent, dans l'ensemble, une diminution des taux de GSH dans le site d'Annaba comparativement à ceux enregistrées à El-Tarf et Guelma ; cela est peut-être dû à une pollution chronique provenant des deux grands groupes industriels FERTIAL et ARCELOR METAL [31] qui a éventuellement affecté le système de défense antioxydant. La relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination est rapportée par Ringwood et al. (1999) [45] Plusieurs travaux confirment les résultats obtenus et aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination ; une inhibition significative est signalée par Houd-Chaker, (2013) [34] sur des échantillons de la même espèce collectés à Annaba comparativement à ceux collectés à El Tarf. une réduction du taux de GSH chez *Perna viridis* exposée aux métaux lourds est confirmée par [41] et chez la même espèce en contact avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides organochlorés [44] . Selon Canesi et Viarengo, (1997) [14], une diminution du contenu de glutathion est principalement corrélée à une diminution de l'activité de la glutamyl cystéine synthétase, cette dernière intervient dans la biosynthèse de GSH. Par ailleurs ; d'autres travaux ont démontré une synergie entre le taux de GSH et la concentration des ETM chez le Bivalve *Mytilus galloprovincialis* [43] et dans le foie de la truite arc-

en-ciel traitée avec le cadmium [2]. Wang et al, (2008) [55] suggèrent que la diminution du GSH à des concentrations plus élevées en cadmium est lié à une diminution du taux G6DP (glucose-6-phosphate dehydrogenase) et la concentration en NADPH, le manque de ce dernier est due aux fortes concentrations de cadmium qui inhibent l'activité G6DP et les cellules deviennent plus susceptibles des dommages d'oxydations, Le rôle de G6DP est la régulation du maintien du taux de NADPH et de GSH dans la cellule [59]. La G6DP, est la première enzyme de la voie des pentoses phosphate. Il est évident que la G6PD joue un rôle primordial dans la production de NADPH et de GSH lors de la défense contre un stress oxydant [59]. D'un autre côté, Canesi et al. (1999) [13] ont signalé une diminution du taux du glutathion dans la glande digestive de la moule (*Mytilus galloprovincialis*) après 3 jours d'exposition au cuivre. Selon Pathak et Khandelwal, (2006) [40] de faibles concentrations de cadmium augmentent la concentration en GSH selon le type cellulaire. De façon générale, l'augmentation de GSH permet à la cellule de mettre en place des mécanismes de défense alors qu'aux fortes concentrations du toxique, les systèmes antioxydants sont submergés et la synthèse diminue. Il a été prouvé que le Cadmium pouvait induire la transcription des gènes de la γ -glutamyl cystéine synthétase et des glutathion-S-transférases (GST- α et GST- π). La synthèse de GSH en présence de polluant métallique serait un mécanisme de protection dans lequel le métal se fixe aux groupements thiols du GSH, prévenant ainsi les dommages cellulaires [47]. Un effet sexe est aussi mis évidence dans cette étude, d'ailleurs ; Livingstone (2001) [39] explique que la déficience en GSH peut être causée soit par la contamination environnementale, soit par les facteurs saisonniers ou la ponte [54], ce qui corroborent nos résultats où des effets sexe, saison et site ont été observés.

5. Conclusion

L'activité enzymatique des deux biomarqueurs testés (l'acétylcholinestérase et le glutathion réduit) durant les deux saisons de reproduction indique des inhibitions significatives au niveau du site pollué d'Annaba avec un effet sexe marqué témoignant ici d'une perturbation prononcée liée à l'anthropisation de l'écosystème. Le chilopode *E. nudicornis* peut être utilisé dans les programmes de biosurveillance comme

bioindicateur de la qualité des écosystèmes terrestres.

Référence :

- [1] Adam, V., Petrová, J., Potěšil, D., Zehnálek, J., Sures, B., Trnková, L., Jelen, F and Kizek, R. (2005) Study of llothionein modified electrode surface behaviour in the presence of heavy metal ions-biosensor. *Electroanalysis*, 17: 1649 - 1657.
- [2] Aït-Aïssa, S., Palluel, O and Porcher, J.M. (2003). Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INERIS, rapport final DRC 00-102.49 pp.
- [3] Amiard-Triquet, C., Altamann, S., Amiard J.C., Ballan-Dufvancais, C., Baumard P., Budzinski H., Crouzet C., Guarigue J.P., His, E., Jeautet, A.Y., Menasira, R., Mouneyrac, C., Narboume, J.F and Pavillon, J.F. (1998) Fate and effects of micropolluants in the Gironde estuary, France : a multidisciplinary approach. *Hydrobiol.*, 374: 259-279.
- [4] Amira, A., Meradi, I., Alimeida, C.M.R., Laura Guimaraes, L. and Soltani, N. (2018). Seasonal variation in biomarker responses of *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Implication of metal accumulation in sediments. *Comptes Rendus Géosciences*, 350 (4): 173-179.
- [5] Bainy, A.C.D., 2000. Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*, 191: 163-168.
- [6] Bedano, J.C., Cantú, M.P., Edmundo, E and Doucet, M. (2006) Soil springtails (Hexapoda: Collembola), symphylans and pauropods (Arthropoda: Myriapoda) under different management systems in agroecosystems of the subhumid Pampa (Argentina). *Eur. J. Soil. Biol.*, 42: 107-119.
- [7] Belabed, S., and Soltani, N (2013) Acute toxicity of cadmium on *Donax trunculus*: acetylcholinesterase, glutathione S-transferase activities and pattern of recovery. *Europ Jou of Exper Biol*, 3(2):54-61.
- [8] Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R. and Soltani N. (2006) Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 1 (3): 85-90
- [9] Benradia, H., Berghiche, H. and Soltani N. (2016) Measure of environmental stress biomarkers in the shrimp *Palaemonetes pugio* from the Mellah lagoon (Algeria): spatial and temporal variations. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25 (7): 2563-2566.
- [10] Benyacoub, S., Chabi, Y. (2000) Diagnostique écologique de l'avifaune du parc national d'El Kala. *Synthèse Sci. Technol.* 7 : 1-98.
- [11] Blandin, P. (1986) Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Eco.*, 17(4) : 215-307. Paris.
- [12] Bradford, M.M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the Principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:278-284.

- [13] Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M. and Gallo, G. (1999) Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquat. Toxicol.*, 46: 67-76.
- [14] Canesi, L. and Viarengo, A. (1997) Age-related differences in glutathione metabolism in mussel tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 116, 217-221.
- [15] Carageorgiou, H., Tzotzes, V., Pantos, C., Mourouzis, C., Zarros, A., & Tsakiris, S., 2004. In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na⁺, K⁺)-ATPase and Mg²⁺-ATPase activities: protection by L-cysteine. *Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 94: 112-118.
- [16] Coeurdassier, M. (2001) Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa*) et aquatiques (*Lymnaea stagnalis* et *Lymnaea palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques. Thèse de doctorat, Université de Franche comté, France. 281p.
- [17] Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufléury, A., Ribera, D. and Badot, P.M. (2002) The garden snail (*Helix aspersa*) as bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterase activity. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 20: 1951-1957.
- [18] Costa, L., 1996. Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigation. *Environ. Health. Perspect.*, 104: 55-67.
- [19] Daas-Maamcha, O., Houd-Chaker, K., Soucha, M., Daas, T., and Scaps, P. (2013) Effects of an Ecdysteroid Analog (RH-0345) on the Ovarian and Testicular Components of *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda: Chilopoda). *Jord Jour of Biol Sci.* Vol 6, (2): 91-98.
- [20] De La Torre, F.R., Salibian, A., Ferrari, L. (2000). Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environ. Poll.*, 109: 277-282.
- [21] Dellali, M., Roméo, M., Gnassia-Barelli, D. and Aissa, P. (2004) A multivariate data analysis of the clam *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130 C: 227-235.
- [22] Devi, M. and Fingerman, M. (1995) Inhibition of acetylcholinesterase activity in the central nervous system of the red Swamp crayfish, *Procambarus clarkii* by mercury, cadmium and lead. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 55: 746-750.
- [23] Droge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82: 47-95.
- [24] Eldafrawi, A.T. (1985). Acetylcholinesterase and anticholinesterase. In: Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I. (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. New York, Pergamon press, 12: 115-130.
- [25] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. (1961) *Pharm.*, 7: 88-95.
- [26] Ferrer, L., Andrade, S., Asteasuain, R., & Marcovecchio, J. (2005) Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahia Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 65(2): 209-217.
- [27] Fossi, M.C., Minutoli, R. & Guglielmo, L. (2001) Preliminary results of biomarker responses in zooplankton of brackish environments. *Mar. Poll. Bull.*, 42: 745-748.
- [28] Gill, T.S., Tewari, H., & Pande, J. (1991) In vivo and in vitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the *Wsh Barbus conchoni* Ham. (rosy barb). *Comparative Biochemistry and Physiology Part, C* 100, 371-384.
- [29] Grue, C.E., Guilbert P.L. & Seeley, M.E. (1997) Neurophysiological and behavioural changes in non-target wildlife exposed to organophosphate and carbamate pesticide: thermoregulation, food consumption and reproduction. *Ann. Zool.*, 37: 369-388.
- [30] Hamdani, A., Soltani-Mazouni, N., and Soltani N. (2014) Quantitative and qualitative analysis of proteins in gonads of *Donax trunculus* from the Annaba Bay: effects of site, season and sex. *Advances in Environmental Biology*, 8(13): 740-749.
- [31] Hamdi-Ourfella, A.N. Soltani, N. (2014) Qualité des sols dans deux sites du Nord-Est Algérien: utilisation d'une espèce bioindicatrice de la pollution des sols. *Journal of Materials and Environmental Science* 5 (S2): 2527-2533.
- [32] Haubruge, E. and Amichot, M. (1998) Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2(3): 161-174.
- [33] Houd-Chaker K., Daas-Maamcha O., Daas T., Benamara A. and Scaps P. (2012) Distribution spatio-temporelle des Myriapodes dans un site anthropisé et un site naturel du Nord-Est de l'Algérie. *Rev. Écol. (Terre Vie)*, 67: 83-99.
- [34] Houd-Chaker, K. (2013) Etude écotoxicologique des Myriapodes dans le Nord-Est algérien (Biodiversité, toxicité d'un régulateur de croissance des insectes et bioaccumulation des métaux lourds en période de reproduction) chez *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda, Chilopoda). Thèse de doctorat en Agronomie, Université d'El Tarf, 245 p.
- [35] Iorio, E. (2002) Sexe des Lithobiomorphes. *Le Bulletin de Phyllie*, 13: 34-40.
- [36] Jakanovic, M. (2001) Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicol.*, 166: 139-160.
- [37] Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., & Ramade, F. (1997) Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Masson (Eds.). Paris: 1-9.
- [38] Larba, R., Soltani N. (2014). Use of the land snail *Helix aspersa* for monitoring heavy metal soil contamination in Northeast Algeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186 (8): 4987-4995.
- [39] Livingstone, D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut Bull.*, 42: 656-666.

- [40] Pathak, N and Khandelwal, S. (2006) Influence of cadmium on murine thymocytes: potentiation of apoptosis and oxidative stress. *Toxicology letters*, 165: 121-32.
- [41] Prakash, N.T and Rao, K. S. (1995) Modulations in antioxidant enzymes in different tissues of marine bivalve *Perna viridis* during heavy metal exposure. *Mol Cell Biochem.*, 146: 107-13.
- [42] Merad, I., Bellenger, S., Hichami, A., Khan, N.A. and Soltani, N., 2017. Effect of cadmium exposure on essential omega 3 fatty acids in the edible bivalve *Donax trunculus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (19): 18242–18250.
- [43] Regoli, F., & Principato, G. (1995) Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquat. Toxicol*, 31: 143-164.
- [44] Richardson, B.J., Mak, E., De Luca-Abbott, S.B., Martin, M., McClellan, K and Lam, P. K. (2008) Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): do mussels "integrate" biomarker responses. *Mar Pollut Bull.*, 57: 503-14.
- [45] Ringwood, A.H., Connors, D.E., Keppler, C.J and Dinovo, A.A. (1999) Biomarkers studies with juvenile oysters (*Crassostrea virginica*) deployed in situ. *Biomarkers*, 4: 400-414.
- [46] Saglio, P., Trijasse, S. & Azam, D. (1996) Behavioural effects of water-born carbofuron in goldfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 31: 232-238.
- [47] Shukla, G.S., Shukla, A., Potts, R. J., Osier, M., Hart, B.A and Chiu, J.F. (2000) Cadmium-mediated oxidative stress in alveolar epithelial cells induces the expression of gamma-glutamylcysteine synthetase catalytic subunit and glutathione S-transferase alpha and pi isoforms: potential role of activator protein-1. *Cell biology and toxicol*, 16: 347- 62.
- [48] Sies, H. (1999) Glutathione and its role in cellular functions. *Free Rad Biol Med.*, 27: 916-921.
- [49] Sifi, K. (2009) Biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba : Croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* (Mollusque, Bivalve). Thèse de Doctorat. Département de Biologie. Université d'Annaba. 229p.
- [50] Sifi, K., Soltani, N. (2019) Seasonal changes of two biomarkers of oxidative stress (LDH, MDA) in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca: Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria): correlation with carbohydrate and lipid contents. *Molluscan Research*, 39 (1): 44-52.
- [51] Van der Oost, R., Beyer, J and Vermeulen, N.P.E. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol.*, 13: 57-149.
- [52] Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F and Guilhermino, L. (2001) Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of Chlorpyrifos and Dichlorvos to *Artemiasalina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*, 48:563-569.
- [53] Viarengo, A. (1994) Heavy metal cytotoxicity in marine organisms: effects on Ca²⁺ homeostasis and possible alteration of signal transduction pathways. *Adv. Comp. Environ. Physiol.*, 20: 85–110.
- [54] Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, M., Moore, M.N and Orunesu, M. (1991) Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis*. *Am. Comp. Biochem. Physiol.*, C79: 37- 42.
- [55] Wang, L., Yan, B., Liu, N., Li, Y and Wang, Q. (2008). Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere*, 12: 309-315.
- [56] Weckberker, G and Cory, G. (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40: 257-264.
- [57] Wendi, J.D., Cope, W.G., Rada, R.G and Sandheinrich, M.B. (2001) Acetylcholinesterase inhibition in the threeridge Mussel (*Ambuema plicata*) by chlorpyrifos: implication for monitoring. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 49 : 91-98.
- [58] Winston, G.W and Di Giulio, R.T. (1991) Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol*, 19:137-161.
- [59] Winzer, K., Becker, W., Van Noorden, C.J.F and Köhler, A. (2001) Quantitative cytochemical analysis of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in living isolated hepatocytes of European flounder for rapid analysis of xenobiotic effects. *J. Histochem. Cytochem.*, 49:1025–1032.
- [60] Yu, B. P. (1994) Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* 74:139-162.
- [61] Zehnález, J., Vacek, J., Kizek, R. (2004) Application of higher plants in phytoremediation of heavy metals. *Lis. Cukrov. Reparske*, 120: 220–221.