

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



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

D'ingénieur en Sciences de la Mer

Option: Biotechnologie Marine

Thème:

Contribution à l'étude écotoxicologique chez *Mytilus galloprovincialis* dans le littoral algérien

Réalisé par:

BOUHAMDANI Inès

CHERIF Siham

Soutenu le 02 Juillet 2025 devant le jury composé de:

Mme **MAHDID S** Présidente

Mme **AMAR I** Encadrante

Mme **ALOUACHE S** Examinatrice

Année universitaire : 2024-2025

REMERCIEMENT

Avant toute chose, nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance à toutes les personnes qui nous ont soutenues et accompagnées durant la réalisation de ce travail. Leur aide précieuse, leurs encouragements et leur bienveillance ont été essentiels dans l'aboutissement de ce mémoire.

Nous adressons nos remerciements les plus chaleureux à Madame **AMAR Imen**, notre encadrante, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de superviser ce projet. Sa disponibilité constante, son professionnalisme exemplaire, ainsi que la pertinence de ses conseils scientifiques ont été des atouts majeurs dans la conduite de cette étude. Son encadrement rigoureux, sa pédagogie, sa patience et sa bienveillance nous ont offert un cadre de travail stimulant, structurant et propice à l'apprentissage. Nous lui exprimons toute notre gratitude pour sa confiance, son soutien indéfectible et son investissement à nos côtés.

Nous remercions également **les membres du jury**, Madame **MEHDID Sonia**, présidente du jury, et Madame **ALOUACHE Souhila**, examinatrice, pour l'attention qu'elles ont portée à notre travail, ainsi que pour leurs remarques constructives et enrichissantes.

Nous tenons également à remercier chaleureusement Monsieur **Yacine**, ingénieur de laboratoire, pour son assistance technique, sa réactivité et la qualité de son accompagnement tout au long des manipulations expérimentales. Ses conseils pratiques et sa maîtrise des protocoles nous ont grandement facilité le travail en laboratoire.

Nous exprimons aussi notre profonde gratitude à Madame **Houda**, ingénieure de laboratoire, pour son aide précieuse, ses conseils avisés et sa disponibilité, qui nous ont été d'un grand soutien au cours de notre travail expérimental.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des **enseignants du département de ressources vivantes** pour la richesse de leur enseignement et l'accompagnement qu'ils nous ont offerts durant notre formation universitaire. Nous exprimons aussi notre profonde reconnaissance envers **le personnel de la bibliothèque**, pour leur disponibilité, leur professionnalisme et leur soutien documentaire, qui ont grandement facilité nos recherches et contribué à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous remercions tous ceux et celles, de près ou de loin, qui ont participé à la réussite de ce projet. Leur contribution, qu'elle soit scientifique, matérielle ou morale, a été pour nous d'un grand réconfort.

DEDICACES

Ines :

« Derrière chaque réussite, il y a des cœurs qui ont aimé en silence, des mains qui ont soutenu sans relâche, et des âmes qui ont espéré avec force. »

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont accompagné ce parcours par leur amour, leur soutien, leur patience et leur bienveillance.

À **ma mère**, femme admirable et profondément forte, qui s'est battue pour moi avec un courage inébranlable et a fait d'innombrables sacrifices dans l'ombre. Tout ce que je suis aujourd'hui, je le lui dois.

À l'homme que je considère comme **mon père**, le Mari de ma mère, qui a su me donner l'amour, la sécurité et le respect qu'un véritable père offre. Son soutien discret mais constant a été pour moi une force précieuse.

À mon frère **Hichem**, dont la simple présence a illuminé mon quotidien, et dont l'affection m'a accompagnée dans les moments les plus décisifs.

À **ma grand-mère**, que je garde au plus profond de mon cœur... J'aurais tant voulu te voir fière de moi le jour de ma soutenance. Ton amour, ta confiance et tes prières m'ont portée bien au-delà de ton absence.

À mes tantes bien-aimées : **Samira, Wahiba, Sabah, Malika et Houria**, pour leur tendresse maternelle, leur soutien constant et leur présence réconfortante.

À **Farida**, celle que j'appelle ma deuxième maman, épouse de mon père biologique, pour sa douceur, sa générosité et l'amour sincère qu'elle m'a toujours offert sans conditions.

À mes cousines chéries: **Dounia, Wissem, Houda, Zakia, Sabrina, Anfel, Nadia**... et à toutes mes cousines, même celles que je n'ai pas pu citer (désolée, vous êtes tellement nombreuses macha'Allah), vous avez été bien plus que de simples parentes : de véritables sœurs de cœur. Merci pour vos rires, vos mots doux, votre présence et votre amour inconditionnel qui m'ont tant apportée.

À toute ma famille, et plus particulièrement aux familles **Ghecil** et **Khelfane**, pour leur présence précieuse et leur affection indéfectible.

À ma chère binôme, **Chérif Siham**, pour son sérieux, sa collaboration exemplaire, et surtout pour l'énergie positive qu'elle a su m'apporter à chaque étape de ce travail.

À mes copines formidables : **Habiba, Ismahane, Maroua, Amina, Bouchra, Loubna, Ibtihel, et Maria**... Merci pour votre amitié sincère, vos encouragements et votre soutien fidèle, qui ont fait toute la différence.

Et enfin, à toute la **promotion de Biotechnologie Marine**, pour ces années de partage, de travail acharné, de rires, et de souvenirs inoubliables.

DEDICACES

Siham :

À ceux qui ont veillé sur ma traversée, entre vents contraires et marées douces.

À ma mère, **Ghania**,

La femme de ma vie, mon pilier, mon héroïne. Merci d'avoir toujours été à mes côtés, de m'avoir soutenue sans relâche, de m'avoir encouragée, crue en moi, et aimée inconditionnellement. Tu as joué tous les rôles à la fois : maman, sœur, amie, et père. Tu es d'une force incroyable, et tout ce que je suis aujourd'hui, je te le dois.

À la mémoire de mon père, **Hassen**,

Ton départ, dès ma première année universitaire, a laissé un vide immense. Tu ne peux imaginer ce que j'ai traversé sans toi. J'ai tant souffert, mais j'ai tenu bon, pour toi. J'espère du fond du cœur que tu es fier de moi là où tu es. J'aurais tant voulu te voir à ma soutenance, croiser ton regard rempli de fierté, ressentir ton amour et ton soutien.

À ma grand-mère, **ma mamie chérie**,

Merci pour ton amour infini, tes prières sincères et ta fierté qui m'a toujours portée. Que Dieu te protège et me donne la force de te rendre encore plus fière.

À mes sœurs, **Soumia et Hanane**, merci pour votre présence constante, votre tendresse, votre force. Vous avez été mes sœurs, mes amies, mes alliées. Votre soutien a été précieux.

À mon frère, **Ilyes**, mon bras droit, mon confident, mon petit garçon devenu un jeune homme fort. Malgré les épreuves, tu as grandi avec sagesse et courage. Tu es une âme pure, gentille, et compréhensive. Je suis si fière de toi.

À **Badis et Hassen**, mes petits trésors, vos rires et votre malice remplissent ma vie de bonheur.

Merci pour toute la joie que vous m'apportez chaque jour.

À **mes oncles et tantes**, merci pour vos prières, vos mots d'encouragement, et votre bienveillance constante.

À mes cousines, **Rania, Imane et Maria**, vous êtes bien plus que des cousines, vous êtes comme des sœurs pour moi. Merci pour votre amour et votre complicité.

À ma binôme et amie, **Inès Bouhamdani**, collaborer avec toi depuis la première année fut l'une de mes meilleures décisions. Ton sérieux, ta générosité, ton intelligence et ta bienveillance ont fait de toi une partenaire exceptionnelle, mais surtout une véritable amie.

À mes amies précieuses : **Aya, Bouchra, Myra, Lobna, Roa, Ibtihel, Chiraz et Ibtissem**, merci pour tous les moments partagés, les rires, les larmes, les hauts et les bas. Merci pour votre soutien sans faille, pour votre amour sincère et votre présence inestimable.

SOMMAIRE :

ABREVIATIONS	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES TABLEAUX.....	III
INTRODUCTION GÉNÉRALE:	1
CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. Introduction générale à l'écotoxicologie marine	4
1.1. Définition de l'ecotoxicologie:	4
1.2. Importance de l'étude des contaminants dans les écosystèmes marins	4
2. Principaux contaminants chimiques des écosystèmes méditerranéens	5
2.1. Les métaux lourds	5
2.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (haps).....	6
2.3. Les pesticides et les détergents	7
2.4. Les contaminants émergents	7
3. Impact de ces polluants sur les organismes aquatiques	8
3.1. Le stress oxydatif.....	8
3.2. Les effets neurotoxiques.....	8
3.3. La genotoxicité.....	8
4. État actuel de la pollution marine en Algérie	8
5. La biosurveillance marine	9
5.1. Définition de la biosurveillance marine	9
5.2. Réglementation initiale de surveillance	10
5.3. Zones les plus touchées.....	10
6. Approche basée sur les biomarqueurs	10
6.1. Définition et rôle des biomarqueurs	10
5.2. Catégories et critères des biomarqueurs	12
6.2.1. Catégories :.....	12

6.2.2.	Criteres de qualification.....	12
6.3.	Types de biomarqueurs.....	13
7.	Le stress oxydatif.....	14
7.1.	Les especesreactives de l'oxygenes (ERO).....	14
7.2.	Definition du stress oxydatif	15
7.3.	L'impact du stress oxydatif au niveau cellulaire.....	16
8.	La catalase :	17
9.	Mytilusgalloprovincialis comme organisme bio-indicateur	17
9.1.	Choix de l'espece	17
9.2.	Presentationgenerale de l'espece.....	19
8.3.	Classification taxonomique	20
9.4.	Anatomie de la moule.....	21
9.5.	Physiologie de la moule	22
9.5.1.	Mode respiratoire :.....	22
9.5.2.	Cycle biologique	22
9.6.	Alimentation	23
9.7.	Ecologie.....	24
9.8.	Importance ecologique et economique.....	24
Chapitre II : MATERIEL et méthodes.....		27
1.	Zone d'echantillonnage et origine des echantillons.....	27
2.	Preparation des echantillons	28
3.	Tri et conservation des echantillons.....	28
4.	Mesures biometriques.....	28
5.	Étude de la croissance	31
5.1.	Distribution des frequences de taille.....	31
5.2.	Etude de la croissance relative.....	31
6.	Indice de condition	32

7. Etude de l'activite catalase	32
7.1. Preparation de la fraction S9	33
7.1.1. Preparation de la solution tampon phosphate (ph 7.4)	33
8. Dosage des proteines totales par la methode de kjeldahl	34
8.1. Mineralisation.....	34
8.2. Distillation.....	35
8.3. Titrage.....	36
9. Dosage de l'activite catalase	36
Chapitre III. Resultats ET discussions	40
1. Etude de croissance	40
1.1. Distribution de fréquence de taille.....	40
2. Indice de condition	41
3. Biomarqueur du stress oxydatifs	44
3.1. Dosage des protéines (kjedhal).....	44
3.1.1. Minéralisation	44
3.1.2. Distillation	45
3.1.3. Titrage	46
4. Dosage de l'activité catalase	46
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

ABREVIATIONS

HAP/ HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
POP	Polluants Organiques Persistants
OC	Organochlorés
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
ROCCH	Réseau d'Observation de la Contamination Chimique du Littoral
AChE	Acétylcholinestérase
Cs	Carboxylestérases
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
ROS	Reactive Oxygen Species (équivalent anglais de ERO)
SOD	Superoxyde dismutase
GPx	Glutathion peroxydase
CAT	Catalase
S9	Fraction post-mitochondriale
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
DO	Densité Optique
ε	Coefficient d'extinction molaire
b	Coefficient d'allométrie
R²	Coefficient de détermination
Pt	Poids total de la moule
Ph	Poids de la chair
L	Longueur de la moule

H	Hauteur (largeur dans le texte)
E	Épaisseur
IC	Indice de condition
Ve	Volume équivalent (au titrage)
V	Volume de l'échantillon
NaOH	Hydroxyde de sodium
Cd	Cadmium
Pb	Plomb
Hg	Mercure
Cu	Cuivre
Zn	Zinc
As	Arsenic
BNB	Baseline National Budget
PAM	Plan d'Action pour la Méditerranée
PNUE	Programme des Nations Unies pour l'Environnement

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : repartition des concentrations des metaux traces (pb, cd et hg) au niveau du sediment et des tissus de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> sur les cotes mediterraneennes. (Kamel, n. 2014).....	6
Figure 2: Diagramme illustrant les differentes approches liées à l'évaluation de la qualité environnementale (adams, 2002).	11
Figure 3: Relation entre les principales catégories de polluants et les biomarqueurs classiques (narbonne & michel, 1992).....	12
Figure 4: Diagramme explicatif des sources entrainant une augmentation des espèces réactives de l'oxygène dans la cellule et les dommages cellulaires associés et intervention du système antioxydant (kamel, 2014)	15
Figure 5: deterioration de la cellule par le stress oxydatif (charrade, 2016)	16
Figure 6: Qualités de bioindicateur <i>Mytilus galloprovincialis</i> (d'après Butler et al. 1971; Rainbow et al. 2004 et Goldberg., 1975).....	19
Figure 7: <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Grove, S. J., & de little, r. 2020).....	20
Figure 8: Anatomie interne de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (dominique, 2021).....	22
Figure 9: Cycle biologique des moules (jahangard et al. 2010 et ventura et al. 2016).	23
Figure 10: des moules nettoyyées.	28
Figure 11: mesure de la longueur (L)	29
Figure 12: mesure de la largeur (E).....	29
Figure 13: mesure de l'épaisseur (H)	29
Figure 14: mesure du poids total de la moule (Pt)	30
Figure 15: mesure du poids de la chair (Ph)	30
Figure 16: preparation de la fraction S9	33
Figure 17: minéralisation	35
Figure 18: distillation	35
Figure 19: Histogramme de distribution des frequences de tailles de <i>Mytilus galloprovincialis</i> (moule du marché).....	40
Figure 20: Regression entre la taille et le poids total chez la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (moules du marché)	41
Figure 21: Histogramme des pourcentages des categories de l'indice de condition du lot de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (moule du marché)	42

Figure 22: Histogramme des pourcentages des categories de l'indice de condition du lot de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Latreche, H 2020)	43
Figure 23: virement de couleur en vert transparent dans la partie mineralisation	44
Figure 24: changement de couleur au niveau de la distillation.....	45

LISTE DES TABLEAUX

Table 1: Categories principales des biomarqueurs (Amiard et al. 2008).....	12
Table 2: Types des biomarqueurs.....	13
Table 3: taxonomie de la moule dans la regne animal (Martigues, 2020).....	20
Table 4: Resultats du suivi de l'activite cat en presence du peroxyde d'hydrogene (H2O2) durant 3 min.	46
Table 5: Comparaison de la valeur de l'activite cat chez <i>Mytilus galloprovincialis</i> dans differentes conditions experimentales et environnementales	47

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE:

L'augmentation de l'industrialisation, l'urbanisation croissante des régions côtières et le déversement non contrôlé de polluants provenant des activités humaines ont entraîné la détérioration des écosystèmes marins. Cette situation se manifeste par l'accumulation progressive de substances toxiques - appelées xénobiotiques - dans les eaux côtières, mettant en péril non seulement la biodiversité marine, mais aussi la sécurité alimentaire et la santé des individus (Mejdouba et al., 2017).

La pollution marine, notamment dans les zones partiellement closes comme la mer Méditerranée, a divers effets nocifs : altération de la qualité de l'eau, perturbation des cycles biologiques, dommages aux tissus et organes des espèces marines, diminution des taux de reproduction, voire extinction locale de populations spécifiques (Bolognesi et al., 2004 ; Kourdali et al., 2020 ; Roméo et al., 2005). Ces conséquences inquiétantes nécessitent une évaluation approfondie à l'aide d'outils scientifiques fiables.

L'écotoxicologie marine est une branche scientifique qui combine la toxicologie, l'écologie et la chimie environnementale pour étudier l'impact des contaminants sur les organismes vivants et les écosystèmes. (Peters et al., 1997 ; Cécile, 2011). Pour cela, des organismes bio-indicateurs et des biomarqueurs sont utilisés pour détecter, mesurer et interpréter les effets de la pollution.

Les moules du genre *Mytilus*, en raison de leur mode de vie filtrant et de leur capacité à accumuler les polluants, sont couramment utilisées comme modèles biologiques en écotoxicologie. (Yusof et al. 2004 ; Bolognesi et al., 2004) Leur utilisation permet une évaluation rapide de la présence et de la toxicité des polluants dans les milieux marins.

Des programmes de surveillance environnementale à grande échelle, comme le Mussel Watch aux États-Unis et le RNO en France, emploient les moules comme bioindicateurs pour surveiller la qualité des écosystèmes marins. Les biomarqueurs, qui sont des indicateurs biologiques mesurables dans les tissus des organismes, sont utilisés pour révéler l'exposition à un contaminant et ses effets biologiques associés. (Galloway et al., 2006 ; Garric et al., 2010).

Parmi les différents biomarqueurs, le stress oxydatif est un signal important qui peut indiquer une exposition précoce à divers polluants tels que les métaux lourds, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou les pesticides. Ce stress résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres d'oxygène (ROS) et les mécanismes de défense antioxydants de

Introduction générale

l'organisme. La catalase (CAT) est l'un des enzymes les plus étudiés dans ce domaine car elle est essentielle pour décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs (Galloway & Handy, 2006).

Notre étude porte sur l'évaluation de l'activité de la catalase en tant que biomarqueur du stress oxydatif chez la moule *Mytilus galloprovincialis*. Les individus analysés ont été achetés au marché de la Pêche de la Baie d'Alger, où les produits de la mer de la baie algéroise sont vendus directement. Cette approche présente deux avantages :

D'un point de vue scientifique, elle permet d'analyser la réponse biologique des moules face à une éventuelle exposition à la pollution ;

D'un point de vue sanitaire, elle permet d'estimer indirectement la qualité des produits de la mer destinée à la consommation humaine.

L'objectif de notre recherche est donc de mesurer l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans la fraction S9 de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*, et d'interpréter les résultats obtenus en lien avec une éventuelle exposition à des agents oxydants présents dans l'environnement marin.

Ce mémoire est divisé en quatre parties principales :

- Tout d'abord, une revue bibliographique sur les bases de l'écotoxicologie, les effets du stress oxydatif, ainsi que le rôle des biomarqueurs chez les bivalves ;
- Ensuite, une description détaillée du protocole expérimental utilisé pour mesurer la catalase ;
- Puis, la présentation des résultats obtenus avec une analyse statistique et une interprétation biologique ;
- Enfin, une conclusion générale récapitulant les principales conclusions de l'étude et suggérant des pistes pour de futurs travaux, comme l'exploration d'autres biomarqueurs ou zones géographiques.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**1. Introduction générale à l'écotoxicologie marine****1.1. Définition de l'écotoxicologie:**

Avant les années 1970, l'écotoxicologie n'était pas encore reconnue comme une discipline scientifique distincte (Pelletier et Campbell, 2008). Face aux défis croissants posés par la pollution et ses impacts sur les écosystèmes, les chercheurs ont commencé à s'interroger sur les risques associés et les mécanismes de défense naturels des organismes face au stress chimique (Steinberg et Ade, 2005). Ils ont cherché à comprendre comment définir ces contraintes dans un système dynamique et pourquoi les organismes développent de tels systèmes de protection.

L'écotoxicologie s'est ainsi développée à l'interface de la toxicologie, de l'écologie et de la chimie de l'environnement. Cette discipline étudie les effets nocifs des substances chimiques, qu'elles soient naturelles ou synthétiques, sur les organismes vivants dans leur milieu naturel. Elle prend en compte non seulement les interactions biologiques, mais aussi les transferts de matière et d'énergie ainsi que les dynamiques des populations et des communautés biologiques (Lagadic et al., 1997).

Cette approche dépasse le cadre de la toxicologie classique, centrée sur l'individu, en intégrant des niveaux d'analyse plus larges, allant des réponses cellulaires jusqu'à l'échelle des écosystèmes. Elle permet ainsi une compréhension globale des perturbations environnementales et de leurs conséquences (Newman, 2010)

1.2. Importance de l'étude des contaminants dans les écosystèmes marins

La pollution marine, définie comme l'introduction de substances ou d'énergie dans les milieux marins entraînant des effets néfastes sur les ressources biologiques, la santé humaine et les activités maritimes, provient majoritairement de sources terrestres, via le ruissellement et les dépôts atmosphériques (Beiras, 2018 ; Goeury, 2014). Les zones côtières sont particulièrement exposées à cette pollution liée aux activités humaines telles que les rejets industriels, le trafic maritime ou l'agriculture, qui introduisent divers contaminants chimiques (métaux lourds, hydrocarbures, pesticides, plastifiants, etc.) souvent persistants dans l'environnement (Michel, 2011).

Ces polluants s'accumulent dans les sédiments et les organismes marins, provoquant des effets toxiques chroniques même à faibles doses. Par exemple, les bivalves comme *Mytilus galloprovincialis* filtrent l'eau et concentrent ces substances dans leurs tissus, ce qui en fait des bioindicateurs précieux (Bodin et al., 2004). L'exposition répétée à ces contaminants peut perturber la physiologie, la reproduction et la croissance des organismes marins, avec des conséquences sur la biodiversité et la sécurité alimentaire liée à la consommation de produits de la mer (Naouel, 2014 ; Benali et al., 2015).

Ainsi, étudier ces contaminants est essentiel pour mieux comprendre leurs impacts, protéger les écosystèmes marins et assurer la pérennité des services qu'ils fournissent.

2. Principaux contaminants chimiques des écosystèmes méditerranéens

Les écosystèmes côtiers algériens, à l'image de l'ensemble du bassin méditerranéen, sont fortement exposés à divers types de contaminants chimiques issus des activités humaines. Cette pollution est particulièrement préoccupante dans les zones urbanisées, industrielles ou portuaires, où les rejets non traités ou partiellement épurés se déversent directement en mer.

Parmi les polluants les plus fréquemment détectés, on distingue plusieurs grandes familles :

2.1. Les métaux lourds

D'après une étude du Plan d'Action pour la Méditerranée (PAM), les métaux lourds comme le fer, nickel, plomb, cuivre, chrome et zinc pénètrent dans l'environnement marin via le ruissellement pluvial, les retombées atmosphériques, les rejets des réseaux d'égouts et des industries. Cette étude s'est appuyée sur les données de MED POL et des recherches récentes pour analyser la présence et les évolutions des métaux lourds (plomb, mercure, cadmium, zinc et cuivre) dans les sédiments côtiers et chez des organismes bioindicateurs comme *Mytilus galloprovincialis*. **(Figure 1)**

Selon le « National Baseline Budget (BNB) », les pays méditerranéens génèrent principalement des émissions atmosphériques de métaux traces à travers l'industrie du ciment (Hg, Cu), la production d'énergie (As, Cd, Ni) et l'industrie métallurgique (Pb, Zn). On y trouve également des émissions provenant de l'industrie des engrais chimiques et de certains systèmes d'épuration des eaux usées inefficaces, qui contribuent à la présence de cadmium et de cuivre dans le milieu marin. De plus, le raffinage du pétrole est la principale source de rejets de chrome dans l'environnement (PNUE/PAM/MEDPOL, 2012).

La pollution par les métaux lourds est un grave problème environnemental dans les océans. Leur concentration excessive perturbe les fonctions biologiques des organismes marins, impactant notamment leur respiration et leur système nerveux. De plus, ils favorisent la production de radicaux libres et bloquent l'action de certaines enzymes antioxydantes, comme la glutathion réductase et la peroxydase (Sensi et Jeng, 2004; Splittgerber et Tappel, 1979).

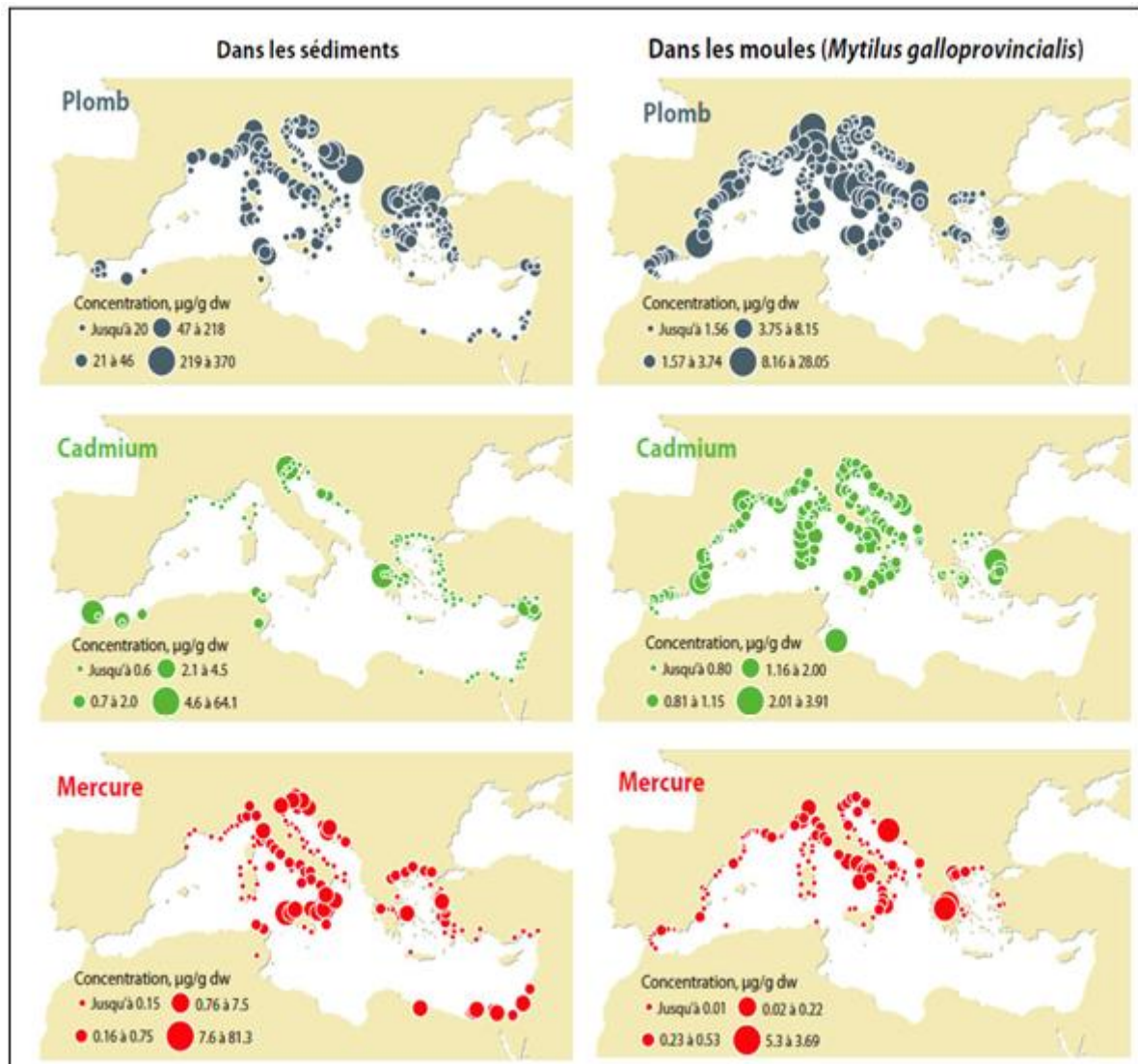


Figure 1 : Repartition des concentrations des métaux traces (pb, cd et hg) au niveau du sédiment et des tissus de la moule *Mytilus galloprovincialis* sur les côtes méditerranéennes. (Kamel, N, 2014)

2.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) sont des composés chimiques qui se forment à partir de la fusion de plusieurs anneaux aromatiques. Ils sont principalement issus de la combustion incomplète de matière organique à haute température (source pyrolytique) et des

déversements de pétrole (source pétrogénique). Certains HAPs, tels que le naphthalène, l'anthracène et le fluoranthène, sont considérés comme des polluants prioritaires en raison de leur toxicité et de leurs effets mutagènes. Des recherches menées sur des bivalves marins ont mis en évidence une corrélation entre la concentration en HAPs et l'activité de plusieurs enzymes impliquées dans la réponse au stress oxydatif et à la biotransformation (Porte et al., 1991 ; Sole et al., 1994 ; Fisher et al., 2003).

2.3. Les pesticides et les détergents

Les pesticides sont largement utilisés pour éliminer différents organismes nuisibles comme les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, et les micro-organismes qui affectent les plantes. Ils se retrouvent dans l'environnement marin principalement par le ruissellement depuis les terres agricoles, les retombées atmosphériques après les pulvérisations, ainsi que les rejets des eaux résiduaires industrielles. Ces substances sont particulièrement nocives pour les invertébrés aquatiques, surtout pendant leurs stades larvaires et juvéniles. Certains herbicides, comme le diuron et l'isoproturon, sont classés comme prioritaires selon la Directive Cadre sur l'Eau 2000/60/CE (DCE) en raison de leur potentiel cancérigène et de leurs effets perturbateurs sur le système endocrinien. Quant aux pesticides organochlorés (OC), tels que le DDT, le lindane et la dieldrine, ce sont des Polluants Organiques Persistants (POP) en raison de leur toxicité, de leur capacité à s'accumuler dans les organismes, de leur pouvoir mutagène et tératogène. Bien que le DDT soit désormais interdit, il est encore présent dans la chair des huîtres selon le réseau de surveillance ROCCH. Les pesticides organophosphorés et carbamates ont des effets neurotoxiques en inhibant les enzymes acétylcholinestérase (AChE) et carboxylestérases (Cs), comme l'ont démontré (Cooreman et al., 1993).

2.4. Les contaminants émergents

Les produits pharmaceutiques, les résidus de cosmétiques, les plastifiants tels que les phtalates, ainsi que les microplastiques, représentent une nouvelle génération de polluants émergents dans les milieux marins. Ces substances, encore faiblement réglementées à l'échelle internationale, suscitent une inquiétude croissante en raison de leurs effets toxiques potentiels sur la faune marine. En effet, plusieurs études récentes ont mis en évidence que ces polluants peuvent perturber la signalisation hormonale, entraînant des déséquilibres endocriniens chez différentes espèces aquatiques. De plus, ils peuvent altérer l'expression génique, affectant ainsi des processus biologiques essentiels tels que la reproduction, la croissance et la réponse au stress.

Ces impacts biologiques soulignent l'importance d'une surveillance accrue et d'une réglementation renforcée afin de limiter la diffusion de ces contaminants dans les écosystèmes marins (Smith et al., 2020).

3. Impact de ces polluants sur les organismes aquatiques

Les contaminants présents dans les écosystèmes marins provoquent une large gamme d'effets biologiques et biochimiques chez les espèces exposées. Ces effets peuvent être évalués grâce à une batterie de tests utilisant des biomarqueurs spécifiques. (Amara, R, 2011)

3.1. Le stress oxydatif

Les métaux lourds, les HAPs ou certains pesticides génèrent une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), entraînant une altération des membranes, des protéines et de l'ADN. Ce stress est compensé par des enzymes antioxydantes comme la catalase (CAT), la superoxydedismutase (SOD) ou la glutathion peroxydase (GPx), dont l'activité constitue un bon indicateur d'exposition (Naouel, 2014 ; Gagné et al., 2008).

3.2. Les effets neurotoxiques

Les composés neurotoxiques comme les organophosphorés ou certains métaux affectent l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme clé dans la transmission nerveuse. Une inhibition de cette activité peut se traduire par des troubles moteurs ou comportementaux chez les invertébrés marins.

3.3. La genotoxicité

Certains polluants, notamment les HAPs ou les métaux, provoquent des dommages directs à l'ADN. Ces altérations sont détectables par des tests comme le test des comètes (électrophorèse sur cellule unique) ou le test du micronoyau, qui permet d'observer la fragmentation du matériel génétique dans les cellules (Michel, 2011).

4. État actuel de la pollution marine en Algérie

Le littoral algérien, s'étendant sur plus de 1200 km, abrite une diversité écologique remarquable, mais il est aujourd'hui confronté à une pression anthropique croissante. L'urbanisation côtière rapide, l'industrialisation désorganisée et l'insuffisance des infrastructures de traitement des eaux usées ont contribué à la dégradation progressive de la qualité des eaux marines (Lakahal, F. 2010)

En Algérie, comme en attestent les chiffres : environ 100 millions de tonnes d'hydrocarbures passent à proximité des rivages algériens chaque année. De plus, les ports pétroliers du pays chargent environ 50 millions de tonnes d'hydrocarbures, avec des pertes estimées à 10 000 tonnes inévitables (Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Algérie, 2000).

Les zones portuaires, qu'elles soient destinées à la plaisance ou à la pêche, sont des environnements protégés où l'eau a tendance à stagner. Cette particularité conduit à une accumulation de divers polluants, tels que les hydrocarbures rejetés lors des vidanges des bateaux, les peintures antifouling utilisées sur les coques, ainsi que les métaux traces emprisonnés dans les sédiments. Ces éléments polluants peuvent être relâchés dans l'environnement lors des opérations de dragage des ports (Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Algérie, 2000).

Des études récentes menées sur différents points du littoral — notamment à Alger, Annaba, Skikda, Oran ou Béjaïa — ont révélé des niveaux préoccupants de contamination par les métaux lourds, les hydrocarbures, les pesticides et, plus récemment, les microplastiques. Ces polluants s'accumulent dans les sédiments et les organismes marins, compromettant la santé des écosystèmes et posant un risque sanitaire pour les populations qui dépendent des ressources halieutiques (Naouel, 2014).

5. La biosurveillance marine

5.1. Définition de la biosurveillance marine

La biosurveillance est devenue un domaine scientifique important dans les années 1970 en raison de la découverte de la persistance environnementale des pesticides organochlorés et de leurs effets nocifs sur des espèces non ciblées, déjà révélés dans les années 1960 par Carson. Cette discipline repose sur l'utilisation d'organismes vivants, appelés bioindicateurs, qui sont analysés à différents niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique et écologique). Son objectif est de détecter, prévoir et surveiller les changements dans l'environnement causés par des perturbations (Garrec & Van Haluwyn, 2002).

5.2. Reglementation initiative de surveillance

L'Algérie a adopté plusieurs textes réglementaires pour limiter les rejets polluants, notamment via la loi n° 03-10 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable. Toutefois, l'application de ces lois reste souvent insuffisante face à la réalité du terrain. (Ministère de l'Environnement et des Énergies Renouvelables, Algérie. 2010)

Par ailleurs, l'Algérie est engagée dans plusieurs programmes de coopération régionale, comme MED POL (Programme pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution), qui encourage l'utilisation d'organismes bioindicateurs pour évaluer la santé des écosystèmes. Dans ce contexte, *Mytilus galloprovincialis* a été intégré à plusieurs campagnes de biosurveillance, en raison de sa capacité à refléter la qualité de l'environnement marin à travers l'analyse de biomarqueurs biochimiques et génétiques. (Programme des Nations Unies pour l'Environnement / Plan d'Action pour la Méditerranée (PNUE/PAM). 2012)

5.3. Zones les plus touchées

Des études de biosurveillance ont mis en évidence des niveaux de contamination particulièrement élevés dans les baies d'Alger, de Skikda, d'Annaba et d'Arzew. Ces zones, à forte densité humaine et industrielle, présentent une accumulation importante de polluants dans les sédiments et les organismes marins, dont *Mytilus galloprovincialis* (Michel, 2011 ; Naouel, 2014).

6. Approche basée sur les biomarqueurs

6.1. Définition et rôle des biomarqueurs

Les biomarqueurs sont apparus en écotoxicologie dans les années 1980. Ce sont des modifications mesurables au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire ou physiologique qui révèlent l'exposition d'un organisme à des polluants (Lagadic et al., 1997). Ils permettent de détecter précocement des effets sublétaux, souvent invisibles à l'œil nu, avant qu'ils n'affectent les populations ou les écosystèmes (Gagné et al., 2008). Au fil des années 1990, cette approche a évolué pour inclure des analyses multiniveaux, couvrant les réponses génétiques aux perturbations physiologiques, de l'individu aux populations, renforçant ainsi leur pertinence écologique (Huggett et al., 1992 ; Van der Oost et al., 2003).

Les biomarqueurs sont essentiels pour évaluer la biodisponibilité des contaminants et leurs effets biologiques réels, contrairement aux seules analyses chimiques. Leur utilisation repose sur

des critères de sensibilité, spécificité et reproductibilité, et nécessite une compréhension fine des mécanismes physiologiques sous-jacents. Une approche multiparamétrique, combinant plusieurs biomarqueurs et marqueurs physiologiques (reproduction, croissance, comportement), est indispensable pour une évaluation complète de l'état de santé des écosystèmes (Minier et al., 2000).

Les biomarqueurs biochimiques incluent des enzymes telles que la catalase, la glutathion peroxydase, l'acétylcholinestérase, ainsi que des enzymes de détoxification telles que les cytochromes P450 et les glutathion-S-transférases. Les protéines métallothionéines, induites par les métaux lourds, sont également utilisées pour détecter la contamination métallique (Durou et al., 2007 ; Damiens et al., 2006). Actuellement, il est possible de mesurer les effets biologiques depuis le niveau cellulaire jusqu'aux peuplements et aux écosystèmes (Adams, 2002). (Figure 2)

Le nombre de bio-indicateurs utilisé est le reflet de l'immense variabilité biologique des écosystèmes. Les indicateurs biologiques se situent au sein d'un ensemble de méthodes dont la rapidité de réaction et la signification écologique sont inversement proportionnelles. Le choix d'un bio-indicateur s'avère assez difficile vu leur grande diversité. Il n'existe pas de bio-indicateur « universel ». Un bon indicateur doit remplir plusieurs critères, incluant entre autres la sensibilité, la reproductibilité et la pertinence écologique, pour bien représenter les phénomènes en cause (Amara, R. 2011).

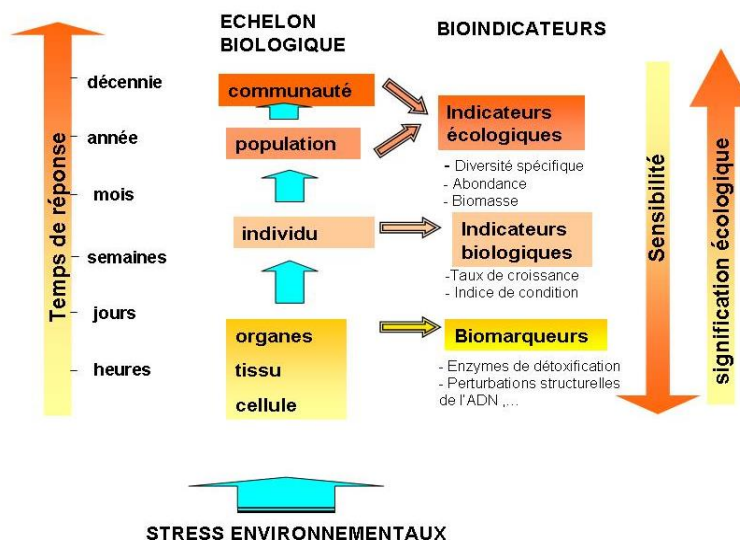


Figure 2: Diagramme illustrant les différentes approches liées à l'évaluation de la qualité environnementale (Adams, 2002).

5.2. Catégories et critères des biomarqueurs

6.2.1. Catégories :

Table 1: Catégories principales des biomarqueurs (Amiard et al. 2008)

Catégories	Utilisation
Biomarqueurs d'exposition	Ils révèlent les mécanismes de défense activés par un organisme en réponse à un contaminant.
Biomarqueurs de dommage ou d'effet	Ils reflètent une altération directe et néfaste causée par un contaminant sur l'organisme.

6.2.2. Critères de qualification

➤ Indices de stress généraux:

Ils traduisent une réponse globale de l'organisme à un mélange de polluants, sans identifier leur nature spécifique. **(Figure 3)**

➤ Indices de stress spécifiques:

Ils indiquent une réponse ciblée à une famille de contaminants particulière (ex. métaux lourds, pesticides). **(Figure 3)**

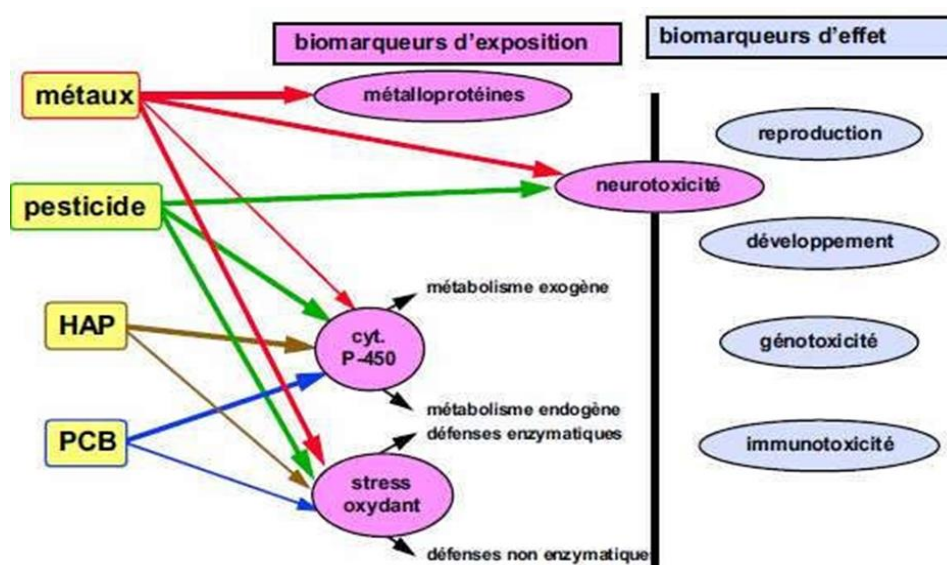


Figure 3: Relation entre les principales catégories de polluants et les biomarqueurs classiques (Narbonne & Michel, 1992)

6.3. Types de biomarqueurs

Table 2: Types des biomarqueurs

Types de biomarqueurs	Utilisations
Biomarqueurs de stress oxydatif	<p>Catalase (CAT) : dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène, évitant ainsi son accumulation toxique.</p> <p>Superoxydedismutase (SOD) : convertit les ions superoxydes (O_2^-) en H_2O_2, préparant l'action de la catalase.</p> <p>Glutathion peroxydase (GPx) : agit en synergie avec la SOD et la CAT pour éliminer les peroxydes lipidiques, protégeant les membranes cellulaires.</p>
Biomarqueurs de neurotoxicité	<p>Acétylcholinestérase (AChE) : Son activité est essentielle pour la régulation des impulsions nerveuses. De nombreux pesticides inhibent cet enzyme, ce qui entraîne une accumulation d'acétylcholine dans les synapses, provoquant une hyperexcitation ou une paralysie.</p>
Biomarqueurs de stress métallique	<p>Métallothionéines (MTs) : Ce sont de petites protéines riches en cystéine, capables de se lier aux métaux lourds. Elles jouent un rôle de détoxification intracellulaire. Une surexpression des MTs reflète une exposition à des métaux comme le cadmium ou le zinc.</p>
Tests de génotoxicité	<p>Test des comètes : permet d'observer les cassures de l'ADN à l'échelle cellulaire en électrophorèse. Plus la « queue de comète » est longue, plus l'ADN est endommagé.</p> <p>Test du micronoyau : détecte les anomalies chromosomiques ou les effets clastogènes par la formation de petits noyaux résiduels dans les cellules.</p>

Ces biomarqueurs, combinés dans une approche multiparamétrique, offrent une vision intégrée et sensible de l'état de pollution des milieux marins. Leur utilisation dans les moules *Mytilus galloprovincialis* permet ainsi de détecter précocement les effets de la pollution côtière en Algérie (Benali, M., & Haddad, S. 2023)

7. Le stress oxydatif

7.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

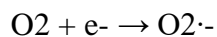
Il y a environ deux milliards d'années, l'atmosphère terrestre s'est enrichie en oxygène. Les organismes aérobies ont alors dû s'adapter en apprenant à utiliser l'oxygène et à éliminer les métabolites réduits produits. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), considérées comme toxiques, sont produites en faibles quantités par la cellule, notamment dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Environ 2% de l'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxyde, potentiellement toxiques (Delattre et al., 2007).

La réduction de l'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène se fait en plusieurs étapes. (Delattre et al., 2007) :

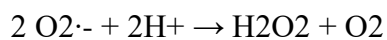
1) Transformation de l'oxygène en eau :



2) Réduction partielle de l'oxygène en radical superoxyde :



3) Dismutation du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène :



Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas un radical libre, il peut être toxique en présence de certains cations métalliques. En l'absence de stress, un équilibre est maintenu entre la production d'ERO et leur détoxification par les mécanismes antioxydants cellulaires. (Gillis et al., 2014; Winston & Di Giulio, 1991). Les ERO ont un rôle paradoxal, essentiel à la régulation cellulaire mais pouvant devenir toxiques en cas de déséquilibre (**Figure 4**) (Migdal & Serres, 2011; Almeida et al., 2005).

Certains contaminants chimiques augmentent la production d'ERO, induisant un stress oxydatif (Stegeman et al., 1992). Le système antioxydant cellulaire, comprenant des enzymes telles que la catalase, la superoxydedismutase et la glutathion peroxydase, protège contre ce stress (Stegeman et al., 1992; Filho, 1996). La variation de la catalase et de la peroxydation lipidique peut servir

de biomarqueurs de stress oxydatif. La production d'ERO est une conséquence du métabolisme aérobie, principalement au niveau des mitochondries. La gestion de ces espèces réactives par les systèmes antioxydants est cruciale pour prévenir les dommages oxydatifs et assurer la survie cellulaire (Stegeman et al., 1992; Hageman et al., 1992; Winston et al., 1998; Regoli et al., 2000; Chipman et al., 1998).

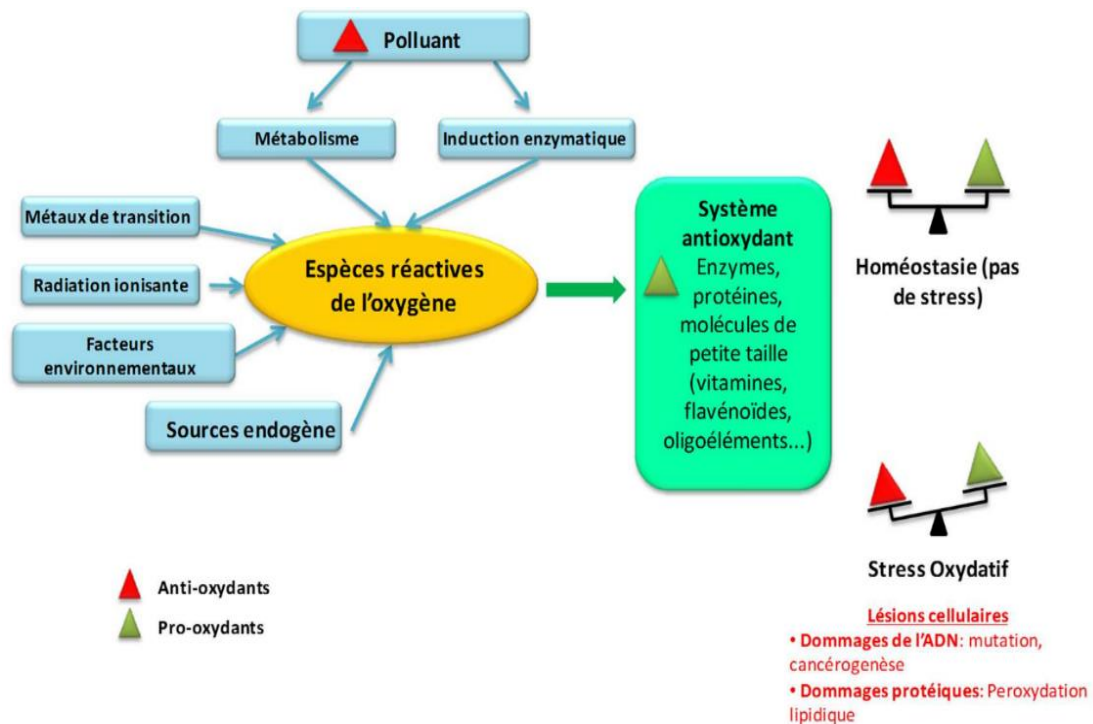


Figure 4: Diagramme explicatif des sources entraînant une augmentation des espèces réactives de l'oxygène dans la cellule et les dommages cellulaires associés et intervention du système antioxydant (Kamel, 2014)

7.2. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est un phénomène complexe qui découle d'un déséquilibre entre la production et l'accumulation de substances réactives à l'oxygène (ROS) à l'intérieur de la cellule, et leur élimination par des enzymes et d'autres molécules antioxydantes. Ce déséquilibre entraîne une augmentation des dommages oxydatifs affectant diverses cibles cellulaires selon une étude menée par Pizzino et ses collègues en 2017. Ce phénomène peut se manifester dans différentes circonstances, comme lors d'une exposition de l'organisme à l'hypoxie ou à l'anoxie, suivie d'une réoxygénation (Almeida et al. en 2005 et Hermes-Lima et al. en 1998).

7.3. L'impact du stress oxydatif au niveau cellulaire

Lorsque le corps est soumis à des phénomènes de stress oxydatif, il produit davantage d'espèces radicalaires et moléculaires qui endommagent les grandes molécules biologiques telles que les acides nucléiques (ADN, ARN), les protéines et les lipides (Delattre et al., 2007). L'oxygène moléculaire (O₂) peut même désactiver directement des enzymes radicalaires à faible potentiel, essentielles à certains métabolismes anaérobies. Cela entraîne des conséquences telles que la peroxydation lipidique, l'inactivation enzymatique, l'oxydation des bases de l'ADN et la dégradation des protéines.

La mesure du degré de peroxydation lipidique, qui produit des composés secondaires comme le malondialdéhyde (MDA), est souvent utilisée pour évaluer les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) chez divers organismes marins. De plus, les dommages oxydatifs à l'ADN, caractérisés par la présence de 8-oxo-7,8-dihydro-2-désoxyguanosine (8-oxodGuo), sont des indicateurs des altérations de l'ADN dues à la production cellulaire d'ERO (Pampanin et al., 2005; Viarengo et al., 1997; Winston et Di Giulio, 1991).

Pour se protéger contre les ERO, les cellules possèdent des enzymes antioxydantes telles que la superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion (Pampanin et al., 2005). Ces antioxydants agissent comme un mécanisme de défense cellulaire qui neutralise la toxicité des espèces réactives de l'oxygène, et sont considérés comme des biomarqueurs du stress oxydatif (Almeida et al., 2005; Pampanin et al., 2005).

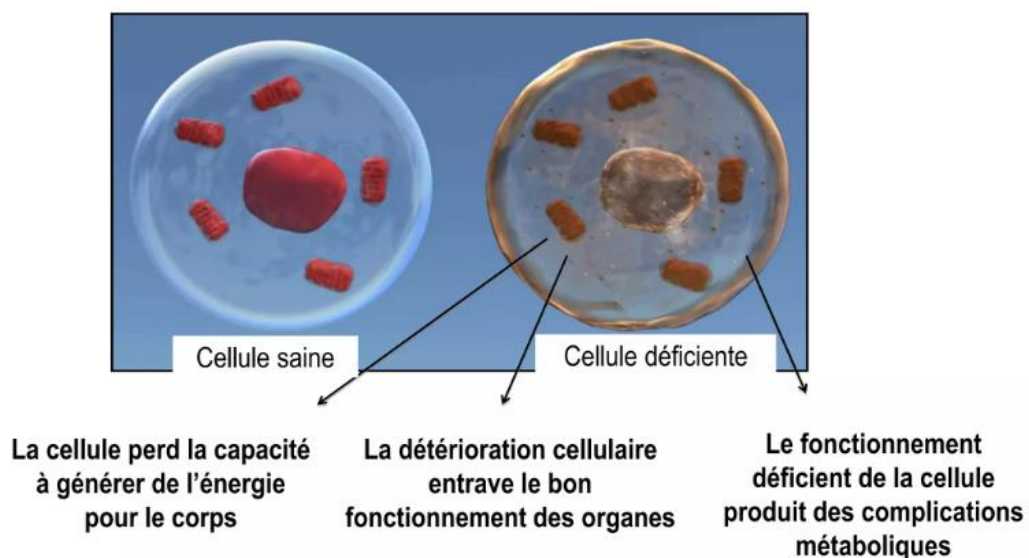


Figure 5: détérioration de la cellule par le stress oxydatif (Charrade, 2016)

8. La catalase :

La catalase est une enzyme présente dans la plupart des cellules qui joue un rôle important dans la protection contre les effets nocifs du peroxyde d'hydrogène, un produit du métabolisme. Cette enzyme catalyse la conversion rapide du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Chaque unité de la catalase contient un groupement hème (fer) qui participe directement à la réaction catalytique. Cette réaction se déroule en deux étapes successives, où le fer change d'état d'oxydation pour décomposer le peroxyde d'hydrogène.

La catalase se trouve principalement dans les peroxysomes des cellules eucaryotes, qui sont des organites spécialisés dans la détoxification de diverses molécules réactives. Elle agit en collaboration avec d'autres enzymes antioxydantes, comme la glutathion peroxydase, pour maintenir l'équilibre redox cellulaire et prévenir les dommages aux lipides, protéines et acides nucléiques causés par le stress oxydatif.

En raison de son importance dans la défense antioxydante, la catalase est souvent utilisée comme biomarqueurs dans les études sur le stress oxydatif et les maladies telles que les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et certains cancers. De plus, son activité peut être influencée par des facteurs environnementaux tels que l'exposition à des polluants ou à des agents toxiques, ce qui en fait un indicateur sensible des conditions physiologiques et environnementales. (Berg, J. M., et al 2019).

9. *Mytilus galloprovincialis* comme organisme bio-indicateur

9.1. Choix de l'espèce

Plusieurs raisons justifient son utilisation comme bio-indicateur. Tout d'abord, La moule méditerranéenne, *Mytilus galloprovincialis*, est un excellent indicateur quantitatif pour les radionucléides et les métaux traces. Sa large répartition le long du littoral du bassin méditerranéen ainsi que de la mer Noire en fait un bioindicateur privilégié dans ces régions. (Fisher et al., 1987).

Ensuite, sa capacité de bioaccumulation est particulièrement notable. *Mytilus galloprovincialis* a la faculté d'absorber et de stocker dans ses tissus divers contaminants tels que les métaux lourds (cadmium, plomb, mercure, cuivre, zinc), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), ainsi que des pesticides et des contaminants organiques persistants. Cette aptitude est bien documentée dans la littérature scientifique, ce qui renforce son utilisation dans les études écotoxicologiques (Naouel, 2014 ; Michel, 2011).

Comprendre comment les contaminants interagissent avec les barrières biologiques est crucial pour étudier les phénomènes écotoxicologiques tels que la bioconcentration, la bioaccumulation, la variabilité spatiale et temporelle des contaminants et leurs transferts dans les chaînes alimentaires. (Goldberg, 1975).

De plus, *Mytilus galloprovincialis* présente une réactivité biologique significative. Elle développe des réponses mesurables et reproductibles face à l'exposition aux polluants, ce qui permet l'utilisation de biomarqueurs pour évaluer le stress oxydatif, la neurotoxicité ou la génotoxicité. (Banni, M., Fabbri, R., & Viarengo, A. 2011).

En somme, *Mytilus galloprovincialis* n'est pas seulement un excellent modèle d'étude pour l'écotoxicologie ; elle constitue également un outil opérationnel précieux pour la biosurveillance environnementale. Son utilisation a été démontrée dans plusieurs programmes de suivi en Méditerranée occidentale, soulignant son importance dans l'évaluation de la santé des écosystèmes marins (Butler et al., 1971 ; Rainbow et al., 2004).

Dans notre recherche, nous avons sélectionné ce mollusque bivalve, pour détecter la présence de micropolluants en raison de ses nombreuses caractéristiques avantageuses. (**Figure 6**)

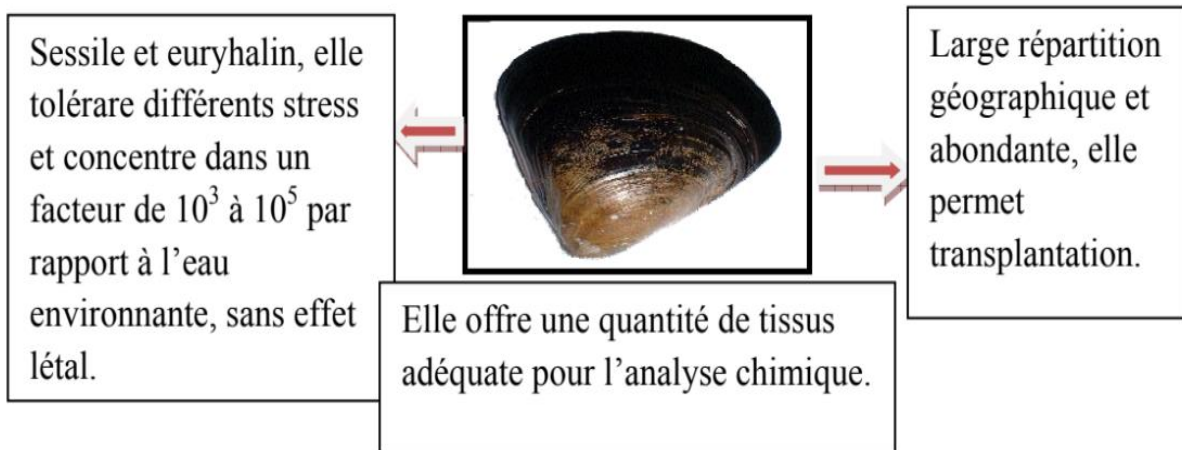


Figure 6: Qualités de bioindicateur *Mytilus galloprovincialis* (Butler et al. 1971; Rainbow et al. 2004 et Goldberg., 1975)

9.2. Présentation générale de l'espèce

Mytilus galloprovincialis, ou moule méditerranéenne, est un mollusque bivalve caractérisé par une coquille équivalve, inéquilatérale et généralement ovale ou cylindrique. Sa coquille présente une fente byssale ventrale fine et une surface externe lisse ou légèrement sculptée, avec des zones plus marquées près des valves postéro-dorsales. Le périostracum est bien développé, souvent lamelleux ou hérissé de soies. La charnière est sans dents, avec parfois de petites crénelures. Le ligament sub-interne est fixé au bord dorsal postérieur par une bande calcifiée blanchâtre (Kamel, 2014).

La moule méditerranéenne, présente une coquille de couleur bleu foncé à brun presque noir. Les deux valves sont égales et presque quadrangulaires, avec une surface externe noir-violet. Un côté de la coquille se termine par un umbo pointu légèrement plié, tandis que l'autre côté est arrondi. La forme de la coquille peut varier selon la région. Cette moule peut atteindre jusqu'à 15 cm de longueur, bien que sa taille moyenne soit généralement comprise entre 5 et 8 cm (GISD, 2020).

Cette espèce est largement répandue dans le bassin méditerranéen, l'Atlantique Est et d'autres régions tempérées. Elle vit fixée aux substrats rocheux, digues, coques de navires ou installations portuaires, formant des colonies denses appelées "bancs de moules".

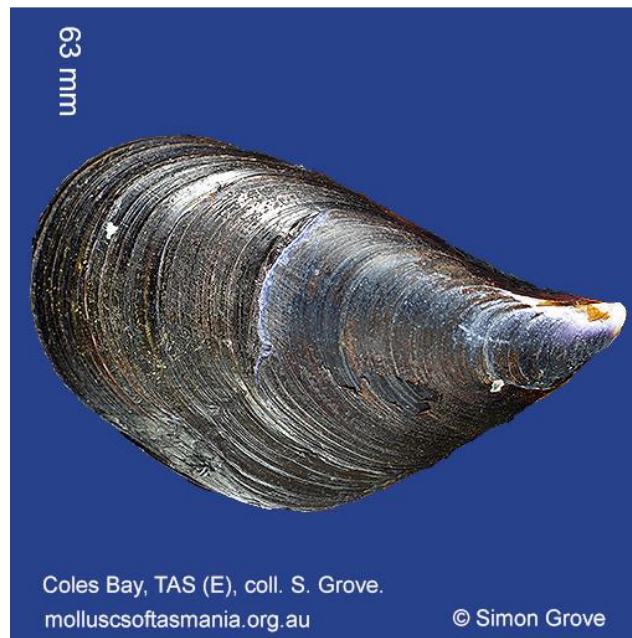


Figure 7: *Mytilus galloprovincialis* (Grove, S. J., & de little, r. 2020)

8.3. Classification taxonomique

Table 3: taxonomie de la moule dans la règne animal (Martigues, 2020)

Embranchement	Mollusques
Règne	Animale
Embranchement	Mollusques
Classe	Bivalves
Sous-classe	Autobranches
Infra-classe	Pteriomorphes
Ordre	Mytilidés
Superfamille	Mytiloïdés
Famille	Mytilidés
Genre	<i>Mytilus</i>
Espèce	<i>Mytilus galloprovincialis</i>

9.4. Anatomie de la moule

La moule, comme tous les lamellibranches, se distingue par une coquille bivalve allongée, souvent noire, qui protège la masse viscérale. Voici une description détaillée de l'anatomie et de la fonction physiologique des différents organes de *Mytilus galloprovincialis* :

Le pied et le byssus : le pied de la moule, en forme de langue, permet à l'animal de se déplacer et de s'enfouir dans le sable. Il peut se rétracter grâce à deux muscles rétracteurs. À sa base se trouve la glande du byssus (**glande byssogène**), qui produit des filaments (byssus) servant à fixer la moule à son support. Ces filaments se solidifient au contact de l'eau de mer après leur sécrétion (Behloul, C. 2022).

Les branchies : constituent une caractéristique essentielle des lamellibranches. Ces organes en feuillets jouent un double rôle : ils assurent la respiration et la filtration de la nourriture à partir de l'eau. Deux paires de branchies sont situées de chaque côté du corps de la moule (Gosling, E. 2003).

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

Le manteau : il enveloppe l'ensemble de la masse animale et assumant à la fois la sécrétion de la coquille et le rôle de support des gonades (Behloul, C. 2022).

La cavité palléale : un espace interne délimité par les lobes du manteau, dans lequel circulent l'eau et se trouvent les branchies. Elle joue un rôle essentiel dans les échanges gazeux (hématose), l'évacuation des déchets, ainsi que la libération des gamètes et de l'urine. L'eau est constamment renouvelée dans cette cavité grâce aux battements des cils, ce qui permet un apport continu en oxygène et l'élimination des déchets (Behloul, C. 2022).

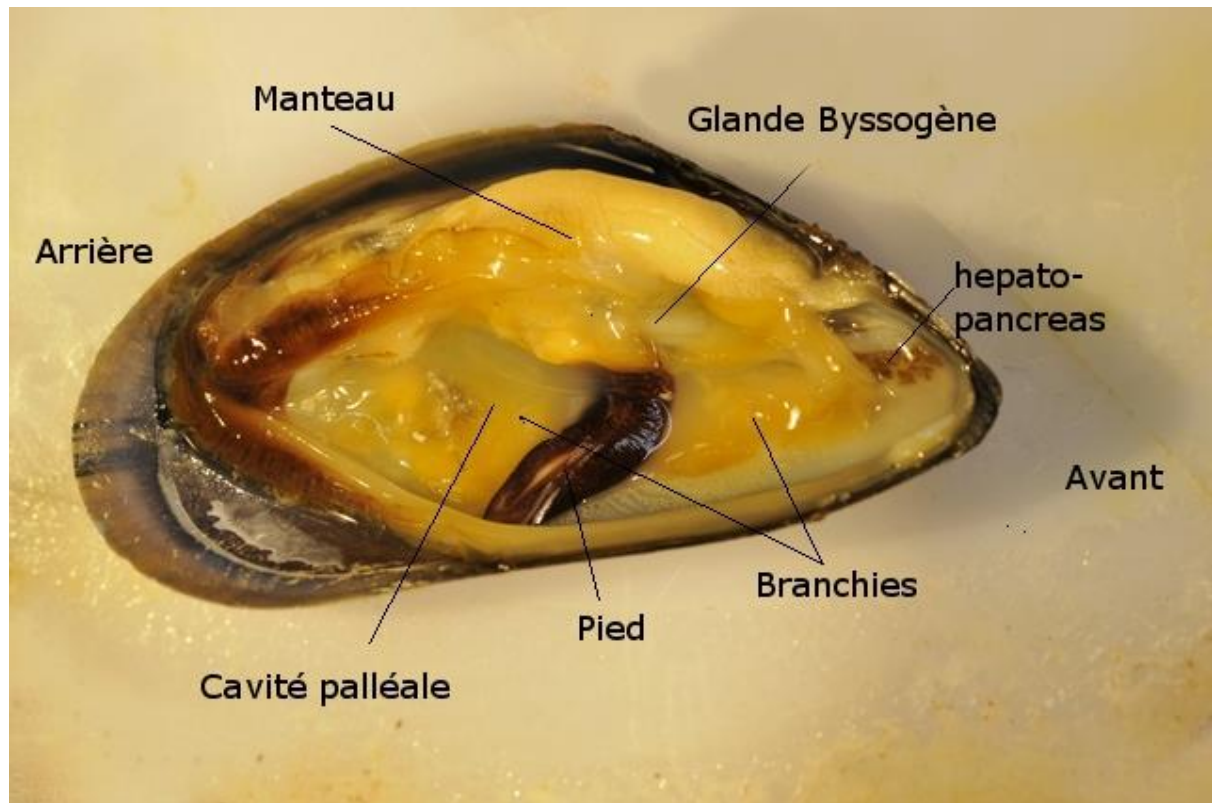


Figure 8: Anatomie interne de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Dominique, 2021)

9.5. Physiologie de la moule

9.5.1. Mode respiratoire :

Les échanges d'oxygène chez la moule se font principalement via les branchies. L'eau riche en oxygène pénètre par le siphon inhalant dans la cavité palléale, puis est filtrée par les filaments des branchies lamelleuses avant d'être expulsée par le courant exhalant. L'oxygène capté est ensuite transporté par l'hémolymphe vers les différentes parties de l'organisme. Lorsque la moule est exposée à l'air, elle ferme sa coquille et passe à une respiration anaérobie (Cahen, 2006)

9.5.2. Cycle biologique

La moule présente une différenciation sexuelle. Lors de la reproduction, les ovules des femelles sont relâchés dans la cavité palléale, où ils sont fécondés par les spermatozoïdes des mâles. Ces spermatozoïdes sont libérés dans l'eau et transportés jusqu'à la cavité de la femelle par le courant, ce qui rend la fécondation externe. Les œufs, en grand nombre (environ 500 000), donnent naissance à deux stades larvaires successifs : la trochophore et la véligère, en l'espace d'une journée. Après 2 à 3 semaines, la véligère se fixe sur un substrat, subit une métamorphose pour devenir une jeune moule, et atteint maturité en environ deux ans (Cahen, 2006). (**Figure 8**)

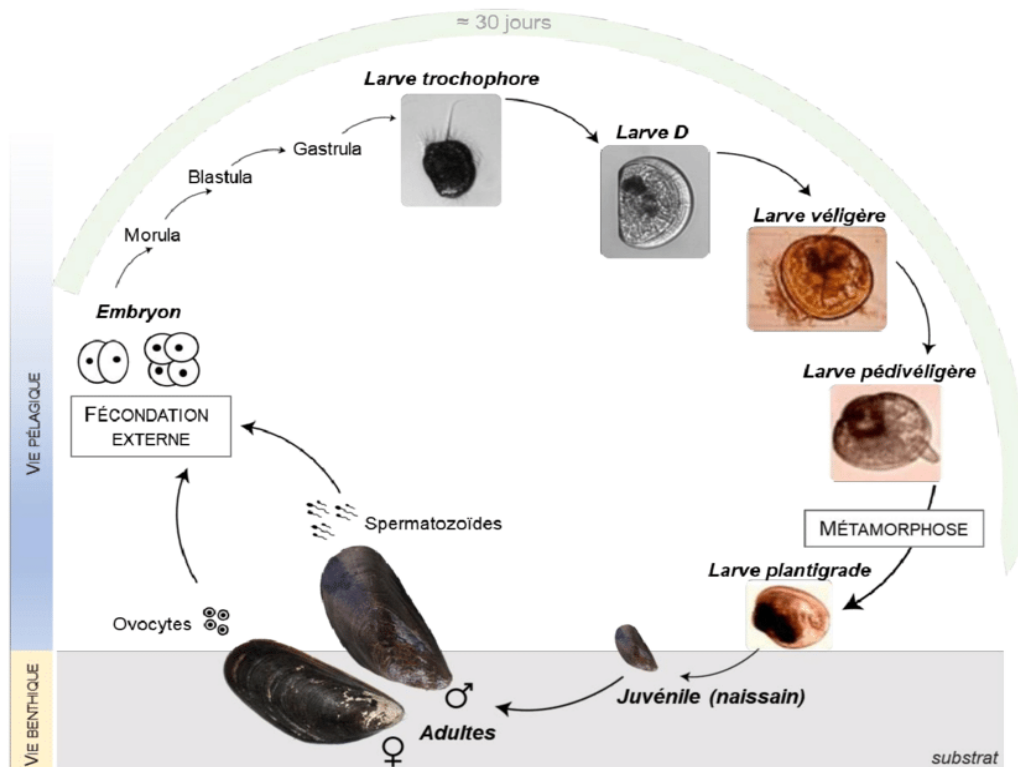


Figure 9 : Cycle biologique des moules (Jahangard et al. 2010 et Ventura et al. 2016).

9.6. Alimentation

La *Mytilus galloprovincialis* est une espèce microphage, ce qui veut dire qu'elle se nourrit de toutes petites particules présentes dans l'eau de mer. Pour se nourrir, cette moule filtre l'eau à travers ses branchies, où elle retient les particules alimentaires. Son régime alimentaire est principalement composé d'algues microscopiques (phytoplancton), de bactéries et de débris organiques (Bouchard, 2004).

En élevage des coquillages, une activité qui représente actuellement un quart de la production aquacole mondiale, le processus commence dès la phase larvaire des animaux, à partir des œufs fécondés jusqu'à leur fixation (Helm et al., 2006). Les géniteurs sont principalement sélectionnés parmi les populations sauvages, qui démontrent une grande diversité génétique en raison d'un polymorphisme robuste. En revanche, les moules domestiquées subissent des contraintes liées à leur élevage (Lubet et Mathieu, 1999). Dans les écloseries, la nutrition des larves repose en grande partie sur des algues unicellulaires cultivées, et un contrôle thermique est mis en place pour favoriser des pontes plus précoces (Lubet et Mathieu, 1999).

9.7. Ecologie

- **Habitat :** la moule *Mytilus galloprovincialis* est une espèce bivalve qui se fixe sur des surfaces dures, notamment dans la zone intertidale et jusqu'à une profondeur d'environ 10 mètres. Elle a tendance à former des colonies denses pour mieux résister aux vagues, grâce à ses filaments de byssus extrêmement solides. Selon Dupont (2019), cette espèce est capable de supporter des variations importantes de salinité, allant de 4‰ à 35‰, mais sa croissance est optimale dans des eaux dont la salinité se situe entre 25‰ et 35‰ (Dupont, 2019).
- **Adaptations aux marées :** cette espèce est spécifiquement adaptée aux changements des conditions dans la zone intertidale, en particulier lorsqu'elle est exposée à l'air pendant les marées basses. Son ancrage solide au substrat grâce au byssus lui permet de faire face à de fortes forces hydrodynamiques, tandis que le regroupement dense limite à la fois la dessiccation et l'impact des vagues (Dupont & Durant, 2020).
- **Mortalité et prédation :** la mortalité de *Mytilus galloprovincialis*, est affectée par plusieurs facteurs tels que la température, la salinité et la prédation. En effet, les recherches menées par Dupont et ses collègues en 2020 ont montré que des températures supérieures à 20 °C peuvent entraîner une augmentation de la mortalité de ces organismes. De plus, les prédateurs principaux des moules bleues sont les étoiles de mer et les crabes, qui contribuent à limiter leur densité et leur distribution dans leur environnement.

Bien que les moules bleues aient une capacité de reproduction importante, leur survie à l'état larvaire est souvent compromise en raison du risque élevé de prédation. Les études récentes menées par Dupont et son équipe ont mis en évidence ce phénomène, soulignant les défis auxquels ces organismes doivent faire face pour assurer leur survie et leur maintien dans leur écosystème (Dupont et al., 2020).

9.8. Importance écologique et économique

Mytilus galloprovincialis joue un rôle écologique crucial dans la clarification des eaux côtières et la structuration des communautés benthiques. En filtrant des particules, elle contribue à la régulation de la biomasse planctonique. Par ailleurs, elle sert de nourriture à de nombreux prédateurs (poissons, oiseaux, étoiles de mer).

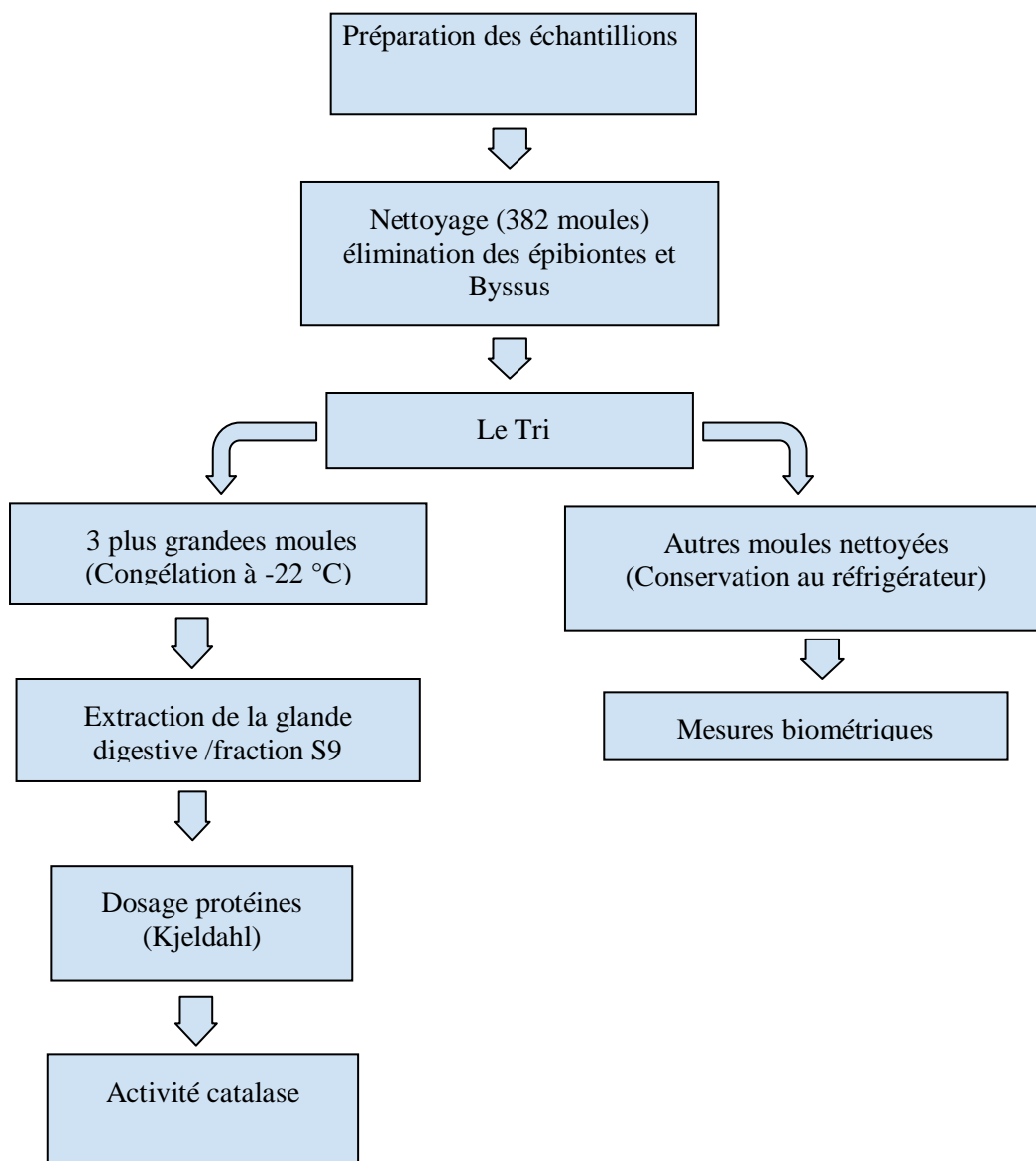
D'un point de vue économique, cette espèce est exploitée en aquaculture dans de nombreux pays, dont l'Algérie, où elle représente une source de protéines à bas coût. Sa valeur marchande et son rôle écologique expliquent l'intérêt croissant porté à sa protection et à son utilisation dans les programmes de surveillance environnementale (Gosling, E. 2015).

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**1. Zone d'échantillonnage et origine des échantillons**

Cette étude a porté sur des moules (*Mytilus galloprovincialis*) issues du marché local de la Pêcherie d'Alger.

Cette approche a été privilégiée pour sa praticité et la disponibilité immédiate du matériel biologique. Les moules, destinées à la consommation humaine, étaient déjà triées et calibrées, malgré le fait que leur historique environnemental précis demeure inconnu.

Diagramme illustrant la préparation et les procédures de l'analyse des moules

2. Préparation des échantillons

Dès qu'elles ont été acquises, 382 moules ont été minutieusement lavés dans le laboratoire dans le but d'en éliminer les salissures, les épibiontes et les byssus. Cette mesure a pour objectif d'exclure à chaque fois un éventuel contaminant externe lors des analyses à venir. Ensuite, elles ont été triées par taille.



Figure 10: des moules nettoyées.

3. Tri et conservation des échantillons

Parmi les moules nettoyées, trois individus de grande taille ont été retenus plutôt pour des analyses biochimiques. Ces dernières ont été congelées par la suite à -22°C pour maintenir l'intégrité des tissus biologiques. Les autres moules ont été placées à 4°C au réfrigérateur afin que les mesures biométriques puissent être effectuées rapidement après le nettoyage.

4. Mesures biométriques

Les mesures biométriques ont été réalisées sur les moules conservées au réfrigérateur, en suivant les différentes étapes de relevé suivantes :

Longueur (L) : distance maximale séparant le bord antérieur et le bord postérieur de la coquille.

Largeur (H) : distance maximale séparant la charnière dorsale et le bord ventral.

Épaisseur (E) : largeur maximale des deux valves réunies au niveau de leur convexité.



Figure 11: mesure de la longueur (L)



Figure 12: mesure de la largeur (E)



Figure 13: mesure de l'épaisseur (H)

Les mesures des dimensions significatives ont été prises au moyen d'un pied à coulisse manuelle pour un meilleur niveau de précision.

Après les mesures effectuées en longueur, les moules ont été soigneusement agouties afin d'éliminer le maximum d'eau résiduelle, puis pesées au moyen d'une balance électronique de précision

Poids total (Pt) : correspond à la moule entière, sans eau intervalvaire.

Poids de la chair (Ph) : correspond au poids des tissus mous extraits après décoquillage, également égouttés.

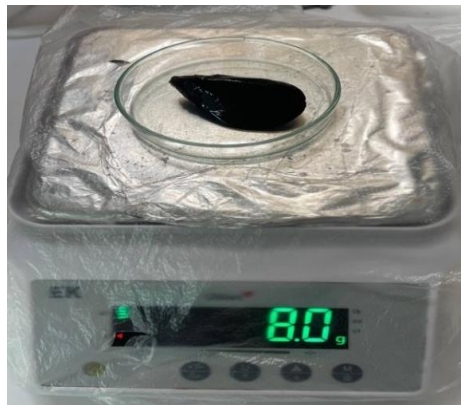


Figure 14: mesure du poids total de la moule (Pt)



Figure 15: mesure du poids de la chair (Ph)

Les données biométriques (L, H, E, Pt et Ph) sont toutes enregistrées et organisées dans un tableau Excel pour une analyse ultérieure (calcul de l'indice de condition, étude allométrique)

5. Étude de la croissance

5.1. Distribution des fréquences de taille

Afin de constituer la distribution fréquentielle de la taille, les moules ont été regroupées par classes de 7 mm permettant ainsi de comptabiliser le nombre d'individus par classe de taille.

5.2. Etude de la croissance relative

L'investigation approfondie de la croissance relative de *Mytilus galloprovincialis* a été menée selon une méthode biométrique permettant d'établir une relation taille-poids pour cet animal, modélisée par une loi d'allométrie simple de la forme : $Y=aX+b$

Où:

- Y: poids total de la moule
- X: taille totale (longueur)
- a: ordonnée à l'origine
- b: coefficient d'allométrie

Pour faciliter cette analyse, cette relation peut d'ailleurs être log transformée de la manière suivante : $\text{Log}Y=\text{log}a+\text{b}\text{log}X$

Ce qui permet une exploration plus aisée de la relation entre ces deux variables.

Le coefficient d'allométrie (b) et la constante (a) ont été définis à partir du tracé de la courbe de puissance, illustrant une relation mesurée par le coefficient de détermination R^2 .

- $b=3$: il y'a une isométrie, le poids croit proportionnellement au cube de la longueur
- $b>3$: l'allométrie est dite majorante, le poids croit plus vite que le cube de la longueur
- $b<3$: l'allométrie est dite minorante, le poids croit moins vite que le cube de la longueur

La croissance d'un paramètre étant alors proportionnellement inférieure ou supérieure à la croissance du paramètre de référence.

Le rapport des paramètres "a" et "b" est déterminé par la régression linéaire, tandis que le degré de corrélation entre les variables a été établi par le calcul du coefficient de détermination R^2 . (Froese, R. 2006)

6. Indice de condition

L'Indice de condition, cet indicateur biométrique destiné à évaluer l'état physiologique général de bivalves, y compris *Mytilus galloprovincialis*, et défini comme le rapport entre la masse des tissus mous et le volume ou la taille de la coquille, qui fournit une estimation de la condition corporelle, de l'état nutritionnel et de la condition de l'individu, est influencé par de nombreux facteurs : la saison, la disponibilité alimentaire, le cycle reproductif ou encore les pressions environnementales avec, entre autres, la pollution chimique (Amiard-Triquet et al., 2013).

En écotoxicologie, une diminution de l'indice de condition est généralement interprétée comme un symptôme de stress chronique, révélateur d'un état de déséquilibre métabolique ou d'un ralentissement de la croissance face à l'exposition (ou non) à des contaminants. Son utilisation avec les biomarqueurs biochimiques comme complément permet ainsi de disposer d'un outil simple, fiable et non-destructif pour évaluer le niveau de perturbation environnementale des organismes marins (Bayne et al., 1979).

$$\text{IC} = (\text{Poids des tissus mous sans l'eau palléale} / \text{Poids total}) \times 100$$

En toute rigueur, cet indicateur est jugé fiable pour caractériser le statut physiologique des bivalves (Bodoy et al., 1986) mais est tout particulièrement adapté aux échantillons conservés dans un état humide, essentiel pour les analyses chimiques et biochimiques à effectuer par la suite (Amiard et al., 2004).

7. Etude de l'activité catalase

Les analyses ont été réalisées à partir d'un seul spécimen de *Mytilus galloprovincialis*. Les étapes de la démarche expérimentale ont été les suivantes :

1. Prélèvement de la glande digestive, organe cible pour les analyses biochimiques
2. Extraction de la fraction S9 à partir du tissu prélevé
3. Détermination de la concentration totale en protéines
4. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase, utilisée comme biomarqueur du stress oxydant

7.1. Préparation de la fraction S9

1. Après avoir décongelé la moule, des dissections ont été méticuleusement effectuées pour déterminer l'emplacement de la glande digestive, laquelle a ensuite été isolée avec précaution afin d'être pesée ;
2. Un échantillon de glande digestive pesant 1,04g a été prélevé puis ajouté à 10mL de solution tampon phosphate (pH 7,4) ;
3. Après avoir été d'abord écrasé manuellement avec un mortier pour garantir la dissociation complète du tissu, l'échantillon a été ensuite homogénéisé à l'aide d'un broyeur afin d'obtenir l'homogénat d'une consistance convenable ;
4. L'homogénat obtenu a été centrifugé à 9000 tr/min pendant 20 min à 4°C ;
5. Le surnageant où se trouve la fraction S9 a été soigneusement isolé. Cette fraction, qui comprend principalement le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les protéines cytosoliques, est utilisée pour le dosage des protéines totales et la détermination de l'activité enzymatique de la catalase ;
6. Le surnageant obtenu après centrifugation a été transféré dans des tubes eppendorf stériles, puis stocké à -20°C jusqu'à la réalisation des analyses biochimiques.



Figure 16: preparation de la fraction S9

7.1.1. Préparation de la solution tampon phosphate (pH 7.4)

1. Peser 9,08g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) et les dissoudre dans 39ml d'eau distillée ;
2. Peser 9,47g de phosphate disodique (Na_2HPO_4) et les dissoudre séparément dans 161ml d'eau distillée ;
3. Mélanger les deux solutions obtenues sous agitation jusqu'à dissolution complète ;

4. Vérifier le pH de la solution finale à l'aide d'un pH-mètre et ajuster si nécessaire à pH 7,4 ;
5. Conserver la solution tampon à température ambiante ou à 4°C.

8. Dosage des protéines totales par la méthode de kjeldahl

La technique de Kjeldahl correspond à une méthode classique pour évaluer la quantité d'azote organique total dans un échantillon biologique de type organique. Elle sollicite une succession d'étapes allant de la minéralisation du matériau organique par voie acide, la distillation de l'ammoniac ainsi dégagé après neutralisation et son évaluation par titrage. L'azote obtenu est alors transformé en protéines totales à l'aide d'un facteur standard de conversion (en général 6.25). (AOAC, 2000)

Cette méthode est mise à profit dans cette étude pour mesurer la concentration en protéines de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*. Cette concentration va permettre de normaliser l'activité enzymatique de la catalase (CAT) et d'assurer, donc, la cohérence et la standardisation dans la présentation des résultats d'enzyme. (AOAC, 2000)

Il est unanimement reconnu que cette méthode est fiable dans le contexte des analyses des tissus biologiques (AOAC, 2000).

Le dosage des protéines a été réalisé selon la méthode de Kjeldahl, adaptée à un échantillon liquide. Cette méthode repose sur la détermination de l'azote total, converti ensuite en protéines, conformément aux recommandations de l'AFNOR (1985).

8.1. Mineralisation

1. Un volume de 4,5 ml d'homogénat de glande digestive a été introduit dans un matras de 250mL.
2. On y a ajouté environ 2g de catalyseur (mélange de 25 g de K_2SO_4 et 5g de $CuSO_4$) ainsi que 20mL d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4).
3. Le mélange a été chauffé jusqu'à obtention d'un liquide limpide et stable, indiquant la conversion complète de l'azote organique en ions ammonium (NH_4^+).



Figure 17: minéralisation

8.2. Distillation

1. Après refroidissement, le contenu a été transféré dans un appareil de distillation (type Büchi).
2. On y a ajouté 50 mL de soude concentrée (NaOH , $d = 1,33$) pour libérer l'ammoniac, lequel a été capté dans 20 mL d'acide borique contenant un mélange indicateur coloré (rouge de méthyle et vert de bromocrésol).
3. La distillation a été poursuivie jusqu'à l'obtention d'un volume de distillat de 100 mL.

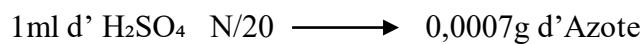
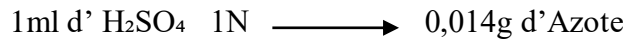


Figure 18: distillation

8.3. Titrage

Le distillat a été titré par retour à l'aide de l'acide sulfurique N/20, jusqu'au changement de couleur de l'indicateur signalant la fin de la réaction.

La teneur en azote a été calculée à partir du volume d'acide utilisé, puis convertie en teneur en protéines en utilisant le facteur de conversion 6,25, adapté aux tissus biologiques.



$$N = V_1 \times 0,0007 \times (100/Y) \times (250/V_0)$$

- V_1 : Descente de burette (ml) : (volume de l'acide sulfurique N/20)
- Y : poids de l'échantillon de départ
- V_0 : Volume de la prise d'essai

$$\text{Teneur en protéines (\%)} = N \times 6,25$$

9. Dosage de l'activité catalase

Les catalases sont des enzymes essentielles qui jouent un rôle important dans la défense cellulaire contre le stress oxydatif. Elles aident à éliminer les espèces réactives de l'oxygène, souvent appelées ERO, en catalysant la réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce composé est toxique pour la cellule, mais la catalase le convertit rapidement en eau (H_2O) et en dioxygène (O_2), ce qui réduit la charge d'oxydation à l'intérieur de la cellule. La méthode pour mesurer l'activité catalasique, décrite par (Clair borne en 1985), repose sur le suivi de la dégradation du peroxyde d'hydrogène grâce à cette réaction : (Clairborne.A.1985)



Suivie de l'activité enzymatique :

Dans les cuves en quartz, on introduit dans l'ordre :

cuve 1	Blanc	<ul style="list-style-type: none"> - 800µl de tampon (100mM, pH7.4) - 200µl H₂O₂ - Lire la DO à 240 nm et remettre le système du spectrophotomètre à zéro.
cuve 2	Essai	<ul style="list-style-type: none"> - 750µl de tampon (100mM, pH7.4) - 200µl H₂O₂+ -50µl S9 - Lire la DO à 0S, 30S, 60S, 90S, 120s, 150S, 180S.

On suit la diminution de la densité optique par spectrophotomètre à une longueur d'onde 240 nm.

Détermination de l'activité CAT :

L'activité spécifique de la catalase est exprimée en µmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines et est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Activité CAT (nmole.min}^{-1}\text{.mg}^{-1}\text{)} = (\Delta \text{DO} / \text{mn} \times 1000) / (\epsilon \times \text{V} \times \text{P})$$

$$\Delta \text{DO} / \text{min} = \text{DO à T0s} - \text{DO à T60s}$$

- V : volume de l'échantillon en ml
- P : mg de protéines par ml de la fraction à doser
- ϵ : coefficient d'extinction molaire de peroxyde d'hydrogène 0.04 M.cm⁻¹

Eau oxygénée 100Mm

300µl de H₂O₂ à 10 volumes concentré + 9700 µl de H₂O

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Etude de croissance

1.1. Distribution de fréquence de taille

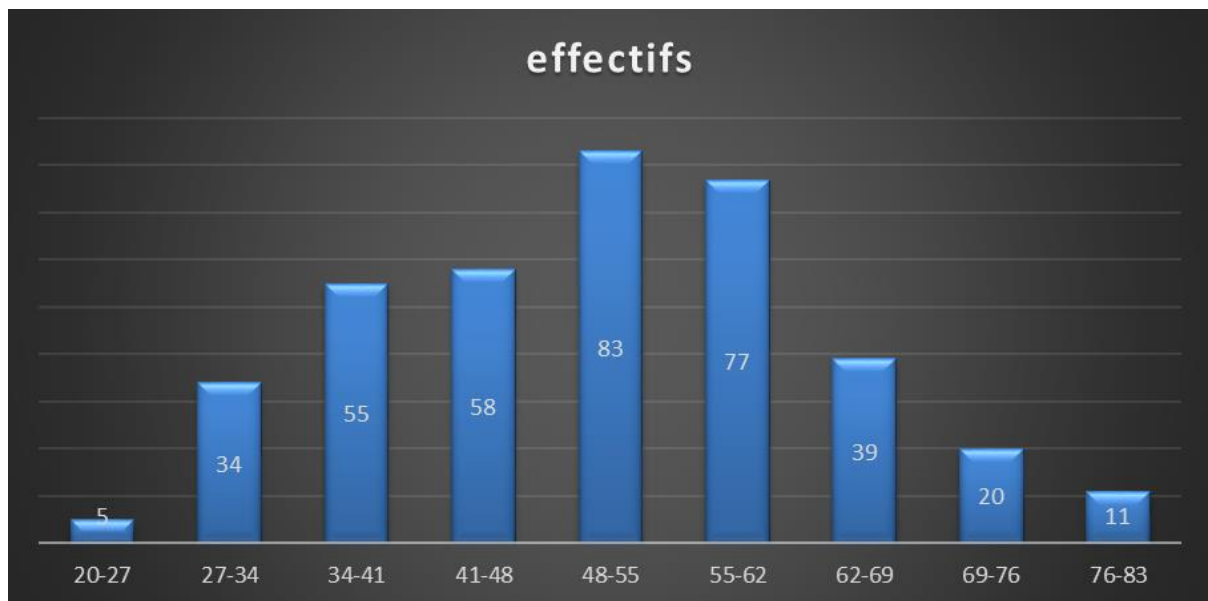


Figure 19: Histogramme de distribution des fréquences de tailles de *Mytilus galloprovincialis* (moule du marché)

- La majorité des moules se trouve dans les classes 48-55 et 55-62, ce qui indique que la plupart des individus proposés à la vente ont une taille conforme aux standards commerciaux (entre 45mm et 70mm) et dépassent largement la taille minimale réglementaire de 40 mm. (Commission européenne, 1996).
- Les moules de taille inférieure à 40mm sont peu nombreuses, ce qui témoigne d'un bon respect de la réglementation visant à protéger la ressource et garantir la qualité des produits.
- Les moules de taille supérieure à 62 mm sont présentes mais en proportion plus faible, ce qui est habituel puisque les calibres plus gros sont souvent moins fréquents sur le marché en raison des cycles de croissance et de la demande.

Cette distribution traduit un calibrage adapté des moules commercialisées, respectant à la fois les exigences réglementaires et les attentes des consommateurs. La prédominance des tailles entre 48 et 62 mm est un indicateur positif de qualité et de durabilité de la ressource.

1.2. Etude de croissance relative

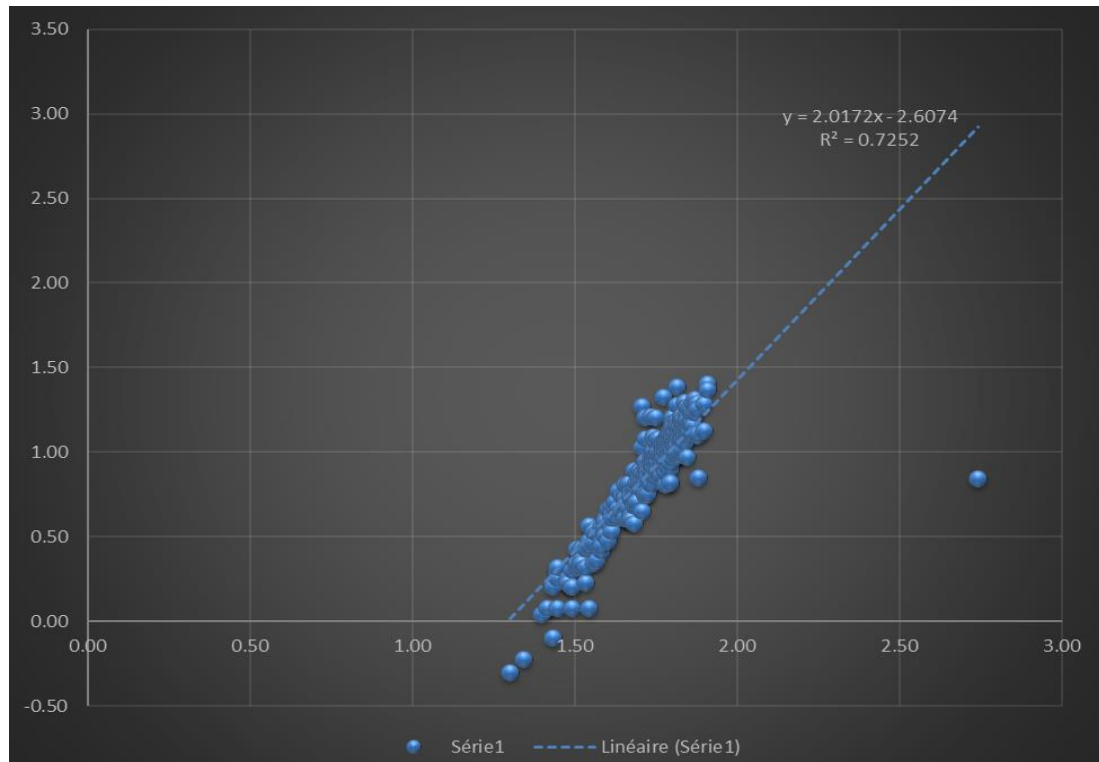


Figure 20: Regression entre la taille et le poids total chez la moule *Mytilus galloprovincialis* (moules du marché)

Le coefficient de détermination R^2 de 72.5% montre qu'une grande partie de la variation du poids des moules est expliquée par leur taille, indiquant une relation positive significative entre ces deux variables. Le coefficient "b" estimé à environ 2,017, révèle une croissance allométriqueminorante, ce qui signifie que le poids augmente moins rapidement que la taille. Autrement dit, à mesure que les moules grandissent en longueur, leur prise de poids est proportionnellement moindre, ce qui peut refléter des adaptations biologiques spécifiques ou des conditions environnementales. Cette allométriqueminorante a des implications importantes, notamment sur l'évaluation commerciale des moules, car les individus plus grands ne sont pas nécessairement proportionnellement plus lourds. (Pechenik, 2015 ; Seed&Suchanek, 1992).

2. Indice de condition

Selon Ifremer, le taux de remplissage, exprimé en pourcentage de chair, est utilisé pour classer les lots de moules destinées à la consommation en quatre catégories :

- Catégorie 1: $I \geq 22\%$
- Catégorie 2: $22\% > I \geq 20\%$

- Catégorie 3: $20\% > I \geq 18\%$
- Catégorie 4: $I < 18\%$

Ce classement permet d'évaluer la qualité marchande des moules en fonction de leur taux de chair, un critère important pour la certification de conformité produit dans l'élevage des moules de bouchot (Besse, T., & Mazurié, J. 2003)

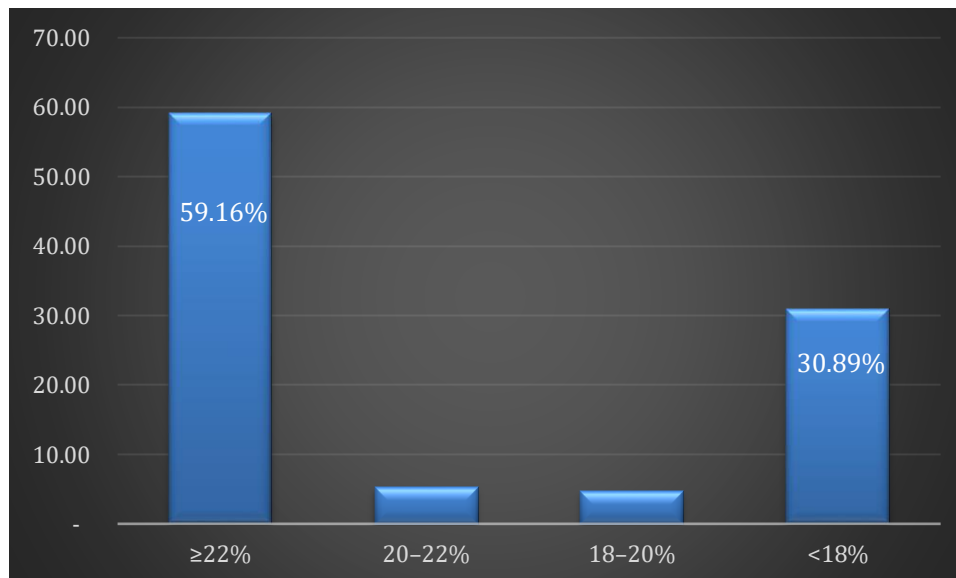


Figure 21: Histogramme des pourcentages des catégories de l'indice de condition du lot de la moule *Mytilus galloprovincialis* (moule du marché)

L'analyse de l'indice de condition des moules provenant du marché montre une répartition hétérogène entre les différentes classes de taux de remplissage. Il en ressort que la majorité des individus (59,16 %) possèdent un indice de condition supérieur ou égal à 22 %, témoignant d'un bon état physiologique et nutritionnel. Cette proportion élevée indique une population globalement saine, probablement issue d'un environnement favorable, avec une alimentation adéquate et une faible exposition au stress. En revanche, une part non négligeable de moules (30,89 %) présente un indice inférieur à 18 %, traduisant un état de santé déficient. Ces individus pourraient être affectés par des facteurs environnementaux défavorables, des carences nutritionnelles ou un stress physiologique. Les catégories intermédiaires (20-22 % et 18-20 %) ne regroupent qu'une faible proportion des individus (respectivement 5,24 % et 4,71 %), ce qui souligne un écart marqué entre les moules en très bonne condition et celles en mauvaise condition. Cette distribution hétérogène met en évidence une variabilité au sein du lot, méritant une attention particulière quant aux causes possibles de cette disparité.

En comparaison, les moules issues de la station d'élevage de Kouali présentaient un profil très homogène, avec 92,2 % des individus dans la catégorie 1 ($\geq 22\%$) (Figure III-4). Cette forte proportion témoigne d'une excellente qualité du lot, attribuée à l'absence de stress lié à l'élevage, à une gestion maîtrisée des conditions environnementales et à une récolte bien programmée durant la période optimale de croissance (Mazurié et Besse, 2003 ; Peharda et al., 2007).

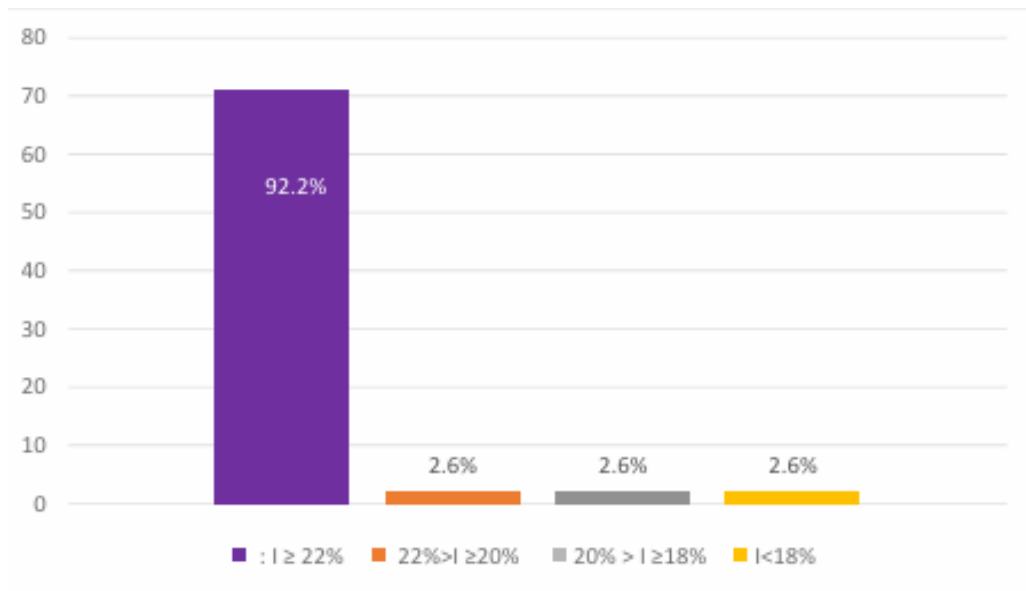


Figure 22: Histogramme des pourcentages des catégories de l'indice de condition du lot de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Latreche, H 2020)

En revanche, les moules issues du marché peuvent être confrontées à plusieurs contraintes post-récolte qui expliquent la présence d'individus dans les catégories inférieures (notamment la catégorie 4), notamment :

- Des conditions de transport et de stockage inadaptées, susceptibles d'entraîner une perte d'eau et une dégradation des tissus mous.
- Une origine inconnue ou variée des lots, avec des moules pouvant provenir de différentes zones de collecte, voire de moules sauvages soumises à des stress environnementaux (fluctuations de température, salinité, disponibilité de la nourriture).
- Un délai prolongé entre la récolte et la mise en marché, favorisant la perte de poids et l'altération de la qualité.

D'un point de vue physiologique, la faible proportion d'individus dans les catégories moyennes (20–22 % et 18–20 %) suggère une polarisation entre des individus en bon état et d'autres en état dégradé, sans grande transition. Cela pourrait être dû à une mauvaise homogénéité du lot, ce qui n'est pas le cas en élevage contrôlé où les conditions sont standardisées.

Selon Schneider (1992) et Pantea et al. (2020), l'indice de condition est étroitement lié à la température, à la salinité et à la nutrition, autant de facteurs instables dans un environnement naturel ou non maîtrisé. Ainsi, les moules du marché, bien que partiellement en bon état, montrent une variabilité de qualité qui traduit une moindre maîtrise des conditions de production et de distribution, contrairement à celles issues d'un élevage encadré.

3. Biomarqueur du stress oxydatifs

3.1. Dosage des protéines (kjedhal)

3.1.1. Minéralisation



Figure 23: virement de couleur en vert transparent dans la partie mineralisation.

- **Observation dans l'échantillon :** le mélange a initialement pris une couleur verte, typique de la présence du catalyseur. Cette couleur verte indique que la digestion était en cours. Après chauffage prolongé, la solution est devenue claire et transparente, ce qui confirme une digestion complète de la matière organique.

- **Observation dans le blanc** : (acide + catalyseur uniquement) : une coloration verte légère a également été observée au début, due uniquement au catalyseur. À la fin de la minéralisation, la solution est devenue claire, confirmant l'absence de matière organique.
- **Conclusion** : La digestion s'est bien déroulée dans les deux cas. Le passage du vert au transparent est le signe que tout l'azote organique présent dans l'échantillon a été converti en forme ammoniacale (NH_4^+), prête à être distillée

3.1.2. Distillation



Figure 24: changement de couleur au niveau de la distillation

- **Observation dans le blanc** : aucune variation de couleur n'a été observée, ce qui confirme l'absence d'azote ammoniacal dans le blanc. Il n'y a donc pas de contamination ni d'interférence.
- **Observation dans l'échantillon**: le récepteur a d'abord présenté une teinte rouge, puis a viré au bleu. Ce changement de couleur du réactif de piégeage indique la présence d'ammoniac distillé à partir de l'échantillon, donc la présence d'azote organique dans l'échantillon initial.
- **Conclusion**: la distillation a permis de libérer et capter l'ammoniac, preuve que l'échantillon contenait de l'azote d'origine organique.

3.1.3. Titrage

- Volume équivalent (V_e) = 0,04 ml
- Azote total calculé = 0,07 mg
- Protéines totales = $0,07 \times 6,25 = 0,4375$ mg

➤ **Conclusion :** Le faible volume de soude nécessaire au titrage (0,04 mL) correspond à une faible teneur en azote dans l'échantillon, ce qui donne, après conversion, une teneur en protéines de 0,4375 mg. Ce résultat peut être influencé par la nature de l'échantillon, son origine (moules du marché), ou une faible quantité de matière analysée.

4. Dosage de l'activité catalase

Table 4: Resultats du suivi de l'activite cat en presence du peroxyde d'hydrogene (H_2O_2) durant 3 min.

Temps(s)	T0	T30	T60	T90	T120	T150	T180
Do (nm)	0,011	0,022	0,006	0,009	0,017	0,009	0,013

$$\text{Activité catalase (nmole.min}^{-1}\text{.mg}^{-1}) = (\Delta \text{ DO} / \text{mn} \times 1000) / (\epsilon \times V \times P)$$

$$\Delta \text{ DO} / \text{min} = \text{DO à T0s} - \text{DO à T60s} = 0,011 - 0,006 = 0,005$$

$$\text{Activité catalase (nmole.min}^{-1}\text{.mg}^{-1}) = 0,28 \text{ nmole.min}^{-1}\text{.mg}^{-1}$$

L'évaluation de la qualité du milieu aquatique peut se faire à l'aide de plusieurs biomarqueurs écotoxicologiques. Dans notre étude, nous avons choisi de nous focaliser uniquement sur un biomarqueur : le stress oxydatif, mesuré à travers l'activité de la catalase (CAT) chez la moule *Mytilus galloprovincialis*. Cette espèce est particulièrement adaptée aux études écotoxicologiques en raison de sa forte capacité à bioaccumuler les métaux lourds, qui sont reconnus comme inducteurs de stress oxydatif (Dellali et al., 2004). Elle peut en outre moduler sa réponse antioxydante face à la pollution (Aloisio Torres et al., 2002).

Dans notre étude, l'analyse de l'activité de la catalase (CAT) dans la fraction S9 de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* a révélé une valeur très faible (0,28 nmol/min/mg de protéines), ce qui traduit une réponse antioxydante limitée. Ce résultat contraste nettement avec les données rapportées dans d'autres travaux. Par exemple, Regoli et Orlando (1998) ont observé une activité CAT nettement plus élevée dans les glandes digestives et les branchies de *Mytilus galloprovincialis* prélevées en zones portuaires polluées. De même, Attig et al. (2010) ont rapporté une induction significative de la CAT chez cette même espèce, exposée expérimentalement au nickel, mettant en évidence sa sensibilité au stress métallique. Par ailleurs, Khessiba et al. (2005) ont montré que l'exposition combinée au lindane et à des facteurs abiotiques (température et salinité) entraînait une forte augmentation de l'activité CAT, confirmant que cette enzyme constitue un bon indicateur du stress oxydatif en conditions environnementales complexes. (**Table 5**)

Table 5: Comparaison de la valeur de l'activité CAT chez *Mytilus galloprovincialis* dans différentes conditions expérimentales et environnementales.

Étude	Conditions d'exposition	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéines)
Notre étude (2025)	Moules élevées (origine marché), littoral algérien	$2,8 \times 10^{-4}$
Regoli & Orlando (1998)	Moules sauvages, zone portuaire polluée (Italie)	~150
Attig et al. (2014)	Exposition expérimentale au nickel (2,5–13 μM)	50–120
Khessiba et al. (2005)	Exposition au lindane + stress thermique/salinité	80–200

La catalase est une enzyme clé impliquée dans la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un composé réactif produit en réponse à divers agents polluants.

Une activité aussi réduite (0,28 nmol/min/mg de protéines) indique que les moules n'ont probablement pas été exposées à des niveaux significatifs de stress environnemental (Kourdali et al., 2020).

Dans la littérature, une augmentation marquée de l'activité CAT est généralement rapportée en conditions de pollution ou d'exposition à des métaux lourds, comme le montrent les travaux de Regoli & Orlando (1998), Attig et al. (2010) et Khessiba et al. (2005).

Par contraste, notre résultat suggère que les moules étudiées proviennent d'un environnement aquatique relativement sain, avec une charge polluante faible, ce qui pourrait également favoriser une meilleure nutrition et une stabilité physiologique.

Par ailleurs, l'échantillonnage ayant eu lieu en avril, période de transition entre l'hiver et les pics d'activités touristiques ou industrielles estivales, il est possible que la pression anthropique sur le milieu marin ait été encore modérée. Cela pourrait expliquer l'absence d'activation marquée du système antioxydant chez les moules. Néanmoins, il est important de souligner que ce résultat reste ponctuel et pourrait ne pas refléter l'état général du milieu à d'autres périodes de l'année. Une approche saisonnière ou annuelle serait nécessaire pour évaluer plus finement la variabilité de l'activité CAT et son lien avec les conditions environnementales.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'analyse écotoxicologique menée sur *Mytilus galloprovincialis* issu du marché algérien a permis de mettre en évidence plusieurs éléments révélateurs de la qualité environnementale et de l'état physiologique des individus.

Les résultats biométriques indiquent que la majorité des moules respecte les normes commerciales (classe 50–60 mm), ce qui témoigne d'un certain respect des critères de taille minimale de récolte. Toutefois, l'indice de condition a montré une hétérogénéité au sein du lot, avec une proportion notable d'individus présentant un état de chair faible, traduisant une possibilité d'une dégradation post-capture.

Par ailleurs, l'activité catalase (CAT), un biomarqueur majeur du stress oxydatif, présente une valeur très basse ($0,28 \text{ nmole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$), bien inférieure aux niveaux attendus en cas d'exposition à des stress environnementaux. Ces résultats peuvent traduire soit une faible exposition aux polluants oxydants, soit une altération des tissus due à un long délai entre la récolte et l'analyse, ou encore à des conditions de stockage inadaptées.

En l'absence de traçabilité précise des moules issues du marché, l'interprétation des résultats reste limitée. Cette variabilité qualitative suggère une origine multiple des échantillons, avec une exposition différenciée à divers facteurs environnementaux

Perspectives

- **Renforcement de la traçabilité des moules commercialisées:** Il est indispensable que les pêcheurs et distributeurs puissent garantir l'origine géographique et environnementale des lots, afin de limiter la variabilité et de mieux interpréter les résultats écotoxicologiques.
- **Mise en place de contrôles sanitaires et biochimiques préalables à la vente :** La détection d'individus en mauvais état physiologique et de faibles teneurs protéiques suggère la nécessité de soumettre les moules à des analyses de routine avant leur exposition au marché, pour assurer la sécurité du consommateur et la qualité nutritionnelle des produits.
- **Sensibilisation des pêcheurs à la qualité des zones de prélèvement :** Ces derniers devraient être informés de l'importance d'éviter les zones polluées ou non surveillées, car

Conclusion et perspectives

elles peuvent affecter directement la physiologie des organismes et nuire à leur valeur commerciale.

- **Perspectives de biosurveillance environnementale** : L'utilisation de *Mytilus galloprovincialis* comme bioindicateur reste pertinente. Cependant, pour affiner les diagnostics écotoxicologiques, il serait opportun d'inclure d'autres biomarqueurs (neurotoxicité, génotoxicité) et de travailler avec des échantillons d'origine connue (zones littorales suivies, élevages contrôlés).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Attig, h., kamel, n., bouhaouala-zahar, b., & banni, m. (2010). Nickel-induced oxidative stress and histopathological alterations in *mytilus galloprovincialis*. *Journal of environmental science and health, part a*, 45(11), p.p.1430–1439.

<https://doi.org/10.1080/10934529.2010.500836>

Benzaoui, m. Y. (2010). Mesure du stress sur la moule *mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) de la baie de kristel (est oranais) [these de doctorat. Biologie. Oran: université d'oran].

Bolognesi, c., perrone, e., roggieri, p., pampanin, d. M., & sciutto, a. (2004). Bioindicators in monitoring long term effects of marine pollution. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 552(1–2), p.p.165–175.

Boulila, a., ben salem, s., & hamza, a. (2014). Etude de la croissance de la moule *mytilus galloprovincialis* dans le golfe de tunis. *Bulletin de l'institut national des sciences et technologies de la mer*, 41, p.p.63–72.

Cecile, m. (2011). Introduction a l'ecotoxicologie : contaminants et toxicite chez les organismes aquatiques. Paris : dunod.

Commission europeenne. (1996). Reglement (ce) n° 2406/96 de la commission du 26 novembre 1996 definissant les normes communes de commercialisation pour certains produits de la peche. *Journal officiel des communautés europeennes*. [en ligne].[consulte le 01/04/2025]. Disponible sur le web : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/fr/txt/?uri=celex%3a31996r2406>

Claiborne, a. (1985). Catalase activity. In r. A. Greenwald (ed.), *handbook of methods for oxygen radical research* (pp. 283–284). Crc press.

Dimech, m., darmanin, m., caruana, r., & sammut, m. (2009). Biology and population structure of *mytilus galloprovincialis* in maltese coastal waters. *Journal of the marine biological association of the united kingdom*, 89(2), p.p. 361–366.

Froese, r. (2006). Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of applied ichthyology*, 22(4), p.p. 241–253.

Références bibliographiques

- Galloway, t. S., & handy, r. D. (2006).** Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology*, 12(1–4), p.p. 345–363.
- Garric, j., vollat, b., & montuelle, b. (2010).** Biomarqueurs et bioessais pour l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques : concepts et applications. *Revue des sciences de l'eau*, 23(1), p.p. 3–15.
- Grove, s. J., & de little, r. (2020).** *Mytilus galloprovincialis*. In molluscs of Tasmania. Tasmanian museum and art gallery. [en ligne].[consulte le 14 juin 2025]. Sur le site web : <https://molluscsoftasmania.org.au/project/mytilus-galloprovincialis/>
- Ifremer. (2018).** La moule commune : *mytilus edulis* / *mytilus galloprovincialis*. Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer. [en ligne].[consulte le 16 juin 2025]. Disponible sur le site web : <https://wwz.ifremer.fr>
- Khessiba, a., banni, m., & ben-hassen, r. (2005).** Combined effects of temperature, salinity and lindane on antioxidant defense system and lipid peroxidation biomarkers in *mytilus galloprovincialis*. *Environmental pollution*, 135(1), p.p. 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.10.017>
- Kourdali, s., amara, r., & meziane, t. (2020).** Contaminants chimiques et leurs effets biologiques sur la faune marine de la méditerranée sud-occidentale. *Marine pollution bulletin*, p.p. 111-379.
- Laouar, i., lakehal, k., & boulasbeh, m. (2021).** L'impact du stress oxydatif sur la maladie d'alzheimer [mémoire de fin d'études, biologie, constantine : université frères mentouri constantine 1]. <https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2021/1%e2%80%99impact%20du%20stress%20oxydatif%20sur%20la%20maladie%20d%e2%80%99alzheimer.pdf>
- Lartaud, f., de rafelis, m., ropert, m., emmanuel, l., geairon, p., & renard, m. (2010).** Mn labelling of living bivalves: a tool for understanding biomineralization processes and estimating field growth rates. *Journal of shellfish research*, 29(2), p.p. 409–417. <https://doi.org/10.2983/035.029.0220>
- Mazurié, j., & besse, j.-p. (2003).** Interprétation hollandaise des taux de remplissage des moules.

Références bibliographiques

- Mejdoub, m., zakhama, r., & el abed, a. (2017).** Impact des activites anthropiques sur les ecosystemes marins cotiers. *Journal of environmental studies*, 45(2), p.p. 55–64.
- Pantea, e., et al. (2020).** Relation entre l'environnement et les indices biometriques des moules.
- Pechenik, j. A. (2015).** *Biology of the invertebrates* (7th ed.). McGraw-hill education.
- Peharda, m., et al. (2007).** Effets de l'environnement sur la croissance des moules.
- Peters, a., depledge, m. H., &svendsen, c. (1997).** Ecotoxicology: a science of the future. *Environmental health perspectives*, 105(suppl 4), p.p. 1337–1341.
- Regoli, f., & Orlando, e. (1998).** Seasonal variability of oxidative biomarkers in the digestive gland of *mytilus galloprovincialis* from a polluted site. *Marine environmental research*, 45(4–5), p.p. 291–300. [https://doi.org/10.1016/s0141-1136\(97\)00034-9](https://doi.org/10.1016/s0141-1136(97)00034-9)
- Roméo, m., bennani, n., gnassia-barelli, m., lafaurie, m., & girard, j. P. (2005).** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *dicentrarchus labrax*. *Aquatic toxicology*, 73(3), p.p. 201–210.
- Schneider, d. (1992).** Influence de la temperature et de la nutrition sur l'indice de condition.
- Seed, r., &suchanek, t. H. (1992).** Population and community ecology of *mytilus*. In e. Gosling (ed.), *the mussel mytilus: ecology, physiology, genetics and culture* (pp. 87–169). London: elsevier.
- Wade, t. L., sweet, s. T., Presley, b. J., & brooks, j. M. (1998).** Mussel watch: monitoring trace metal and organic contaminants in u.s. Coastal waters. *Environmental monitoring and assessment*, 51(1–2), p.p. 423–430.
- Yusof, a. M., yanta, n. F., & wood, a. K. H. (2004).** The use of *anadara granosa* for monitoring heavy metals contamination in estuarine environments. *Science of the total environment*, 324(1–3), p.p. 139–152.

ANNEXES

ANNEXES

ECH	longueur	largeur	Epaisseur	Poids T	Poids de la chair	IC	LoG LT	Log PT
1	68	31	28	14.7	3.8	25.85	1.83	1.17
2	67	35	21	13.4	5	37.31	1.83	1.13
3	68	36	22	14.8	5.1	34.46	1.83	1.17
4	81	43	28	25.3	7.9	31.23	1.91	1.40
5	61	30	23	12.2	4	32.79	1.79	1.09
6	74	39	35	20.7	7	33.82	1.87	1.32
7	73	40	26	19.5	5	25.64	1.86	1.29
8	62	34	23	13.1	4.3	32.82	1.79	1.12
9	58	38	22	8.4	2.7	32.14	1.76	0.92
10	65	32	24	9.7	2.2	22.68	1.81	0.99
11	36	20	13	3.5	0.2	5.71	1.56	0.54
12	61	31	23	9.8	3.3	33.67	1.79	0.99
13	76	37	24	7.1	4.8	67.61	1.88	0.85
14	59	32	19	10	3.2	32.00	1.77	1.00
15	55	28	22	9.5	3	31.58	1.74	0.98
16	55	30	20	7.6	2.2	28.95	1.74	0.88
17	63	33	24	11	3.6	32.73	1.80	1.04
18	63	34	23	15.4	5.2	33.77	1.80	1.19
19	61	34	20	9.8	4.1	41.84	1.79	0.99
20	41	22	15	3.6	1	27.78	1.61	0.56

Annexes

21	62	31	24	11.1	3.3	29.73	1.79	1.05
22	60	31	22	10.9	2.6	23.85	1.78	1.04
23	75	35	28	19.6	6.7	34.18	1.88	1.29
24	57	30	20	8.9	3	33.71	1.76	0.95
25	65	32	18	14.3	4.9	34.27	1.81	1.16
26	59	32	21	21.3	4.4	20.66	1.77	1.33
27	75	38	27	17.9	6	33.52	1.88	1.25
28	67	37	24	15.2	3.9	25.66	1.83	1.18
29	60	30	20	10	3	30.00	1.78	1.00
30	68	37	26	12.6	4.2	33.33	1.83	1.10
31	53	32	17	8.1	2.5	30.86	1.72	0.91
32	55	29	19	10.3	2.5	24.27	1.74	1.01
33	65	33	21	12	3.9	32.50	1.81	1.08
34	67	33	21	15.7	5	31.85	1.83	1.20
35	54	28	17	6.4	2.1	32.81	1.73	0.81
36	63	40	23	13.1	4.8	36.64	1.80	1.12
37	62	28	22	10	3.3	33.00	1.79	1.00
38	66	31	31	9.9	3.4	34.34	1.82	1.00
39	65	33	22	12.3	3.5	28.46	1.81	1.09
40	64	36	22	13.9	4.7	33.81	1.81	1.14
41	69	38	22	19.7	6.8	34.52	1.84	1.29
42	66	31	23	10.1	3	29.70	1.82	1.00
43	66	33	20	12.5	3.6	28.80	1.82	1.10

Annexes

44	61	31	21	8.1	2.7	33.33	1.79	0.91
45	59	27	24	9.5	1.9	20.00	1.77	0.98
46	41	23	11	4.8	1	20.83	1.61	0.68
47	67	33	27	11.1	3.5	31.53	1.83	1.05
48	64	32	20	12	4.4	36.67	1.81	1.08
49	62	33	21	11	3.8	34.55	1.79	1.04
50	61	31	18	12	3.1	25.83	1.79	1.08
51	60	31	21	11.8	5	42.37	1.78	1.07
52	61	31	18	11	3.5	31.82	1.79	1.04
53	65	32	26	11.7	4.6	39.32	1.81	1.07
54	62	31	19	10.8	3.9	36.11	1.79	1.03
55	70	34	23	12.5	3.7	29.60	1.85	1.10
56	67	36	23	12.2	3.7	30.33	1.83	1.09
57	68	35	20	13.2	4.4	33.33	1.83	1.12
58	61	31	24	12.6	4.4	34.92	1.79	1.10
59	62	35	18	7.9	2.5	31.65	1.79	0.90
60	57	29	22	12.1	2.9	23.97	1.76	1.08
61	61	30	20	12	2.6	21.67	1.79	1.08
62	64	31	26	10.8	3.8	35.19	1.81	1.03
63	65	32	21	9.5	3.7	38.95	1.81	0.98
64	61	33	21	11.9	3.9	32.77	1.79	1.08
65	61	30	20	10.6	3.5	33.02	1.79	1.03
66	65	36	22	24.3	9.2	37.86	1.81	1.39

Annexes

67	52	26	20	7.4	1.9	25.68	1.72	0.87
68	57	27	23	8	2.7	33.75	1.76	0.90
69	51	23	19	4.5	1.4	31.11	1.71	0.65
70	71	40	24	13.2	4.7	35.61	1.85	1.12
71	65	39	24	12.4	4.6	37.10	1.81	1.09
72	70	35	22	9.4	3.2	34.04	1.85	0.97
73	41	23	13	3.4	1	29.41	1.61	0.53
74	73	39	24	14.5	5	34.48	1.86	1.16
75	58	28	20	6.8	2.6	38.24	1.76	0.83
76	61	30	23	12.3	4.3	34.96	1.79	1.09
77	51	27	23	6.3	1.4	22.22	1.71	0.80
78	54	31	20	7.5	2.8	37.33	1.73	0.88
79	56	31	24	8.5	2.7	31.76	1.75	0.93
80	58	30	22	8.1	2.5	30.86	1.76	0.91
81	64	32	24	11.4	4	35.09	1.81	1.06
82	66	37	23	13.6	4.5	33.09	1.82	1.13
83	74	39	28	17.1	5.1	29.82	1.87	1.23
84	64	33	24	11.6	3.7	31.90	1.81	1.06
85	66	36	24	14.2	4.4	30.99	1.82	1.15
86	59	30	25	11.4	3.4	29.82	1.77	1.06
87	65	33	23	11.5	3.6	31.30	1.81	1.06
88	52	27	20	7.4	2.1	28.38	1.72	0.87
89	55	35	25	12.3	4.1	33.33	1.74	1.09

Annexes

90	66	31	24	12.9	4.2	32.56	1.82	1.11
91	57	30	23	9.9	3.3	33.33	1.76	1.00
92	65	31	25	18.9	5.1	26.98	1.81	1.28
93	66	38	23	12.9	4.7	36.43	1.82	1.11
94	56	30	22	9.6	3	31.25	1.75	0.98
95	54	28	20	16.4	2.1	12.80	1.73	1.21
96	52	28	17	16.2	2.2	13.58	1.72	1.21
97	63	35	26	16.2	4.7	29.01	1.80	1.21
98	59	27	22	8.1	2.6	32.10	1.77	0.91
99	63	33	21	13.7	4.4	32.12	1.80	1.14
100	55	31	17	8.8	2.7	30.68	1.74	0.94
101	71	36	29	14.9	4.8	32.21	1.85	1.17
102	62	33	23	12.2	4.4	36.07	1.79	1.09
103	55	29	22	7.2	1.9	26.39	1.74	0.86
104	62	27	23	6.6	2	30.30	1.79	0.82
105	37	19	13	3.3	1	30.30	1.57	0.52
106	32	18	12	2.7	0.5	18.52	1.51	0.43
107	36	223	14	2.9	0.8	27.59	1.56	0.46
108	34	21	13	2.7	0.8	29.63	1.53	0.43
109	43	23	15	4.7	1.1	23.40	1.63	0.67
110	45	26	17	5.7	1.9	33.33	1.65	0.76
111	33	18	14	2.7	0.6	22.22	1.52	0.43
112	28	15	10	1.9	0.5	26.32	1.45	0.28

Annexes

113	51	28	20	10.8	2.4	22.22	1.71	1.03
114	49	23	18	5.8	1.5	25.86	1.69	0.76
115	64	35	22	12.9	4	31.01	1.81	1.11
116	61	31	22	12.2	4	32.79	1.79	1.09
117	59	29	29	8.7	3.1	35.63	1.77	0.94
118	56	26	20	16	2.4	15.00	1.75	1.20
119	68	35	24	13	4.5	34.62	1.83	1.11
120	63	32	22	11.6	4.7	40.52	1.80	1.06
121	63	35	21	14.7	3.7	25.17	1.80	1.17
122	65	32	22	9.9	3.6	36.36	1.81	1.00
123	59	31	20	11.4	3.6	31.58	1.77	1.06
124	33	28	11	2.7	0.5	18.52	1.52	0.43
125	48	26	15	5.7	1.7	29.82	1.68	0.76
126	69	35	23	14.5	4.7	32.41	1.84	1.16
127	44	23	15	5.5	0.8	14.55	1.64	0.74
128	57	29	21	8.6	3	34.88	1.76	0.93
129	62	30	22	13.4	3.3	24.63	1.79	1.13
130	49	25	20	6.1	2.1	34.43	1.69	0.79
131	67	38	24	13.9	4.2	30.22	1.83	1.14
132	65	33	21	11.8	4.1	34.75	1.81	1.07
133	61	30	23	11.8	3.5	29.66	1.79	1.07
134	54	30	23	8.6	1.8	20.93	1.73	0.93
135	79	31	36	13.4	3.6	26.87	1.90	1.13

Annexes

136	63	35	23	12.6	3.5	27.78	1.80	1.10
137	45	22	18	4.7	0.4	8.51	1.65	0.67
138	58	32	22	9.7	2.6	26.80	1.76	0.99
139	49	26	16	6.1	1.8	29.51	1.69	0.79
140	70	39	27	16.4	4.6	28.05	1.85	1.21
141	54	29	21	9.4	2.7	28.72	1.73	0.97
142	67	33	25	16.4	4.1	25.00	1.83	1.21
143	33	20	11	2.3	0.3	13.04	1.52	0.36
144	60	33	22	11.5	3.5	30.43	1.78	1.06
145	60	32	20	11	3.2	29.09	1.78	1.04
146	39	20	17	4	1.2	30.00	1.59	0.60
147	67	36	26	12.2	3.3	27.05	1.83	1.09
148	20	12	6	0.5	0.1	20.00	1.30	-0.30
149	42	22	17	4.2	0.9	21.43	1.62	0.62
150	31	16	10	1.2	0.1	8.33	1.49	0.08
151	36	18	16	3.4	1.9	55.88	1.56	0.53
152	58	30	24	7.2	2.8	38.89	1.76	0.86
153	61	31	23	8.9	2	22.47	1.79	0.95
154	52	27	21	8.6	2.2	25.58	1.72	0.93
155	36	20	18	2.2	0.2	9.09	1.56	0.34
156	31	17	11	1.6	0.2	12.50	1.49	0.20
157	27	14	12	1.6	0.1	6.25	1.43	0.20
158	55	28	22	8.7	2.2	25.29	1.74	0.94

Annexes

159	58	29	25	7.7	2	25.97	1.76	0.89
160	41	23	16	4.3	0.9	20.93	1.61	0.63
161	62	30	21	10.7	3.2	29.91	1.79	1.03
162	59	31	22	11.3	3.8	33.63	1.77	1.05
163	31	15	11	1.6	2	125.00	1.49	0.20
164	28	14	11	1.8	0.4	22.22	1.45	0.26
165	53	28	21	8	2	25.00	1.72	0.90
166	32	19	11	2.1	0.4	19.05	1.51	0.32
167	53	27	18	5.7	1	17.54	1.72	0.76
168	56	30	29	8.8	2.1	23.86	1.75	0.94
169	57	31	20	9.2	2.5	27.17	1.76	0.96
170	53	26	20	7.7	2.6	33.77	1.72	0.89
171	49	29	18	4.9	1.2	24.49	1.69	0.69
172	48	27	15	4.9	1.2	24.49	1.68	0.69
173	57	31	17	9.9	2.4	24.24	1.76	1.00
174	54	27	20	6.5	1.8	27.69	1.73	0.81
175	64	31	23	10.6	2.5	23.58	1.81	1.03
176	63	31	26	14.2	2.8	19.72	1.80	1.15
177	33	16	12	2.1	0.3	14.29	1.52	0.32
178	52	29	17	6.6	2.1	31.82	1.72	0.82
179	69	37	28	12.3	3.3	26.83	1.84	1.09
180	35	19	13	3	0.6	20.00	1.54	0.48
181	48	23	16	4.8	2.3	47.92	1.68	0.68

Annexes

182	58	31	19	11	3.8	34.55	1.76	1.04
183	49	25	19	6.6	1.5	22.73	1.69	0.82
184	60	30	24	10.1	2.6	25.74	1.78	1.00
185	52	27	17	12.1	2.1	17.36	1.72	1.08
186	50	27	17	7.8	2	25.64	1.70	0.89
187	59	29	21	9.5	3.4	35.79	1.77	0.98
188	56	27	20	11.6	3.1	26.72	1.75	1.06
189	39	22	12	3.6	0.9	25.00	1.59	0.56
190	64	29	24	12	4.2	35.00	1.81	1.08
191	52	26	18	6.7	1.9	28.36	1.72	0.83
192	65	35	22	11.8	3.9	33.05	1.81	1.07
193	57	32	22	8.7	2.4	27.59	1.76	0.94
194	47	23	17	4.2	1	23.81	1.67	0.62
195	58	27	22	7.2	1.7	23.61	1.76	0.86
196	50	27	19	7	1.5	21.43	1.70	0.85
197	55	28	24	9.2	3.2	34.78	1.74	0.96
198	54	31	20	8.5	2.6	30.59	1.73	0.93
199	48	23	17	3.8	0.9	23.68	1.68	0.58
200	66	31	26	12.1	3.8	31.40	1.82	1.08
201	42	26	15	5.1	1.3	25.49	1.62	0.71
202	58	27	22	7.4	2	27.03	1.76	0.87
203	28	16	11	2.1	0.5	23.81	1.45	0.32
204	47	22	17	4	1	25.00	1.67	0.60

Annexes

205	59	31	25	9.6	3.4	35.42	1.77	0.98
206	26	14	10	1.2	0.3	25.00	1.41	0.08
207	64	31	22	11.3	2.8	24.78	1.81	1.05
208	65	29	25	9.8	3.2	32.65	1.81	0.99
209	67	34	21	15.3	3.6	23.53	1.83	1.18
210	51	24	16	6.8	2.2	32.35	1.71	0.83
211	65	32	24	15.5	4.9	31.61	1.81	1.19
212	47	24	18	5.3	1.1	20.75	1.67	0.72
213	59	30	19	8.1	2	24.69	1.77	0.91
214	57	32	17	12.1	3.4	28.10	1.76	1.08
215	52	24	16	5.5	2.2	40.00	1.72	0.74
216	59	32	20	11.1	3.4	30.63	1.77	1.05
217	63	31	22	12.1	3.6	29.75	1.80	1.08
218	52	29	19	8.9	2.5	28.09	1.72	0.95
219	60	30	22	12.1	3.3	27.27	1.78	1.08
220	42	21	16	4.6	1.2	26.09	1.62	0.66
221	40	21	14	4.6	0.9	19.57	1.60	0.66
222	53	31	18	7.2	1.7	23.61	1.72	0.86
223	65	34	25	11.5	2.6	22.61	1.81	1.06
224	60	33	22	10.2	2.6	25.49	1.78	1.01
225	41	22	14	4.1	1.1	26.83	1.61	0.61
226	56	29	20	7.7	2.4	31.17	1.75	0.89
227	55	30	20	9	2.6	28.89	1.74	0.95

Annexes

228	57	30	20	9.7	3.3	34.02	1.76	0.99
229	55	29	21	8.6	2.8	32.56	1.74	0.93
230	59	28	22	9.7	2.7	27.84	1.77	0.99
231	57	29	20	7	2.3	32.86	1.76	0.85
232	31	17	11	2	2.3	115.00	1.49	0.30
233	45	23	19	5.4	1	18.52	1.65	0.73
234	65	32	22	12.7	3	23.62	1.81	1.10
235	48	29	19	7.8	1.9	24.36	1.68	0.89
236	28	15	11	2.1	0.3	14.29	1.45	0.32
237	62	30	24	9.1	2.8	30.77	1.79	0.96
238	64	30	26	11.3	2.8	24.78	1.81	1.05
239	69	36	27	13.5	3.8	28.15	1.84	1.13
240	60	32	24	8.9	2.3	25.84	1.78	0.95
241	30	19	10	1.7	0.3	17.65	1.48	0.23
242	45	26	19	4.9	1.5	30.61	1.65	0.69
243	49	27	18	5.1	1.6	31.37	1.69	0.71
244	30	16	11	1.8	0.2	11.11	1.48	0.26
245	39	22	15	3.9	0.5	12.82	1.59	0.59
246	25	13	8	1.1	0.1	9.09	1.40	0.04
247	68	37	23	11.5	3.9	33.91	1.83	1.06
248	60	31	19	6.4	1.5	23.44	1.78	0.81
249	58	30	19	11.2	2.3	20.54	1.76	1.05
250	69	34	22	11.3	4.3	38.05	1.84	1.05

Annexes

251	73	37	27	14	4.4	31.43	1.86	1.15
252	52	26	20	6.7	2.5	37.31	1.72	0.83
253	60	30	18	11.1	3.8	34.23	1.78	1.05
254	63	31	20	9.3	2.7	29.03	1.80	0.97
255	63	32	21	14.1	3.5	24.82	1.80	1.15
256	65	42	23	14.3	5.4	37.76	1.81	1.16
257	69	32	23	12.3	3.9	31.71	1.84	1.09
258	75	34	28	12.5	3.7	29.60	1.88	1.10
259	72	40	24	15.3	6	39.22	1.86	1.18
260	72	37	25	16.5	6.1	36.97	1.86	1.22
261	48	26	17	6.1	1.7	27.87	1.68	0.79
262	68	34	24	11.6	3.6	31.03	1.83	1.06
263	57	22	19	7.5	2.2	29.33	1.76	0.88
264	60	30	20	11.8	4	33.90	1.78	1.07
265	61	29	19	11.1	3.1	27.93	1.79	1.05
266	60	33	22	11.6	3.9	33.62	1.78	1.06
267	62	29	21	12.4	3.3	26.61	1.79	1.09
268	62	31	21	11.9	4.4	36.97	1.79	1.08
269	47	24	16	5.8	1.8	31.03	1.67	0.76
270	51	42	27	18.8	6.2	32.98	1.71	1.27
271	54	26	17	7.6	1.7	22.37	1.73	0.88
272	57	30	20	10.1	3.5	34.65	1.76	1.00
273	68	36	22	12.9	3.7	28.68	1.83	1.11

Annexes

274	70	35	23	16.9	5.4	31.95	1.85	1.23
275	70	38	22	18.5	8.5	45.95	1.85	1.27
276	72	36	25	17.7	6.6	37.29	1.86	1.25
277	75	33	25	12.9	3.6	27.91	1.88	1.11
278	52	29	20	5.7	1.4	24.56	1.72	0.76
279	70	35	27	12.9	3.2	24.81	1.85	1.11
280	50	30	17	7.8	2.5	32.05	1.70	0.89
281	62	33	25	12.6	4.1	32.54	1.79	1.10
282	61	35	26	12.4	3.4	27.42	1.79	1.09
283	61	40	20	11.9	4	33.61	1.79	1.08
284	59	31	17	9.1	3.2	35.16	1.77	0.96
285	69	34	27	13	4.2	32.31	1.84	1.11
286	59	31	25	11.1	3.2	28.83	1.77	1.05
287	61	33	20	11.7	3.5	29.91	1.79	1.07
288	70	36	28	14.1	3.9	27.66	1.85	1.15
289	68	33	32	15.4	3.8	24.68	1.83	1.19
290	58	29	20	7.9	2.4	30.38	1.76	0.90
291	79	39	29	19.2	6.3	32.81	1.90	1.28
292	68	34	26	12.1	4	33.06	1.83	1.08
293	64	30	22	10.9	2.5	22.94	1.81	1.04
294	69	31	24	12.6	3.3	26.19	1.84	1.10
295	73	42	27	16.7	5.1	30.54	1.86	1.22
296	59	29	21	9.3	3	32.26	1.77	0.97

Annexes

297	60	27	23	10.1	3	29.70	1.78	1.00
298	56	29	20	7.3	1.9	26.03	1.75	0.86
299	57	28	19	7.8	2.4	30.77	1.76	0.89
300	62	32	21	12.7	3.7	29.13	1.79	1.10
301	71	38	24	17.9	6.3	35.20	1.85	1.25
302	62	30	26	6.6	1.2	18.18	1.79	0.82
303	65	32	24	11.6	3.6	31.03	1.81	1.06
304	81	37	32	23.3	7.9	33.91	1.91	1.37
305	68	34	23	15.6	4.4	28.21	1.83	1.19
306	60	32	22	8.3	2.6	31.33	1.78	0.92
307	67	32	26	10.7	3.3	30.84	1.83	1.03
308	56	22	23	9.5	2.2	23.16	1.75	0.98
309	60	28	23	8.2	2.4	29.27	1.78	0.91
310	60	31	22	10.1	2.9	28.71	1.78	1.00
311	64	30	24	10.7	2.2	20.56	1.81	1.03
312	66	34	26	14.1	3.8	26.95	1.82	1.15
313	56	29	22	7.8	2.3	29.49	1.75	0.89
314	65	30	26	10.9	2.9	26.61	1.81	1.04
315	55	29	20	9.6	2.2	22.92	1.74	0.98
316	70	35	26	13.7	3.8	27.74	1.85	1.14
317	73	39	30	14.4	4.4	30.56	1.86	1.16
318	65	31	22	9.8	2.2	22.45	1.81	0.99
319	63	27	26	10	3.4	34.00	1.80	1.00

Annexes

320	55	30	20	8.1	2.6	32.10	1.74	0.91
321	59	30	22	9.7	2.9	29.90	1.77	0.99
322	70	33	26	14.1	4.2	29.79	1.85	1.15
323	54	30	24	8.4	1.9	22.62	1.73	0.92
324	72	39	26	14.8	4.3	29.05	1.86	1.17
325	59	27	24	9.2	3.2	34.78	1.77	0.96
326	55	30	20	8.5	2.9	34.12	1.74	0.93
327	68	33	26	10.3	2.6	25.24	1.83	1.01
328	60	30	23	9.9	4.1	41.41	1.78	1.00
329	61	31	23	10.6	3.6	33.96	1.79	1.03
330	60	26	23	7.7	2.6	33.77	1.78	0.89
331	58	30	22	7.3	2.4	32.88	1.76	0.86
332	55	26	33	7.3	2	27.40	1.74	0.86
333	70	32	27	15.1	4.8	31.79	1.85	1.18
334	70	37	30	15.5	4.5	29.03	1.85	1.19
335	55	25	22	10.2	2.1	20.59	1.74	1.01
336	52	23	20	8	2	25.00	1.72	0.90
337	55	27	22	8	2.3	28.75	1.74	0.90
338	48	23	21	6	1	16.67	1.68	0.78
339	60	30	22	8.9	2.7	30.34	1.78	0.95
340	53	27	20	7.2	1.2	16.67	1.72	0.86
341	62	27	30	8.6	2.2	25.58	1.79	0.93
342	46	25	19	6.5	1.4	21.54	1.66	0.81

Annexes

343	51	25	21	7.5	1.6	21.33	1.71	0.88
344	55	27	20	8	2.7	33.75	1.74	0.90
345	60	27	23	7.6	2.5	32.89	1.78	0.88
346	69	33	26	12.5	4.6	36.80	1.84	1.10
347	55	27	20	7.5	2	26.67	1.74	0.88
348	61	31	25	10.5	3.2	30.48	1.79	1.02
349	50	26	20	6.3	1.1	17.46	1.70	0.80
350	51	25	20	6	0.8	13.33	1.71	0.78
351	45	26	17	6.4	1.9	29.69	1.65	0.81
352	43	22	14	5.9	0.8	13.56	1.63	0.77
353	50	26	20	6.6	2.1	31.82	1.70	0.82
354	45	23	17	4.1	0.8	19.51	1.65	0.61
355	59	26	24	8.5	1.9	22.35	1.77	0.93
356	551	25	20	7	2	28.57	2.74	0.85
357	44	23	16	4.5	0.8	17.78	1.64	0.65
358	46	27	19	4.7	1.2	25.53	1.66	0.67
359	45	22	16	4.1	0.5	12.20	1.65	0.61
360	42	20	19	5.1	1	19.61	1.62	0.71
361	47	23	19	5.5	2	36.36	1.67	0.74
362	35	20	16	3.7	1	27.03	1.54	0.57
363	33	19	15	2.2	0.4	18.18	1.52	0.34
364	39	21	13	3.2	0.8	25.00	1.59	0.51
365	37	17	11	2.3	0.6	26.09	1.57	0.36

Annexes

366	46	21	14	4	1.1	27.50	1.66	0.60
367	38	20	13	2.9	0.7	24.14	1.58	0.46
368	32	18	12	2.2	0.3	13.64	1.51	0.34
369	40	19	16	3.1	0.5	16.13	1.60	0.49
370	38	20	12	2.6	0.6	23.08	1.58	0.41
371	38	21	15	3.6	0.9	25.00	1.58	0.56
372	34	17	13	1.7	0.2	11.76	1.53	0.23
373	35	19	13	2.8	0.6	21.43	1.54	0.45
374	27	15	11	0.8	0.2	25.00	1.43	-0.10
375	28	14	11	1.2	0.2	16.67	1.45	0.08
376	30	16	12	1.7	0.5	29.41	1.48	0.23
377	35	18	13	1.2	0.4	33.33	1.54	0.08
378	40	22	14	3	0.8	26.67	1.60	0.48
379	22	13	8	0.6	0.1	16.67	1.34	-0.22
380	38	22	14	2.8	0.5	17.86	1.58	0.45
381	34	18	14	2.1	0.4	19.05	1.53	0.32
382	26	15	11	1.2	0.2	16.67	1.41	0.08