

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
École 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 la mesure du stress chez
Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819)**

Présenté par :

LATRECHE Hadjer

Soutenu le 03/12/2020, devant le jury composé de :

Mme MEHDID S.	Maitre-assistante A-ENSSMAL	Présidente
Mme CHAOU N .	Maitre-assistante A-ENSSMAL	Examinatrice
Mme LAHMER N.	Maitre-assistante A-ENSSMAL	Examinatrice
Mme AMAR I .	Maitre-assistante A-ENSSMAL	Promotrice

Année universitaire : 2019- 2020

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au sein des laboratoires de l'école nationale supérieure des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral-ENSSMAL.

A l'origine de ce travail de mémoire, je tiens à remercier particulièrement Mme **AMAR Imen** ma Directrice de projet, Maitre-assistante à l'ENSSMAL. Au cours de la réalisation du mémoire, j'ai eu la chance de bénéficier de ses conseils avisés et de son soutien. Je lui remercie pour sa disponibilité, sa patience et son soutien.

Toute ma gratitude aux enseignants de l'Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie (**ENSB**), et de l'Ecole Nationale des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (**ENSSMAL**) de m'avoir garanti un cycle enrichi de savoir, plus particulièrement à mon professeur de méthodologie **ADEL Abderezak**, qui m'a accompagné dans ce mémoire et tout mon cursus universitaire avec ses conseils pertinents et précieux.

De même, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers les membres du jury qui ont évalué rigoureusement ce travail.

Aussi, Je tiens à adresser ma profonde reconnaissance à toute l'équipe des ingénieurs des laboratoires de l'ENSSMAL, le responsable des laboratoires **Mr. MATOUK** pour son suivi et ses orientations, à **Mme CHIOUKH S** et surtout à l'ingénieure du laboratoire LBCM2 **Mme GEUROUMI Houda** qui a été d'une aide imparable au cours de mes manipulations.

DEDICACES

Je dédie ce travail,

*A la chère femme qui m'a tout donné et
qui était la raison de ma réussite dans mon parcours,*

A Hebib,

A mon cher papa, A ma mère,

A mes sœurs Nesrine et Maria,

A mes tantes Hafidha, Nadja et ma grand-mère, A Aoula,

A Zaho,

A mes chères amies Narimene, Lamisse et Soumaya

A Adel. A.

Hadjer.

ABBREVIATIONS:

AMPC: adénosine monophosphate cyclique

ANOVA : Analysis Of Variance

BSA : bovine Serum Albumine (Albumine de sérum bovin)

CoViD-19 : Corona Virus Disease 2019 (maladie à corona virus 2019)

CAT: Catalase

°C : Degré Celsius

Cd : Cadmium

Cu²⁺ : Cuivre

DTT : Dithiothréitol

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

GSH : glutathion réduit

GST : glutathion S-transférase

HAPs : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HAP : Hydrocarbure aromatique polycyclique

Hg :mercure

IC : Indice de condition.

g :gramme

mg : milligramme

min : minute

nm : nanomètre

Pb : plomb

Prot : protéine

PCB : Polychlorobiphényles

pH : potentiel d'hydrogène

R² : Coefficient de détermination

S : Seconde

LISTE DES FIGURES

Figure I-1 : 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).	12
Figure I-2 : Dommages cellulaires induits par le stress oxydatif (POSTER,2020)	13
Figure I-3 : <i>Mytilus galloprovincialis</i> (PAIVA, 2014)	16
Figure I-5 : Anatomie interne et externe de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> .(KHELIL, 2007)	18
Figure II-1 : Station d'élevage de la moule <i>M.galloprovincialis</i> la ferme aquacole Cultmare de kouali wilaya de Tipaza (Cultmare,2020)	21
Figure II-2 : Image satellitaire de la station aquacole Cultmare (CultaMare ,2020)	21
Figure II-3 :Nettoyage des moules de leurs épibiontes et leurs byssus au laboratoire	23
Figure II-4 : Les moules triées , nettoyées et débarrassées de leurs épibiontes	23
Figure II-5 :Mesure des paramètres biométriques de la moule.....	24
Figure II-6 : Essais de la gamme étalon montrant le virage de couleurs du bleu vers le bleu violacé en contact avec la BSA	29
Figure III-1 : Histogramme de distribution des fréquences de tailles de <i>Mytilus galloprovincialis</i> au mois de septembre	32
Figure III-2 :Régression entre la taille et le poids total chez la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> provenant de la ferme de kouali en moi de septembre.	33
Figure III-3 : Histogramme des pourcentages des catégories de l'indice de condition du lot de la moule <i>M.galloprovincialis</i>	34
Figure III-4 : Courbe d'étalonnage d'absorbance de la BSA en fonction de la concentration ...	36

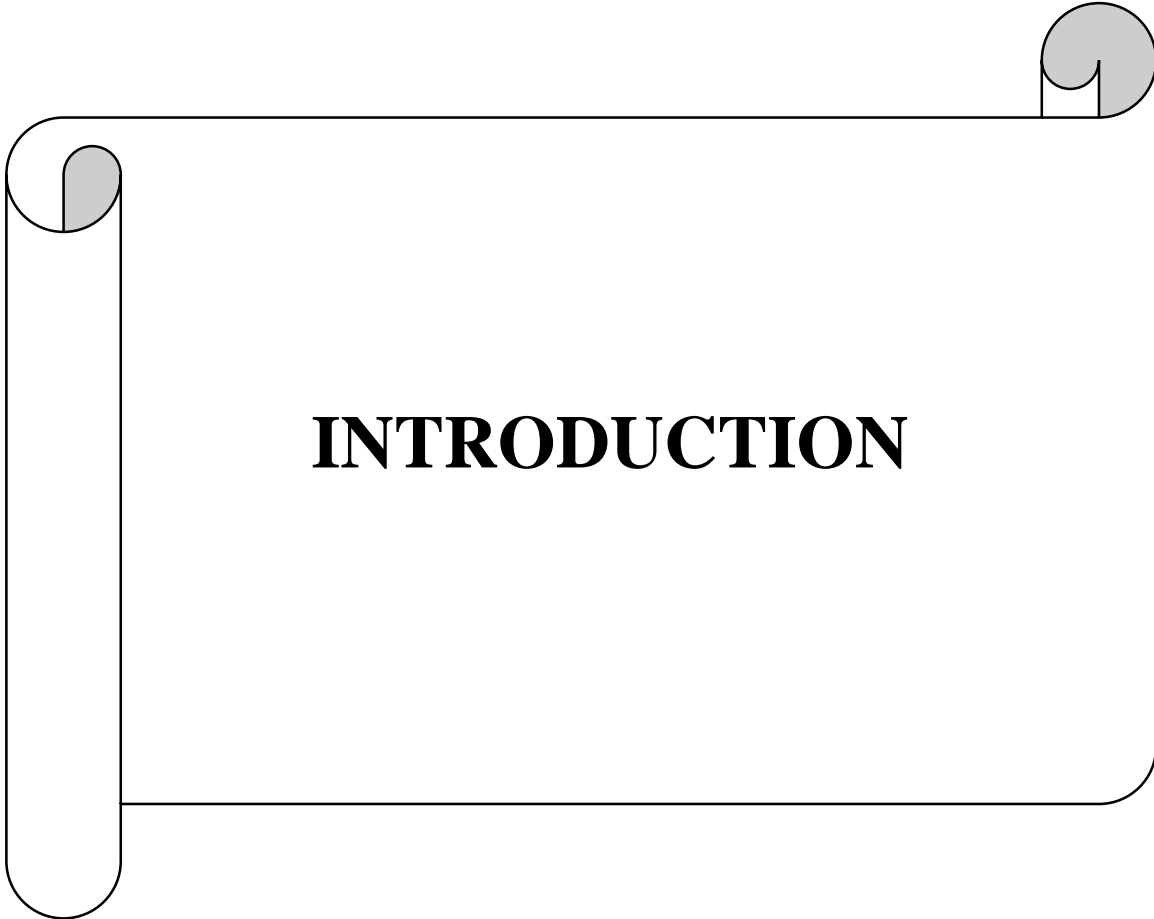
LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1 Classification des biomarqueurs biochimiques et cellulaires courants en écotoxicologie pour une recherche d'exposition et/ou d'effet (Vasseur & Cossu-Leguille 2003)	10
Tableau II-1 : La gamme d'étalonnage de la BSA.....	28
Tableau III-1 Résultats du suivi de l'activité CAT en présence du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) durant 3 min.	36
Tableau III-2 : Comparaison de la valeur de l'activité CAT aux données bibliographiques.	37

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
I. CHAPITRE I :SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1 La pollution dans la méditerranée :.....	4
I.1.1 Introduction :.....	4
I.1.2 La pollution marine :.....	4
I.1.3 Types de pollution.....	5
I.1.3.1 Pollution chimique.....	5
I.1.3.2 Pollution physique.....	5
I.1.3.3 Pollution biologique.....	6
I.2 L'Écotoxicologie marine :.....	6
I.3 La biosurveillance marine.....	7
I.4 Utilisation des Biomarqueurs pour évaluer l'état biologique du milieu marin : .8	
I.4.1 Définition des biomarqueurs :.....	9
I.4.2 Classification des biomarqueurs.....	9
I.4.2.1 Biomarqueurs d'exposition :.....	9
I.4.2.2 Biomarqueurs d'effet :.....	9
I.4.2.3 Biomarqueurs de sensibilité.....	9
I.5 Le stress oxydatif :.....	11
I.5.1 Les Espèces réactives de l'oxygènes (ERO) :.....	11
I.5.2 Définition du stress oxydatif :.....	12
I.5.3 L'impacts du stress oxydatif au niveau cellulaire :.....	13
I.5.4 Biomarqueur du stress oxydatif :.....	13
I.6 Modèle biologique :.....	14
I.6.1 Choix de l'espèce :.....	14
I.6.2 Description de la moule méditerranéenne :.....	15
I.6.3 Taxonomie.....	16
I.6.4 Ecologie.....	16
I.6.5 Nutrition :.....	17
II. CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
II.1 Echantillonnage.....	21
II.1.1 Présentation Zone d'étude :.....	21
II.2 Traitement des échantillons.....	22

II.2.1	Conservation des échantillons	23
II.3	Mesure des paramètres biométriques	24
II.3.1	Les Mesures et pesée des moules :	24
II.3.2	Etude de la croissance :	24
II.3.2.1	Distribution des fréquences de taille :	24
II.3.2.2	Etude de la croissance relative :	25
II.4	L'Indice de Condition :	26
II.5	Etude de la réponse biologique exprimée par la moule :	26
II.5.1	Mesure de l'activité de la catalase :	26
II.5.1.1	Préparation de la fraction S9 :	26
II.5.1.2	Dosage des protéines totales par la méthode de Biuret :	27
II.5.1.3	Dosage de l'activité catalase :	30
 III. CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION		
III.1	Etude de la croissance :	32
III.1.1	Distribution des fréquences de taille :	32
III.1.2	Etude de la croissance relative :	33
III.2	Indice de condition :	34
III.3	Biomarqueur du stress oxydatif :	36
III.3.1	Dosage des protéines :	36
III.3.2	Dosage de l'activité spécifique CAT :	36
CONCLUSION GENERALE :		40
 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		
ANNEXES		
RÉSUMÉ		



INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Les activités anthropiques intensives provoquent l'accumulation de différents xénobiotiques dans le milieu aquatique. De nos jours, les préoccupations majeures des scientifiques sont l'évaluation de leurs impacts qui peuvent s'exercer sur l'environnement et ses ressources biologiques (MEJDOUB *et al.*, 2017).

La pollution marine est un processus anthropogénique qui a de multiples conséquences sur l'écosystème, elle affecte la qualité de l'eau et les produits de la mer, notamment le fonctionnement de ces écosystèmes par l'altération des espèces, de leurs organes, l'état de reproduction, la taille de la population et la survie des espèces (BOLOGNESI *et al.*, 2004; KOURDALI *et al.*, 2020; ROMÉO *et al.*, 2005).

L'évaluation des risques du système aquatiques des ressource écologique et sa sensibilité aux facteurs de stress physiques, chimiques ou biologiques se réalise grâce à l'écotoxicologie marine dans le but de développer une ou plusieurs estimations du risque lié au passé ou exposition potentielle à ces facteurs de stress (PETERS *et al.*, 1997).

L'écotoxicologie est la discipline qui étudie le comportement et l'impact des polluants sur le fonctionnement des écosystèmes ainsi que sur le vivant. Cette discipline allie la chimie de l'environnement, la toxicologie et l'écologie. (CÉCILE, 2011)

En effet, les bivalves sont les animaux les plus sensibles à la pollution côtière, au cours de l'évolution, ils ont développé un système d'accumulation de plusieurs polluants dans leurs tissus mous de manière sédentaire sans être tué (YUSOF *et al.*, 2004), mais, ces polluants peuvent provoquer des pathologies physiologiques, neurologiques voire même des altérations génétiques chez les organismes sédentaires. Les facteurs de bioaccumulation des polluants organiques, associés à des taux de détoxification métabolique relativement faibles et à un mode de vie sessile et filtrant, font des bivalves et en particulier du genre *Mytilus*, un organisme bio-indicateur idéal pour les études de biosurveillance (BOLOGNESI *et al.*, 2004).

Les enjeux environnementaux et sanitaires pour la réduction de la pollution et la protection des écosystèmes aquatiques ont fait apparaître des programmes internationaux de surveillance des systèmes aquatiques ou le « biomonitoring » tels que le Réseau National d'Observation de la qualité de l'eau (RNO) en France et le programme de « mussels watch » aux Etats Unis (TERRY L. WADE *et al.*, 1998) qui utilise les moules comme bioindicateurs de pollution. Une nouvelle approche a surgi dans la communauté scientifique au début des années 1980 pour mieux comprendre les pathologies des espèces, ainsi pour faire l'évaluation de la pollution. Il s'agit de marqueurs biologiques ou les Biomarqueurs, en tant qu'outils d'aide au diagnostic de contamination et à la gestion du risque toxique (GALLOWAY *et al.*, 2006), Ce terme renvoie à

tous les paramètres biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier, pour mettre en évidence l'exposition à, ou les effets, d'un ou plusieurs contaminants (GARRIC *et al.*, 2010).

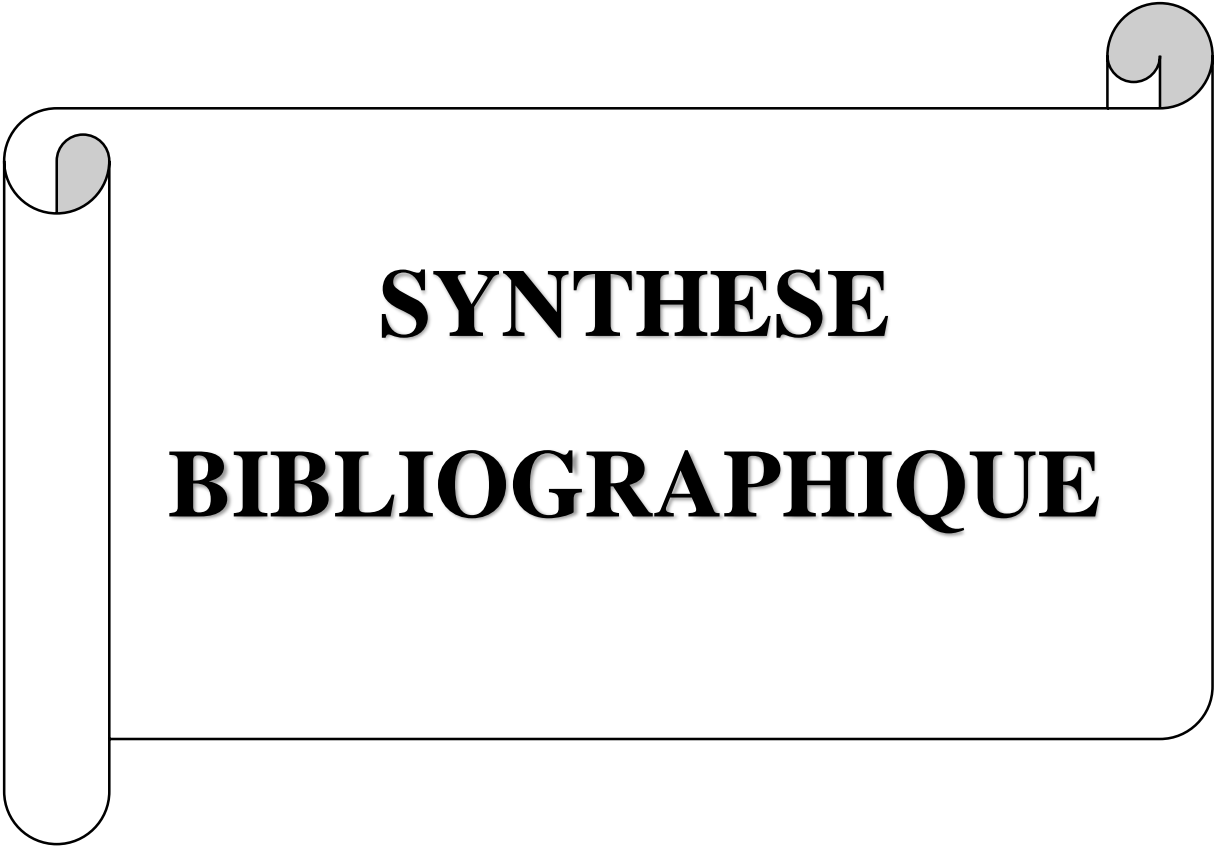
La moules du genre *Mytilus spp.* constitue un modèle d'intérêt en écotoxicologie (RITTSCHOFF et MCCLELLAN-GREEN, 2005). Elle est largement utilisée dans les programmes de bio-surveillance (T. WADE *et al.*, 1998). En plus de son importance écologique et économique, ce genre a acquis un rôle important comme bio-indicateur en raison de son mode de vie sessile et filtreur (BOUKADIDA AMMAR 2017).

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la recherche en biotechnologie marine, dans ce contexte, l'objectif général du présent travail consiste à une contribution à la mesure du stress chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, par des indices biométriques et statistiques des individus récoltés de la ferme conchylicole « CultMare » de la plage Kouali-wilaya de Tipaza, ainsi la mise au point d'un protocole expérimental de mesure du biomarqueur de stress oxydatif.

La mesure du stress oxydatif a été effectuée par le dosage de l'activité enzymatique CAT antioxydante de la fraction S9 de la Glande digestive de la moule.

Notre travail est organisé en 4 étapes ;

- La première partie de ce mémoire est consacrée aux fondements et considérations théoriques pour l'évaluation du risque environnemental, le choix du biomarqueur du stress oxydatif et les effets de ce dernier sur le modèle biologique, la moule sentinelle, *Mytilus galloprovincialis*.
- La deuxième partie consiste à présenter la zone d'étude, le traitement des échantillons, la mise au point de la technique de dosage de l'activité enzymatique de la catalase.
- La troisième partie s'intéresse à la présentation suivie d'une interprétation des résultats obtenus d'après les expériences réalisées au laboratoire.
- Enfin, une conclusion générale qui synthétise les principaux résultats obtenus et propose une ouverture vers de nouvelles perspectives d'étude.



SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 La pollution dans la méditerranée :

I.1.1 Introduction :

La mer Méditerranée représente seulement 1% de la surface océanique mondiale, avec 46 000 km de littoral mais est à l'origine de 20% de la production marine du monde. Cependant cette richesse dépend d'un patrimoine qui se dégrade rapidement. En effet, la Méditerranée fait vivre 150 millions d'individus. Elle joue un rôle fondamental dans l'économie de la région, (AMICO, 2017) ce qui explique les concentrations démographiques importante dans la méditerranée d'un taux de croissance de 20% entre 1970 et 2018 selon l'agence des villes et territoire méditerranéens durables (FRAISSE, 2018), et l'augmentation des activités anthropiques et industrielles à proximité des côtes par conséquent le taux des rejets des effluents non traités des usines est très important. Autant de plus, la mer Méditerranée est en effet un espace de transit, une route importante pour le transport maritime régional international, donc elle est exposée à un trafic maritime très dense qui est l'une des principales causes des pollutions pétrolières qui menace l'écosystème(ALBAKJAJI, 2010).

I.1.2 La pollution marine :

La pollution marine est définie comme l'introduction directe ou indirecte de déchets, de substances, ou d'énergie, y compris de sources sonores sous-marines d'origine humaine, elle est susceptible d'entraîner des effets nuisibles pour les ressources vivantes et les écosystèmes marins(GOEURY, 2014).

Ou comme elle est définie par le comité consultatif des Nations Unis, « la contamination des milieux marins par des substances ayant des effets délétères sur les ressources biologiques et la santé humaine, une entrave pour les activités maritimes, y compris la pêche, une altération de la qualité pour l'utilisation des eaux de mer et réduction des aménités, ainsi que la radioactivité introduite par le transport maritime » (BEIRAS, 2018).

On distingue la pollution générée par les substances chimiques et celle produite par les déchets aquatiques. Les déchets aquatiques comprennent tout solide ménager, industriel, naturel qui se retrouve dans l'environnement maritime et côtier. Ils peuvent être de nature très variée : déchets flottants en surface ou dans la colonne d'eau, déchets déposés dans les fonds, déchets échoués sur les plages et sur le littoral(GOEURY, 2014)

Quatre-vingts pourcent (80%) de la pollution marine est d'origine terrestre. Les polluants sont transportés par le ruissellement des eaux suivant la dynamique des bassins versants mais aussi par

l'air du fait du régime des vents, les surfaces marines recevant de nombreux dépôts atmosphériques. Or des phénomènes de saturation génèrent des désordres écologiques grandissant au point de menacer toutes les autres activités. (GOEURY, 2014)

Ceux-ci provoquent une dégradation de la qualité de l'eau et peut donc induire des effets néfastes sur les écosystèmes marins et côtiers ce qui implique une contamination indirecte des consommateurs des fruits de mer de côte (BENALI, IMENEBOUITIBA, *et al.*, 2015; VIDAL-LIÑÁN *et al.*, 2010) . Invertébrés, en particulier les bivalves comme la moule *Mytilus galloprovincialis*, sont des organismes qui sont bien adaptés pour étudier la bioaccumulation des polluants dans le vivant (BODIN *et al.*, 2004) les moules filtrent l'eau et donc accumulent des concentrations élevées des polluants inorganiques et organiques dans leurs tissus.

I.1.3 Types de pollution

Le polluant, tout agent physique, chimique ou biologique dans un hydro système, qui y provoque, par sa concentration dans l'eau, des perturbations préjudiciables au bon équilibre de l'écosystème et en réduit les possibilités d'usages de l'eau.

Les différents types de polluants se mélangent et agissent les uns sur les autres (effets de synergie). Ainsi, un égout rejette des déchets organiques, des détergents dont certains s'accompagnent de métaux lourds (pollution chimique), des micro-organismes le tout dans de l'eau douce (pollution physique) (ROUANE-HACÈNE, 2007). Prenant par exemple le cas d'un rejet d'un effluent riche en phosphore cela provoque une eutrophisation du milieu marin qui va probablement induire des blooms phytoplanctoniques (pollution biologique), où la micro algue en question pourra être toxique ou produit des toxines qui vont contaminer les espèces sentinelles telles que les moules.

I.1.3.1 Pollution chimique

C'est une pollution due au déversement de substances chimiques telles que les hydrocarbures, les détergents, les biocides, les pesticides (DTT, Lindane,) et les métaux lourds (Pb, Cd, Hg...). De nombreuses substances de synthèse issues du génie humain ont la capacité d'engendrer des sous-produits (métabolites) encore plus dangereux comme le DDE, les dioxines. Ainsi l'Océan mondial est systématiquement pollué par des substances toxiques, même dans ses régions les plus reculées, à titre d'exemple les morues de la mer Baltique présentent des teneurs record en PCB. (ROUANE-HACÈNE, 2007; VINCENT, 2006)

I.1.3.2 Pollution physique

On parle de pollution physique lorsque le milieu marin est modifié dans sa structure physique par divers facteurs. Il peut s'agir d'un rejet d'eau douce qui fera baisser la salinité d'un lieu (par une centrale hydroélectrique), d'un rejet d'eau réchauffée ou refroidie (par une centrale électrique ou

une usine de regazéification de gaz liquide), d'un rejet liquide ou solide de substances modifiant la turbidité du milieu (boue, limon, macro-déchets...), d'une source de radioactivité (Gravez et Bernard 2006).

Cependant, le rejet de chaleur dans l'environnement constituant de nos jours une forme de pollution physique du milieu naturel capable de provoquer de vrais bouleversements, car d'un point de vue écologique, il existe un paramètre incontournable qui est la température du milieu. Or, dans certains pays industrialisés, l'augmentation de température en aval des centrales électriques peut atteindre 7 à 8°C, ce qui engendre une modification totale des communautés aquatiques et de leurs modes de fonctionnement.(ROUANE-HACÈNE, 2007)

I.1.3.3 Pollution biologique

Il peut s'agir de pollution par des micro-organismes (bactéries, virus, champignons) provenant des égouts qui peuvent proliférer à leur arrivée dans le milieu marin, même s'il est vrai qu'il s'agit d'un milieu qui ne favorise pas la vie de la plupart des agents pathogènes (GRAVEZ et BERNARD, 2006).

Cette pollution peut résulter du rejet dans les eaux continentales ou littorales d'une grande variété de substances organiques fermentes cibles d'origines diverses (effluents urbains, matières fécales, industries, élevages,) et se traduit par une forte contamination bactériologique. Elle soulève, dans des cas, de redoutables problèmes d'hygiène publique : qualité des eaux potables, salubrité des plages, qui ne sont pas limités aux seuls pays du tiers monde. Cette extension persistante de la pollution microbiologique des eaux continentales et littorales a pour conséquence une aggravation d'affections pathogènes (colibacilles, hépatites, virus entériques,) (VINCENT, 2006).

Il peut également s'agir de l'introduction d'une espèce marine dans une zone où elle est normalement absente et dans laquelle elle a un impact non négligeable (ex : la caulerpe :*Caulerpa taxifolia*) (ROUANE-HACÈNE, 2007)

I.2 L'Écotoxicologie marine :

L'écotoxicologie n'était pas connue comme une discipline du domaine scientifique jusqu'aux années 1970.(PELLETIER et CAMPBELL, 2008),plusieurs questionnements et critiques ont été posées devant les défis et les problèmes qui se posaient sur l'impact et le risque que la pollution peut causer sur l'environnement, ainsi la mise au point d'un modèle d'études des contraintes qui menace les écosystèmes face à l'augmentation de la pollution anthropologique et naturel, des chercheurs ont évoqué des problématiques dans leur article publié dans le journal de « Environmental Science and Pollution »,Comment définir la contrainte par rapport au système dynamique conditions ?Quelle est la base naturelle et la fonction des systèmes de défense contre

le stress chimique ? Pourquoi les organismes ont-ils développé de tels systèmes ? Quels produits chimiques naturels ont été les déclencheurs ? au-delà de ça, les populations savent-elles à éviter le stress ? Si les effets observés sont à long terme, affectent-ils même la ou les générations suivantes ? (STEINBERG et ADE, 2005).

C'est grâce à ces questionnements et à la découverte de la persistance des pesticides organochlorés dans l'environnement, que la communauté scientifique a pu mettre en évidence l'émergence de l'écotoxicologie et la considérer comme une discipline à part de la toxicologie.

Comme (PELLETIER et CAMPBELL, 2008) l'a défini ; l'écotoxicologie est la science qui cherche à prédire les impacts sur l'écosystème des apports en substances potentiellement toxiques ; certains chercheurs ont élargi la définition de l'écotoxicologie pour y inclure des stressseurs autres que les contaminants (PELLETIER et CAMPBELL, 2008; STEINBERG et ADE, 2005)

La prédiction du risque se fonde sur deux volets, d'une part, l'évaluation de l'exposition des organismes aux substances, et d'autre part, à l'évaluation du danger biologique. Dans les deux cas, elle repose sur des données issues de modèles, qu'il s'agisse de modèles physicochimiques (transports, transformations, transferts, relation structure-activité) ou de modèles biologiques (récepteurs moléculaires, cellules, organismes) qui conduisent au calcul d'une concentration prédite dans l'environnement (Predicted Environmental Concentration, PEC) et d'une concentration prédite sans effet toxique (Predicted Non Effect Concentration, PNEC). L'évaluation du risque issue de ces modèles est censée s'appliquer à toutes les situations de milieux, habitats et biocénoses, mais avec d'importants facteurs d'incertitude, liés aux conditions particulières de chaque milieu et leur diversité biologique (ZABR, 2009).

La protection des milieux et leur surveillance s'appuient aussi largement sur les méthodes de l'écotoxicologie, avec notamment la définition de normes de qualité environnementale (NQE). Ces normes sont à la base de l'évaluation de la qualité chimique des milieux et de leur surveillance imposée par la Directive Cadre Européenne sur l'Eau, et la réglementation des rejets (ZABR, 2009).

I.3 La biosurveillance marine

Ou le « biomonitoring », selon le terme anglo-saxon » qui désigne l'utilisation du vivant (organisme ou ensemble d'organismes à tous les niveaux d'organisation biologique moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique et écologique) pour surveiller l'évolution, des modifications, des altérations, ou la stabilité de la qualité d'un milieu (CAIRN, 2010) elle permet aussi de compléter un diagnostic classique en informant sur les effets biologiques ressentis sur l'environnement.

La surveillance de la qualité du milieu marin est principalement basée sur l'analyse chimique des contaminants dans les principaux compartiments de l'environnement : eau de mer, sédiments, organismes. L'intérêt respectif de ces différentes matrices est discuté, et les bases fondamentales de l'utilisation des bivalves (car ils sont reconnus comme des bioindicateurs de pollution) dans le programme « Mussel Watch » qui est un programme de surveillance côtière mis par les états unis pour fournir des informations pertinentes afin de soutenir la prise de décision. Le programme est principalement reconnu pour son évaluation de l'état et des tendances des contaminants chimiques mesurés dans les tissus bivalves (moules et huîtres) à l'échelle nationale (W. E. JOHNSON; WINSTON et DI GIULIO, 1991).

Et dans sa version française, le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin. Les objectifs du RNO sont d'évaluer :

- les niveaux et les tendances des contaminants et des paramètres généraux qui caractérisent la qualité de l'environnement ;
- les effets biologiques des contaminants.

L'analyse des contaminants chimiques dans les organismes est un complément indispensable à l'approche biologique car elle permet de quantifier leur fraction biodisponible. Cependant, seule une fraction des xénobiotiques incorporés est biologiquement active et peut exercer un effet néfaste sur le vivant de façon complémentaire (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 1999)

I.4 Utilisation des Biomarqueurs pour évaluer l'état biologique du milieu marin :

Depuis de nombreuses années, les programmes de surveillance des milieux aquatiques s'articulent autour de deux approches complémentaires. La première est basée sur l'analyse chimique d'un certain nombre de polluants dans les matrices environnementales et permet d'évaluer la contamination du milieu. La seconde intègre l'occurrence et l'abondance d'espèces bioindicatrices afin de diagnostiquer la qualité de l'eau et des biocénoses a posteriori d'une perturbation.

Ces deux approches ne sont toutefois pas exclusives et ne permettent pas de prendre en considération les effets précoces de la contamination sur les organismes. Afin de combler cette lacune, les biomarqueurs apparaissent comme des outils pertinents (SANCHEZ et PORCHER, 2009).

Outre que l'utilisation des indicateurs chimiques et biologiques dans les moules indigènes utilisées dans les programmes de biosurveillance de la pollution à grande échelle, les biomarqueurs sont utilisés pour la surveillance des effets dans les études environnementales exploratoires à court terme (MARTÍNEZ-GÓMEZ *et al.*, 2017).

Les effets biologiques des polluants peuvent être adoptés comme des bioindicateurs de pollution chez le règne animale ainsi que chez les végétaux (AMIARD et AMIARD-TRIQUET, 2008).

L'idée de rechercher des biomarqueurs est évoluée depuis les années 90 pour aboutir à un questionnement scientifique intégrant la réponse biologique du gène à la physiologie, en s'appuyant sur des études à partir de l'individu jusqu'aux populations (VAN DER OOST *et al.*, 2003)

I.4.1 Définition des biomarqueurs :

Ce sont des mesures aux niveau moléculaire, biochimique ou cellulaire réalisées soit sur des populations sauvages provenant des habitats contaminés ou sur des organismes exposés expérimentalement aux polluants qui indiquent que l'organisme a été exposé à des toxiques ainsi que la magnitude de la réponse de l'organisme au contaminant (AMIARD et AMIARD-TRIQUET, 2008).

I.4.2 Classification des biomarqueurs

Les biomarqueurs peuvent être subdivisés en trois classes (VAN DER OOST *et al.*, 2003) ; cependant ,deux types courant de biomarqueurs en écotoxicologie selon (VASSEUR et COSSU-LEGUILLE, 2003) comme expliqué dans le (Tableau 1).

I.4.2.1 Biomarqueurs d'exposition :

Les biomarqueurs d'exposition peuvent être utilisés pour confirmer et évaluer l'exposition des individus ou des populations à une substance particulière, fournissant un lien entre l'exposition externe et la dosimétrie interne, couvrant la détection et la mesure d'une substance exogène ou de son métabolite ou du produit d'une interaction entre un agent xénobiotique et une molécule ou une cellule cible qui est mesurée dans un compartiment à l'intérieur d'un organisme (VAN DER OOST *et al.*, 2003).

I.4.2.2 Biomarqueurs d'effet :

Les biomarqueurs d'effet peuvent être utilisés pour documenter des altérations précliniques ou des effets néfastes sur la santé dus à une exposition externe et à l'absorption d'un produit chimique y compris les altérations biochimiques, physiologiques ou autres altération dans les tissus ou dans les fluides corporels d'un organisme qui peuvent être reconnues comme associées à une maladie de santé établie ou possible (VAN DER OOST *et al.*, 2003) .

I.4.2.3 Biomarqueurs de sensibilité

Indiquant la capacité acquise d'un organisme à répondre au défi de l'exposition à une substance xénobiotique spécifique, y compris les facteurs génétiques et les changements dans récepteurs qui

modifient la sensibilité d'un organisme à cette exposition. Ils aident à élucider les variations du degré de réponse à l'exposition aux substances toxiques observées entre différents individus (VAN DER OOST *et al.*, 2003) .

Tableau I-1 Classification des biomarqueurs biochimiques et cellulaires courants en écotoxicologie pour une recherche d'exposition et/ou d'effet (Vasseur & Cossu-Leguille 2003)

	Biomarqueurs	Commentaires	Effets	Substances chimiques
Biomarqueurs d'exposition	CYP 1A1, expression et activité EROD, BaP hydroxylase, Glutathion-S-transferase	Les activités monooxygénases impliquant diverses isoformes de cytochromes P450 (la mesure la plus connue est l'induction de l'activité enzymatique EROD) sont impliquées dans le métabolisme des composés endogènes lipophiles, et sont inducibles par des substances exogènes.	Induction	Pesticides organochlorés, PCBs, dioxines, HAPs, BaP, non spécifique
	Protéines multi, xénobiotique, résistance (MXR)	Les protéines de transport membranaire (système MXR/MDR) peuvent être induites ou inhibées par diverses substances organiques. C'est un mécanisme de défense cellulaire qui permet à la cellule transporter des métabolites ou des xénobiotiques.	Induction/inhibition	Substances organiques (HAPs, PCBs et métabolites...)
	Acétyl cholinestérase	Activité enzymatique du métabolisme de neurotransmetteurs.	Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Vitellogénine	Protéines de réserves des œufs synthétisés dans le foie.	Induction (mâle)	Perturbateurs endocriniens
	Métallothionéines/ phytochélatines, protéines de stress	Les métallothionéines (MTs) et phytochélatines (PCs) normalement exprimées dans les tissus, impliquées dans l'homéostasie des métaux, peuvent être surexprimées en présence de métaux, mais aussi de composés organiques aromatiques inducteurs de stress oxydatif cellulaire.	Induction	Métaux, autres xénobiotiques
	Dommage ADN, adduits ADN	Les polluants (HAPs, organiques persistants...), comme des facteurs physiques, peuvent altérer de différentes façons l'intégrité de la structure de l'ADN (cassure simple et double brin, liaison ADN, dommages chromosomiques), soit directement soit <i>via</i> leurs métabolites.	Occurrence	Mutagènes, génotoxiques
Dommage ADN	Occurrence		Mutagènes, génotoxiques ?	
Biomarqueurs d'effet	Acétyl cholinestérase		Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Peroxydation lipidique Enzymes antioxydantes	Des polluants peuvent augmenter les niveaux cellulaires de molécules oxygénées fortement réactives (ROS), soit par une induction de synthèse soit par une inhibition des mécanismes de défense. Lorsque ces derniers sont débordés les lipides membranaires, les protéines cellulaires sont endommagées par des réactions de peroxydation. Ces processus peuvent être mesurés et utilisés comme indicateurs de stress.	Induction Induction/inhibition	Non spécifiques
	Intégrité lysosomiale	La stabilité de la membrane semi-perméable des lysosomes est un indicateur de l'état de la cellule.	Diminution	

I.5 Le stress oxydatif :

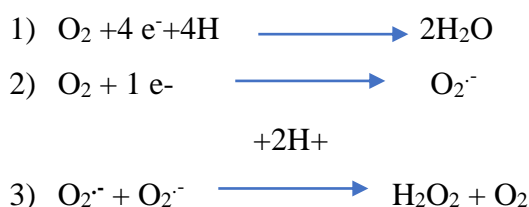
I.5.1 Les Espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

Depuis que l'atmosphère terrestre a commencé à s'enrichir en oxygène il y a environ deux milliards d'années, les organismes vivants aérobies se sont adaptés à ces conditions en apprenant à consommer et à utiliser l'oxygène mais également à éliminer les métabolites réduits produits (MIGDAL et SERRES, 2011).

Les dérivés réactifs de l'oxygène ou espèces réactives de l'oxygène, sont des espèces chimiques oxygénées telles que des radicaux libres, des ions oxygénés et des peroxydes, rendus chimiquement très réactifs par la présence d'électrons de valence non appariés.

Les ERO produits par la cellule ont été traditionnellement vus comme des produit toxiques du métabolisme ; En effet, la cellule synthétise continuellement des espèces réactives de l'oxygène (ERO) en très faibles quantités au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale où se produit la réduction complète de l'O₂ conduisant à la formation de l'eau oxygéné H₂O₂ , cependant cette réaction ne peut s'effectuer que par plusieurs étapes successives; environ 2% de l'oxygène consommé sont transformé en radicaux superoxyde qui sont des espèces potentiellement toxiques (DELATTRE *et al* , 2007).

Les étapes de réduction de l'O₂ pour formation de peroxyde d'hydrogène (DELATTRE *et al* , 2007).



Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas un radical libre mais une molécule ayant tous ses électrons appariés, il est lui-même toxique via des réactions de type « réaction de fenton », se produisant en présence de cations métalliques Comme le Fe²⁺ et le Cu⁺ en donnant naissance à des radicaux hydroxyles OH⁻ qui sont des espèces radicalaires les plus délétères du stress oxydant (DELATTRE *et al.*, 2007).

En l'absence des conditions de stress, il y'a un équilibre entre la génération des ERO et d'autres prooxydants, et leur détoxification et élimination par le mécanismes de défense antioxydants (GILLIS *et al.*, 2014; WINSTON et DI GIULIO, 1991) , les ERO ont un double potentiel paradoxal dans la cellule, elles sont en même temps des molécules essentielles dans la transduction des signaux et la régulation cellulaires qui maintient l'homéostasie cellulaire quand la balance

entre prooxydants et antioxydant est équilibrée (figure I-2) (MIGDAL et SERRES, 2011). Et elles constituent des produits potentiellement toxiques du métabolisme et peuvent causer un état physiopathologique (stress oxydatif) quand cette balance est en faveur des oxydants, en provoquant des effets délétères aux cellules (ALMEIDA *et al.*, 2005).

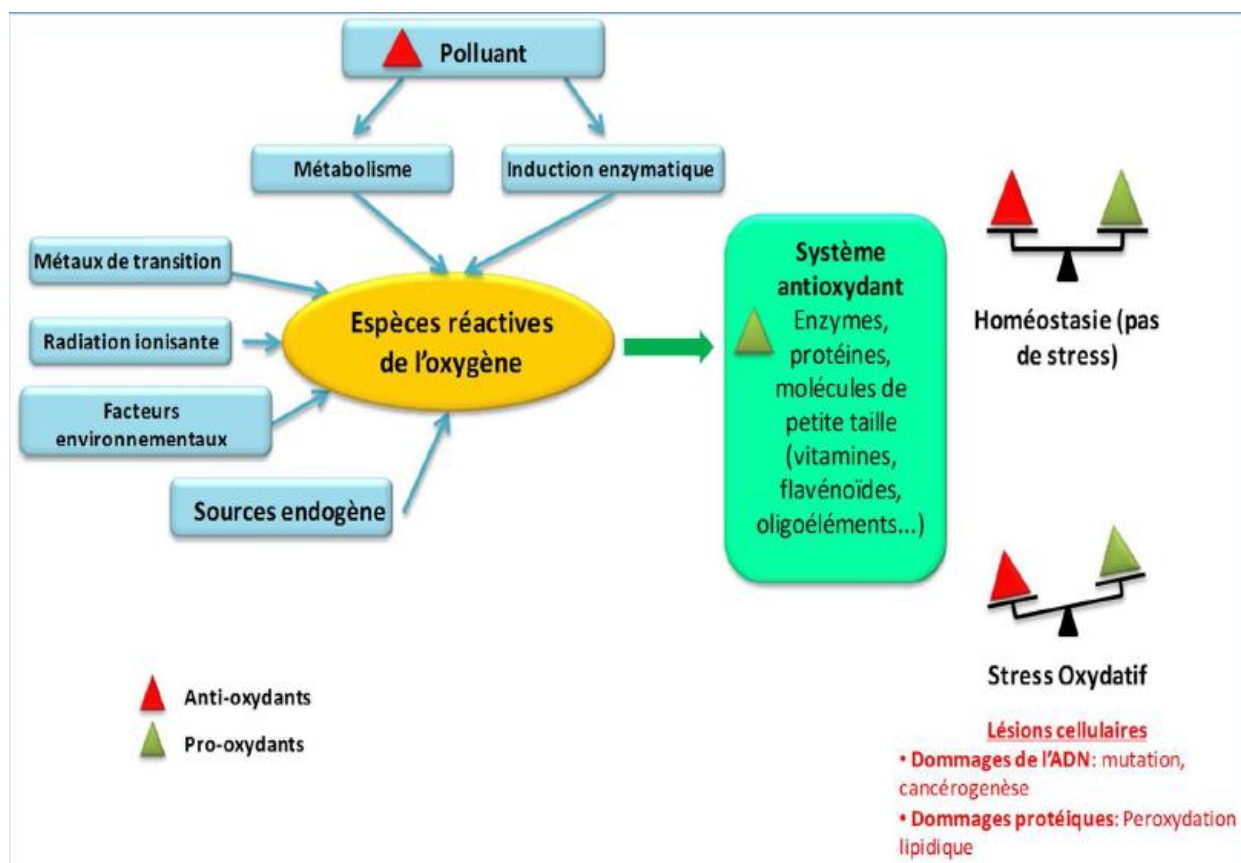


Figure I-1 : Diagramme explicatif des sources entraînant une augmentation des espèces réactives de l'oxygène dans la cellule et les dommages cellulaires associés et intervention du système antioxydant (KAMEL, 2014).

I.5.2 Définition du stress oxydatif :

Le stress oxydatif est un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène dans la cellule et leur destruction par des enzymes et d'autres molécules de défense antioxydantes (PIZZINO *et al.*, 2017), conduisant à une augmentation des dommages oxydatifs à différentes cibles cellulaires. Cela peut se produire dans diverses conditions, l'une des plus importantes étant l'exposition de l'organisme à l'hypoxie ou à l'anoxie suivie d'une réoxygénation (ALMEIDA *et al.*, 2005; HERMES-LIMA *et al.*, 1998).

I.5.3 L'impacts du stress oxydatif au niveau cellulaire :

Au cours des phénomènes de stress oxydatif, ces entités radicalaires et moléculaires sont produites d'une manière accrue, ce qui implique une dégradation au niveau des macromolécules biologiques telles que les acides nucléiques (ADN, ARN), les protéines et les lipides (DELATTRE *et al.*, 2007). L'oxygène moléculaire (O₂) lui-même peut directement inactiver les enzymes radicalaires et à faible potentiel spécialisées nécessaires à certaines formes de métabolisme anaérobie notamment la peroxydation lipidique, l'inactivation des enzymes, l'oxydation des bases d'ADN et la dégradation des protéines.

Le niveau de peroxydation lipidique, qui conduit à la formation de produits secondaires tels que le malondialdéhyde (MDA), a été largement mesuré comme indicateur de blessure causée par les ERO dans différents organismes marins. En outre, les dommages oxydatifs à l'ADN produisant de la 8-oxo-7,8-dihydro-2-désoxyguanosine (8-oxodGuo), a été utilisé comme indice des dommages à l'ADN due à la génération cellulaire des 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 superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) (PAMPANIN *et al.*, 2005).

Les antioxydants quant à eux, ils représentent le mécanisme de défense cellulaire qui neutralisent la toxicité des espèces réactives de l'oxygène,(PAMPANIN *et al.*, 2005),sont reconnus comme des biomarqueurs de stress oxydatif (ALMEIDA *et al.*, 2005).

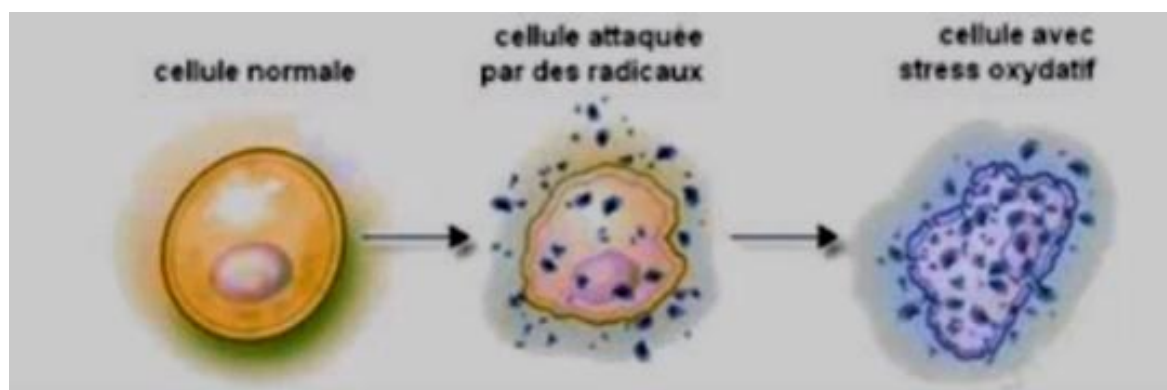


Figure I-2: Dommages cellulaires induits par le stress oxydatif (POSTER,2020)

I.5.4 Biomarqueur du stress oxydatif :

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficace contre la production des radicaux libres dérivés de l'oxygénées molécules contrôlent cette production sont désignés par le terme antioxydant « toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat ».

Parmi celles-ci les systèmes de défense enzymatiques sont reconnus comme étant les plus performant (Delattre *et al.*, 2007).

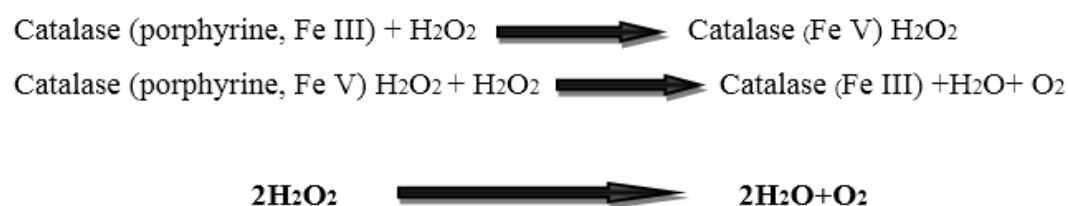
Dans cette étude ,on a opté pour examiner le biomarqueur du stress oxydative qui est la catalase par le suivi de l'activité de cette enzyme (cat, EC 1.11.1.6), connue pour sa fonction d'élimination du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) durant le métabolisme naturel chez les organismes aérobies, mais aussi pour être par divers polluants organiques générant un stress oxydatif (hydrocarbures aromatiques polycycliques, polychlorobiphényles)(COSSU *et al.*, 1997).

La catalase (CAT) est une enzyme tétramérique, chaque unité portant un groupement prosthétique (hème) et une molécule de NADPH. Cette enzyme est présente chez tous les organismes aérobies. Chez les eucaryotes elle est principalement située dans le cytosol et dans les peroxysomes où elle catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (COSSU *et al.*, 1997).

Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB ou certains pesticides (LIVINGSTONE, 1993) et les métaux (LABROT, 1996a.).

L'activités CAT, est plus importante dans la glande digestive que dans les branchies ou les tissus musculaire chez les bivalves (AARAB, 2004).elle contient videment le cytochrome P 450 qui se caractérise par la production d' ERO ,il est induit par les xénobiotiques ,cela provoque le stress oxydatif.

La réaction catalysée par la catalase se déroule en deux étapes :



Dans des conditions de stress, l'activité des enzymes de défense antioxydant peut être induite ou inhibée. L'induction est interprétée comme une adaptation des organismes, alors que l'inhibition reflète l'effet toxique des polluants et indique les dommages cellulaires. (VASSEUR et COSSU-LEGUILLE, 2003)

I.6 Modèle biologique :

I.6.1 Choix de l'espèce :

Les bivalves marins, comme la moule *Mytilus galloprovincialis*, sont largement utilisés comme indicateurs biologiques filtreurs, ces animaux sont capables d'accumuler dans leurs tissus une

large quantité de contaminants chimiques présents dans l'eau de mer, de plus, ce sont des organismes semi-sessiles euryhalines avec une large distribution géographique (MOREIRA *et al.*, 2001).

Le choix de l'espèce sentinelle est basé sur ses caractères biologiques, Une espèce bio-indicatrice doit avant tout être disponible, plutôt sessile pour fidèlement refléter son environnement et facile à prélever. la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* a été l'objet de nombreuses études, essentiellement pour son coût d'échantillonnage faible (BOCQUENÉ et GALGANI, 2004).

I.6.2 Description de la moule méditerranéenne :

La moule *Mytilus galloprovincialis* ou la moule méditerranéenne est un Mollusque (corps mou non segmenté) Lamellibranche (à branchies lamelleuses) ou Pélécypodes (pied en forme de hache) à masse viscérale (masse des viscères) aplatie transversalement. La moule a une coquille équivalve, très inéquilatérale, de contour généralement ovale allongé, subtrigone à cylindrique, avec fréquemment une mince fente byssale ventrale. L'extérieur est pratiquement lisse ou avec des costules radiales ; sculpture souvent plus forte dans les zones postéro-dorsales et antérieure des valves. Le péri ostracum est bien développé, lisse, lamelleux ou hérissé de soies. Le ligament sub-interne est fixé au bord dorsal postérieur de la coquille par une bande calcifiée blanchâtre, compacte ou finement ponctuée. La charnière est dépourvue de dents ou avec quelques dentelons ou crénelures (KAMEL, 2014).

Mytilus galloprovincialis est de couleur bleu foncé ou brun à presque noir. Les deux valves sont égales et presque quadrangulaires. L'extérieur est de couleur noir-violet ; d'un côté, le bord de la coquille se termine par un umbo pointu et légèrement plié tandis que l'autre côté est arrondi, bien que la forme de la coquille varie selon la région (figure 4). Il a également tendance à devenir plus gros que ses cousins, jusqu'à 15 cm, bien que généralement seulement 5-8 cm. (GISD, 2020)



Figure I-3: *Mytilus galloprovincialis*(PAIVA, 2014)

I.6.3 Taxonomie

Règne : Animale

Embranchement : Mollusques

Classe : Bivalves

Sous-classe : Autobranches

Infra-classe : Pteriomorphes

Ordre : Mytilidés

Superfamille : Mytiloïdés

Famille : Mytilidés

Genre : *Mytilus*

Espèce : *Mytilus galloprovincialis* (LAMARK, 1819). (MARTIGUES, 2020)

I.6.4 Ecologie

Mytilus galloprovincialis est un animal benthique grégaire fixé aux substrats solides dans les anfractuosités des rochers battus et éclairés de l'étage médiolittoral qui sont favorables à l'installation de moulières naturelles. Sensible à la pollution chimique et bactérienne, la moule concentre les polluants et constitue un bon indicateur de la qualité des eaux. La moule est capable de supporter une longue émergence grâce à une réserve d'eau entre les deux valves.(DELLALI *et al.*, 2004)

Les bivalves en aquaculture à destination commerciale sont élevés dès le stade larvaire dans des bassins tout en en suivant un processus d'écloserie et de nurserie approprié pour un meilleur rendement.

I.6.5 Nutrition :

Les bivalves sont des organismes marins omnivores, filtreurs d'eau à travers les branchies, la collecte de leur nutrition est conditionnée par la circulation d'eau qui véhicule les particules alimentaires. Le taux de pompage est très élevé chez ces mollusques (de 50 à 70 litres environ par vingt-quatre heures) (DESGOUILLE 1969), leur nutrition se base principalement des organismes microscopiques (UTTING et MILLICAN, 1997), entre autres : le phytoplancton, y compris les spores d'algues, les dinoflagellés, les diatomées et d'autres micro-algues; le zooplancton, y compris les flagellés, les ciliés, les tintinnidés et d'autres protozoaires; ainsi, les bactéries et les débris organiques (COE, 2005).

Quant à la conchyliculture, elle représente actuellement le quart de la production aquacole mondiale, elle est réalisée depuis le stade larvaire, à partir des œufs fécondés jusqu'à la fixation (HELM *et al.*, 2006). En outre, la sélection des géniteurs utilisés dans la culture des larves s'effectue à partir des populations sauvages car ils présentent une large variabilité due à un polymorphisme génétique robuste, contrairement aux moules domestiquées soumises aux contraintes d'élevage (LUBET et MATHIEU, 1999).

I.6.1 Anatomie et physiologie

La moule comme tous les lamellibranches est caractérisée par : Une coquille bivalve allongée noire, permettant la sauvegarde de la masse viscérale (Figure I-5)

Le pied et le byssus : Le pied, linguiforme, permet le déplacement et l'enfouissement de l'animal dans le sable. IL peut se replier sous l'action de deux muscles rétracteurs. A sa base se trouve la glande du byssus. Elle synthétise des filaments (byssus) qui fixent la moule à son substrat. Une fois qu'ils sont sécrétés, les filaments se solidifient au contact de l'eau de mer.

Les branchies sont une caractéristique majeure des lamellibranches. Elles consistent en de grands organes en feuillets opérant deux séries de phénomènes, la respiration et la filtration de la nourriture à partir de l'eau. Deux paires de branchies sont localisées sur chaque côté du corps.

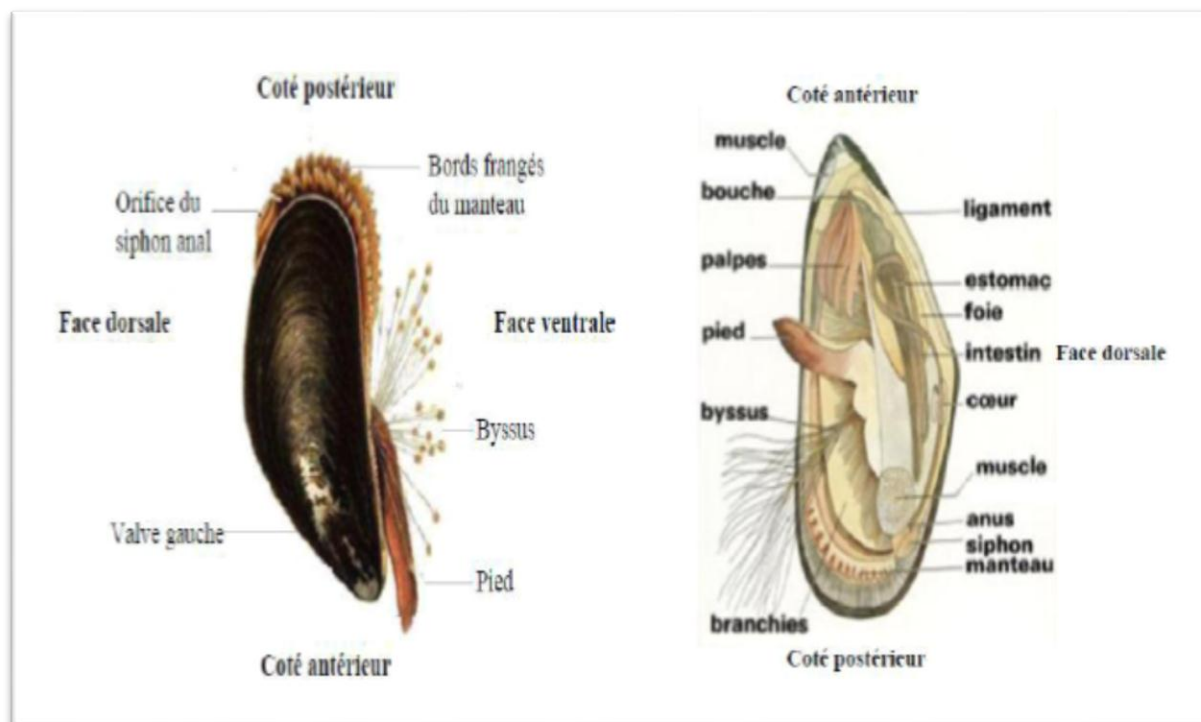


Figure I-4: Anatomie interne et externe de la moule *Mytilus galloprovincialis*. (KHELIL, 2007)

Le muscle : la fermeture générale des valves est assurée par deux muscles adducteurs (antérieur et postérieur). Ces muscles sont antagonistes du ligament, qui grâce à son élasticité assure l'ouverture de la coquille.

La glande digestive: elle assure la digestion et l'absorption des aliments captés par les branchies. (PAGLIASSOTTI MJ *et al.*, 1994)

Le manteau enveloppe l'ensemble de la masse animale et assumant à la fois la sécrétion de la coquille et le rôle de support des gonades.

Le système respiratoire : Les échanges d'oxygène se font par l'intermédiaire des branchies. L'eau chargée en oxygène dissout pénètre dans la cavité palléale via le siphon inhalant. Elle est filtrée par les filaments des deux paires de branchies lamelleuses avant d'être évacuée par le courant exhalant. L'oxygène ainsi capté pénètre dans l'hémolymphe pour être distribué dans tout l'organisme. Lorsque la moule se retrouve à l'air libre, elle ferme sa coquille et passe à une respiration anaérobie (respiration réalisée par certains organismes en l'absence d'oxygène).

Le système circulatoire : L'appareil circulatoire est relativement simple. On y trouve un cœur dorsal (enveloppé par le péricarde) qui comprend deux oreillettes latérales et un ventricule. L'hémolymphe (mélange de sang et de lymphe), chassée dans deux aortes, est distribuée aux différentes parties de l'organisme par un réseau de vaisseaux sanguins. Ce système artériel aboutit à des espaces libres sans parois propres : les lacunes. L'hémolymphe n'est plus, à ce moment,

canalisée en un système de vaisseaux individualisés. Elle gagne ensuite les reins, où elle est purifiée, avant de pénétrer dans les branchies. Dans ces organes, elle s'enrichit alors en oxygène (O₂) et se décharge en gaz carbonique (CO₂). Une fois oxygénée, l'hémolymphe rejoint les oreillettes du cœur. A ce circuit principal se superpose un circuit accessoire. En effet l'hémolymphe qui circule dans le manteau a la possibilité de suivre une voie de retour directe au cœur sans passer par les reins ni les branchies. Lors du passage dans le manteau, un échange d'oxygène et de gaz carbonique a lieu également.

Le système nerveux : Le bord du manteau est tapissé de cellules nerveuses sensibles à la température, aux substances chimiques et à la lumière. Le système nerveux central des mytilidés est principalement constitué de ganglions cérébroïdaux, pédieux et viscéraux. Ce système nerveux diffus possède la capacité de sécréter des neuro- hormones, notamment de nature peptidique. L'activité de certaines cellules des ganglions cérébroïdes (cellules dites piriformes) augmente de manière significative lors de la maturation sexuelle et l'ablation de certains ganglions nerveux (cérébroïdes ou viscéraux) peut inhiber la ponte chez *Mytilus edulis* (Lubet, 1959).

1.6.2 Le cycle sexuel de la moule

Chez les moules, la gonade est diffuse dans le manteau et la masse viscérale. Elle est formée par des acini qui aboutissent à des gonoductes constitués par un épithélium cilié. L'absence de formations musculaires autour de ces gonoductes, montre que l'évacuation des produits génitaux se fait uniquement par des mouvements ciliaires (LUBEY, 1959).



**MATERIELS ET
METHODES**

II. CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1 Echantillonnage :

II.1.1 Présentation Zone d'étude :

Les moules étudiées sont récoltées au mois de septembre de la Ferme conchylicole « CultMare » implantée en bord de mer, à Kouali 3, 6 km à l'Est de la wilaya de Tipaza. Elle dispose d'un terreplein de 2000 m² et d'une concession maritime de 36 hectares dans laquelle sont installées, en sub-surface, 20 filières conchylicoles de 300 mètres chacune. Transportées au laboratoire dans une glacière avec de la glace séparée.



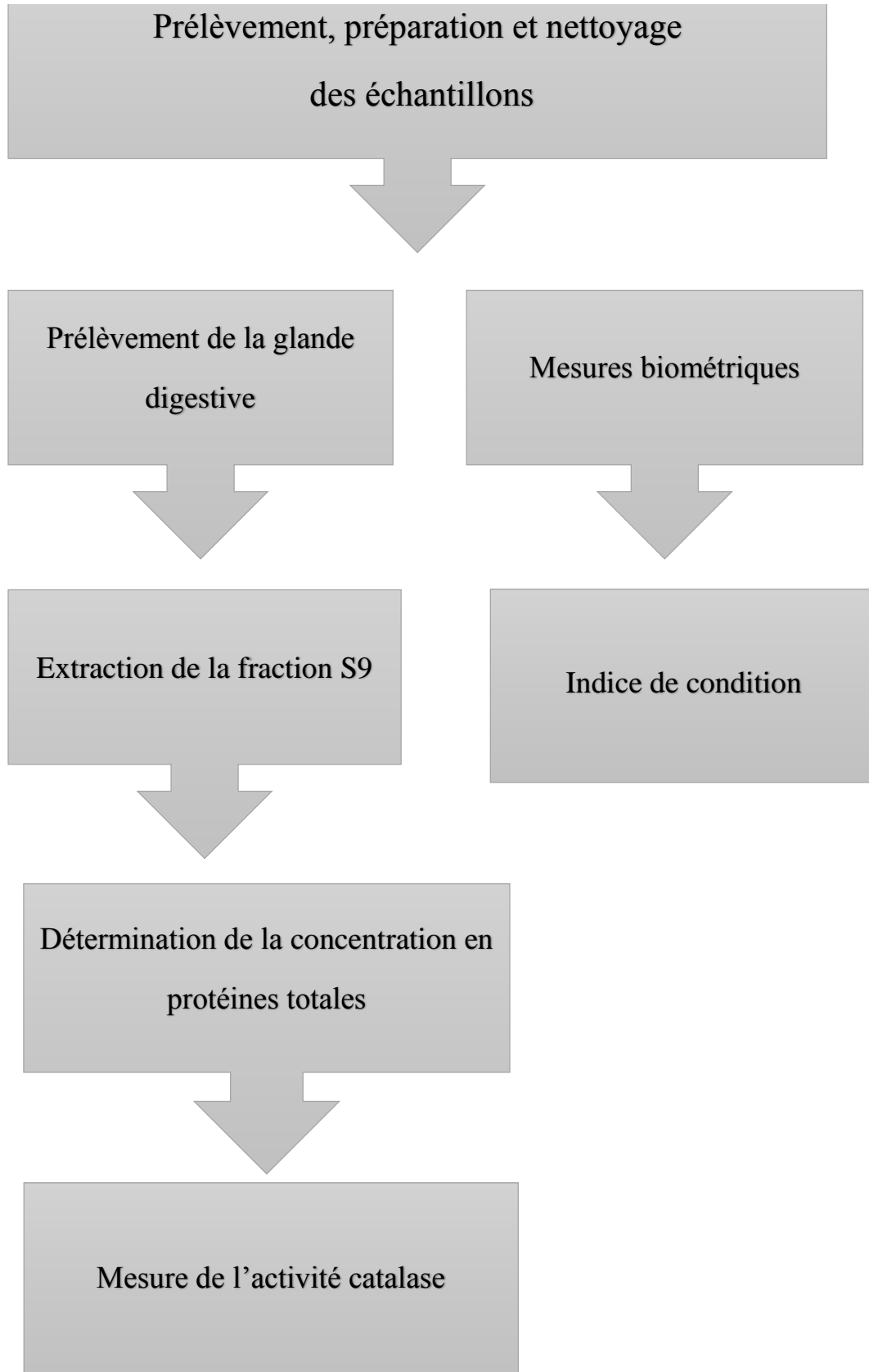
Figure II-1: Station d'élevage de la moule *M.galloprovincialis* la ferme aquacole Cultmare de kouali wilaya de Tipaza (Cultmare,2020)



Figure II-2 : Image satellitaire de la station aquacole Cultmare (CultaMare ,2020)

II.2 Traitement des échantillons

Diagramme récapitulatif des procédures de l'analyse des moules



Les échantillons destinés à la mesure de l'activité CAT doivent être réalisés sur des organismes vivants, immédiatement après leur prélèvement dans le milieu. Dans le cas particulier des bivalves, les animaux peuvent être conservés vivants hors d'eau à 4 °C pendant 24 heures avant dissection (BOCQUENÉ et GALGANI, 2004)

Une fois les moules sont au laboratoire, elles sont directement nettoyées de débarrassées de leurs épibiontes et de leurs byssus et triées (figure 3 et 4) puis elles sont mesurées et pesées.



Figure II-3 : Nettoyage des moules de leurs épibiontes et leurs byssus au laboratoire



Figure II-4 : Les moules triées, nettoyées et débarrassées de leurs épibiontes

II.2.1 Conservation des échantillons

Il n'y a pas de système de conservation qui garantisse l'intégrité des activités après stockage. La dégradation enzymatique est fonction de l'espèce, de la température de stockage (plus elle est basse, plus l'enzyme est stable) et de la durée de stockage. Aujourd'hui, le conditionnement optimal en réduisant au minimum la durée du stockage. Les échantillons doivent être traités

immédiatement après décongélation en maintenant chaîne du froid à 4 °C. Dans tous les cas, le stockage après extraction est à proscrire. (BOCQUENÉ et GALGANI, 2004)

II.3 Mesure des paramètres biométriques

II.3.1 Les Mesures et pesée des moules :

Les mesures des paramètres linéaires ont été effectués à l'aide d'un pied à coulisse (figure 5)

- La longueur (L) : elle correspond à la plus longue distance ; séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille
- La largeur ou hauteur (H) : elle sépare la charnière dorsale du bord ventral
- L'épaisseur (E) : la largeur maximale de la convexité des deux valves réunis



Figure II-5 : Mesure des paramètres biométriques de la moule

Une fois les mesures des paramètres linéaires sont réalisées, les individus sont égouttés et débarrassés de l'eau intervallaire,

-Les paramètres pondéraux ont été réalisé sur la balance électronique GM-610P x0.01g

- Poids total (Pt) : qui correspond au poids de la moule égouttée
- Poids de la chair (Ph) : correspond au poids des parties molles après les avoir écoquiller en utilisant un scalpel et débarrasser de l'eau intervallaire subsistante

II.3.2 Etude de la croissance :

II.3.2.1 Distribution des fréquences de taille :

Quant à la détermination de la distribution des fréquences de taille, Les moules ont été regroupées dans des classes d'intervalles de 10 mm ; ceci a permis de déterminer le nombre d'individus dans chaque classe de taille.

II.3.2.2 Etude de la croissance relative :

L'étude de la croissance relative de la moule *Mytilus galloprovincialis* a été relié par l'analyse biométrique qui établit la relation existante entre la taille et le poids par la loi d'allométrie simple qui s'exprime par l'équation suivante.

$$Y = a X^b$$

Or,

Y : le poids total de la moule

X : taille totale (longueur)

a : indice à l'origine

b : coefficient d'allométrie.

Cette équation peut être exprimée sous sa forme logarithmique après transformation :

$$\log Y = \log a + b \log X$$

On obtient le coefficient d'allométrie (b) et la constante (a) par le traçage de la courbe de puissance qui exprime une corrélation R^2

- ❖ Le test T ou test de Student est un test statistique permettant la comparaison de deux moyennes qui sert à une chaîne de calculs statistique qui va nous préciser la différence significative ou non significative entre le poids total et la taille maximale de l'échantillon qui s'exprime par l'équation suivante :

$$T = \frac{|\mathbf{Po} - \mathbf{P}|}{\mathbf{Spo}} \quad \text{or} \quad \mathbf{Spo}^2 = \frac{(\mathbf{SY}/\mathbf{Sx})^2 - \mathbf{Po}^2}{\mathbf{N} - 2}$$

Po : est le coefficient d'allométrie observé (b)

P : est la valeur du coefficient théorique (b=3)

Sx : l'écartype de la taille

Sy : l'écartype du poids total

Le coefficient allométrique est exprimé par l'exposant (b) de l'équation linéaire de la régression. Afin de déterminer le type d'allométrie, la pente a été comparé à une valeur théorique P égale à 3, à l'aide du test t ou test de STUDENT Selon Trigui (1995)

- Si $t < 1.96 \rightarrow$ il y'a une isométrie, et donc il y'a une différence non significative entre le poids et la taille de la moule .
- Si $t > 1.96 \rightarrow$ on vérifie le coefficient d'allométrie :

$b = 3$: 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 .

II.4 L'Indice de Condition :

L'indice de condition est souvent utilisé pour qualifier l'état physiologique des animaux, par sa corrélation avec la concentration en contaminants, il permet de déterminer un modèle de correction du signal de la pollution obtenue, aussi bien en conchyliculture comme indice pour rendre compte du degré de remplissage des coquilles des animaux. (MERZOUKI *et al.*, 2009), puisque c'est l'un des meilleurs indicateurs de l'état général des organismes pour les études environnementales dans le cas de l'évaluation du stress chez les bivalves (HYÖTYLÄINEN *et al.*, 2002)

Selon PELLERIN- MASSICOTTE (1994), l'indice de condition permet de présumer qu'il y ait une bonne croissance lorsque ce dernier est très élevé.

L'indice de condition (IC) a été déterminé selon la recommandation de l'Association Française de Normalisation (AFNOR, NF V45056, sept. 1985) exprimé par l'équation :

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

Cet indice est fiable (BODOY *et al.*, 1986) et pertinent pour les échantillons qui doivent être maintenus humides pour une analyse chimique et biochimique ultérieure (AMIARD *et al.*, 2004).

II.5 Etude de la réponse biologique exprimée par la moule :

II.5.1 Mesure de l'activité de la catalase :

- Les mesures sont effectuées sur un seul spécimen du lot ;
- Prélèvement des organes (glande digestive) ;
- Extraction de la fraction S9 ;
 - ✓ Détermination de la concentration en protéines
 - ✓ Détermination de l'activité de la catalase

II.5.1.1 Préparation de la fraction S9 :

- Après avoir dissocié les chairs des moules de leurs coquilles pour les mesures biométriques on les a conservés dans du papier aluminium à -21°C ;
- Les glandes digestives ont été prélevées et pesées
- 3.3 g de glande digestive est pris et ajouté à 33 ml de tampon à pH 7 déjà préparé selon le protocole suivant :
 - Peser 12.2 g de dihydrogène phosphate de potassium KH_2PO_4 ;

- 12.9 g de dihydrogène phosphate de sodium Na_2HPO_4 ;
- Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 500 ml dans une fiole jaugée de 500ml ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur magnétique.
- Le tout a été broyé et homogénéisé à l'aide d'un broyeur 1000w
- L'homogénat obtenu a été centrifugé à 3500tr/min pendant 10 min à 4°C
- Le surnageant qui contient la fraction S9 a été ensuite récupéré (il contient le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de golgi et les protéines cytosoliques) pour le dosage de protéines totales et de l'activité CAT recherchée.

II.5.1.2 Dosage des protéines totales par la méthode de Biuret :

Afin de pouvoir mesurer l'activité de l'enzyme catalase, il est indispensable de doser la concentration en protéines totales dans la fraction S9 extraite de la glande digestive de notre échantillon, qui contient la concentration de protéines la plus cultivée des organes vitaux (foi, appareil digestif, gonades, cœur, etc...), pour se faire, un dosage spectrophotométrique est nécessaire afin de pouvoir déterminer la concentration en protéines dans la fraction S9 en se basant sur la gamme étalon qui détermine la densité optique en fonction des concentrations croissantes ; pour cela, on a opté pour l'utilisation du réactif de BIURET (GORNALL *et al.*, 1949) pour réaliser la lecture de densité optique des essais,

- **Principe de la méthode de BIURET :**

C'est une méthode de dosage colorimétrique décrite par GORNALL *et al.*, (1949). Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen.

Le sulfate de cuivre en solution alcaline passe du bleu au bleu violacé en présence de protéines (PERRETT et NAYUNI, 2020)

Le Biuret ($\text{H}_2\text{N-CO-NH-CO-NH}_2$, soit deux molécules d'urée) donne avec les ions cuivriques (Cu^{2+}) et en milieu très alcalin un complexe qui absorbe fortement à 540nm (coloration bleu violacée), l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéine (liaisons peptidiques) présente dans l'échantillon.

Le dosage par la méthode du biuret est réalisé grâce au réactif de Biuret, qui contient :

- Le sulfate de cuivre : source d'ions Cu^{2+} ;
- L'hydroxyde de sodium NaOH permettant l'alcalinisation du milieu ;
- L'iodure de potassium qui évite la réduction (gain d'électrons) du cuivre en Cu^+ ;
- Le tartrate de sodium et de potassium qui forme avec les ions Cu^{2+} un complexe, ce qui empêche leur précipitation sous forme de dihydroxyde de cuivre $\text{Cu}(\text{OH})_2$ à pH alcalin.

L'échantillon à doser est incubé en présence du réactif de Biuret pendant 10 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. La densité optique est alors déterminée à une absorbance à 540 nm (dans le visible) à l'aide de cuves spectrophotométriques en plastique.

- **Préparation du réactif de Biuret :**

- 1.5 g de sulfate de cuivre II penta hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ;
- 6 g de Tartrate de sodium potassium tetrahydraté ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Dissoudre dans 500 ml d'eau distillée dans un BECHER ;
- Ajouter 300ml de NaOH ;
- Compléter le volume jusqu'à 1L avec l'eau distillée ;
- Rajouter 1g d'iodure de Potassium (KI) ;
- Storage dans un contenant en plastique à l'abri de la lumière.

Le réactif de Biuret (produit final) est de couleur bleu.

- **Préparation de la gamme étalon :**

Les réactions des essais sont réalisées dans des tubes à essai au laboratoire dans une température ambiante en maintenant le réactif de BIURET à l'abri de la lumière ;

Préparation de la solution mère :

- 10mg de la BSA (bovine sérum albumine) dans 10ml d'eau bi-distillée ;
 ➤ $[\text{C prot}] = 1\text{mg/ml}$.

La gamme étalon a été effectuée comme suit, (Tableau 1)

Tableau II-1 : La gamme d'étalonnage de la BSA

tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Réactif de Biuret(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Eau bidistillée(ml)	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.1	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04	0.03	0.02
BSA(ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.9	0.91	0.92	0.93	0.94	0.95	0.96	0.97	0.98
Concentration (mg/ml)	0	1	2	3	4	5	6	7	11	12	13	14	15	16	17	18	19

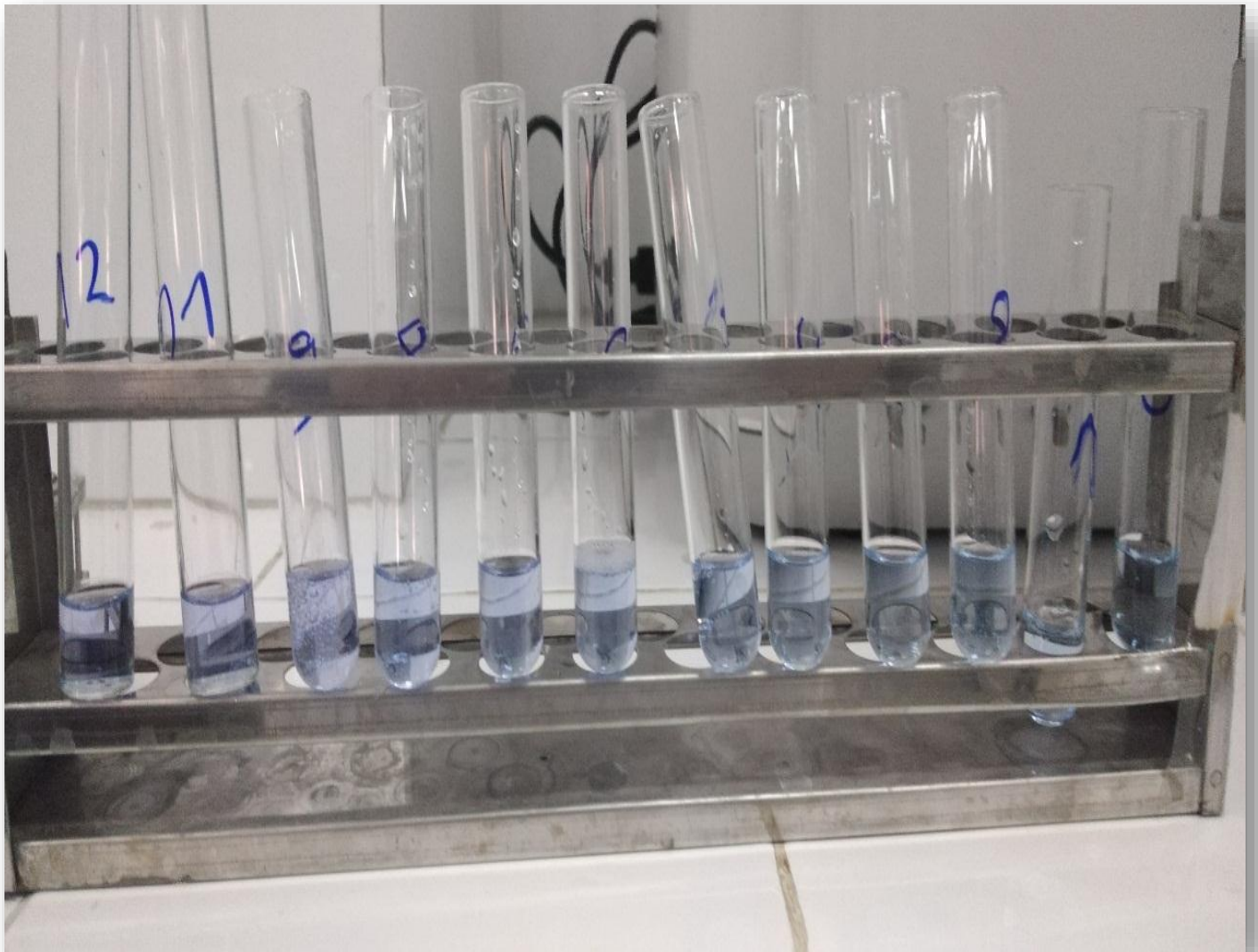
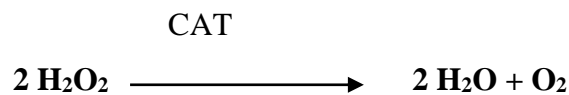


Figure II-6: Essais de la gamme étalon montrant le virage de couleurs du bleu vers le bleu violacé en contact avec la BSA .

- Incubation 10 min à l'obscurité à température ambiante
- Lecture de la densité optique à 540 nm
- Traçage de la droite $DO=f([BSA \mu g/ml])$
- Détermination de la concentration de l'échantillon par extrapolation sur la courbe d'étalonnage.

II.5.1.3 Dosage de l'activité catalase :

Principe : les catalases sont des enzymes qui interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydatif en éliminant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en accélérant la réaction spontanée de dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique pour la cellule en eau et en oxygène. La technique utilisée est celle décrite par Clair borne (1985), elle consiste à suivre la disparition de l'eau oxygénée par action de la catalase selon la réaction suivante :



- Suivre de l'activité enzymatique :

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

Cuve 1	Blanc	-800µl de tampon (100mM, pH7) + -200µl H_2O_2 -lire la DO à 240 nm et remettre le système du spectrophotomètre à zéro
Cuve 2	Essai	-750µl de tampon (100mM, pH7) + -200µl H_2O_2 + -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 240nm

Détermination de l'activité CAT : l'activité spécifique de la catalase est exprimée en $\mu mole \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de protéines et est déterminée à l'aide de la formule suivante :

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

$$\Delta DO / min = DO \text{ à } T_0s - DO \text{ à } T_60s$$


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 $0.04 M \cdot cm^{-1}$

Eau oxygénée 100Mm :

300µl de H_2O_2 à 10 volumes concentré + 9700 µl de H_2O



**RESULTATS ET
DISCUSSION**

III. CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Etude de la croissance :

III.1.1 Distribution des fréquences de taille :

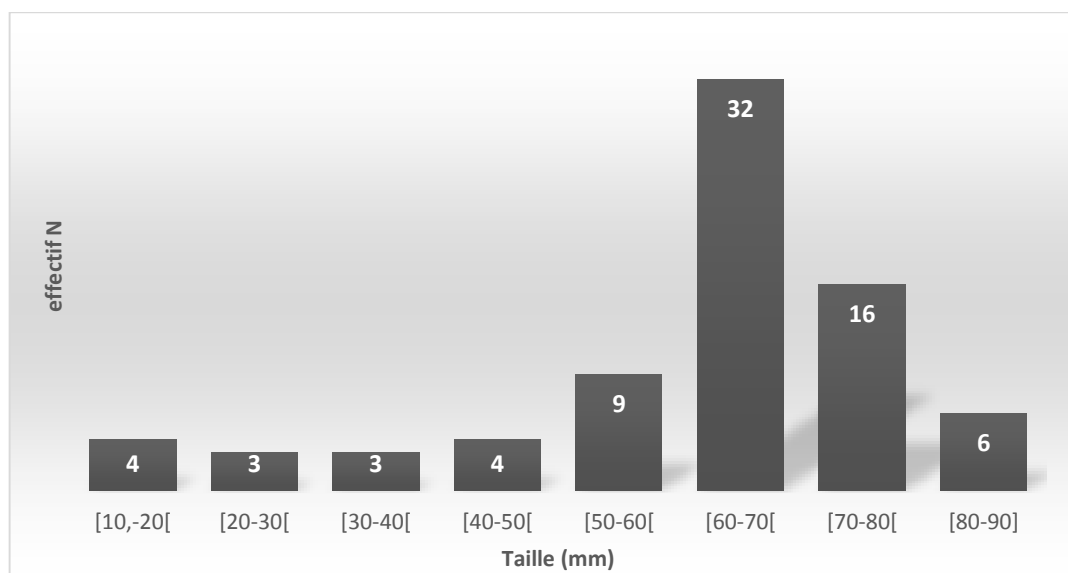


Figure III-1: Histogramme de distribution des fréquences de tailles de *Mytilus galloprovincialis* au mois de septembre

Les individus de l'espèce *Mytilus galloprovincialis* récoltés de la ferme de kouali au mois de septembre ont montré des tailles qui varient de 15 mm jusqu'à 93 mm. La classe d'individus qui a marqué un effectif le plus élevé dans un nombre total de 77 spécimens est la classe de 60 à 70 mm (41.5%), puis on remarque que la classe d'individus de 70 à 80 mm a marqué la moitié du nombre d'effectifs de la classe précédente (20.78%).

III.1.2 Etude de la croissance relative :

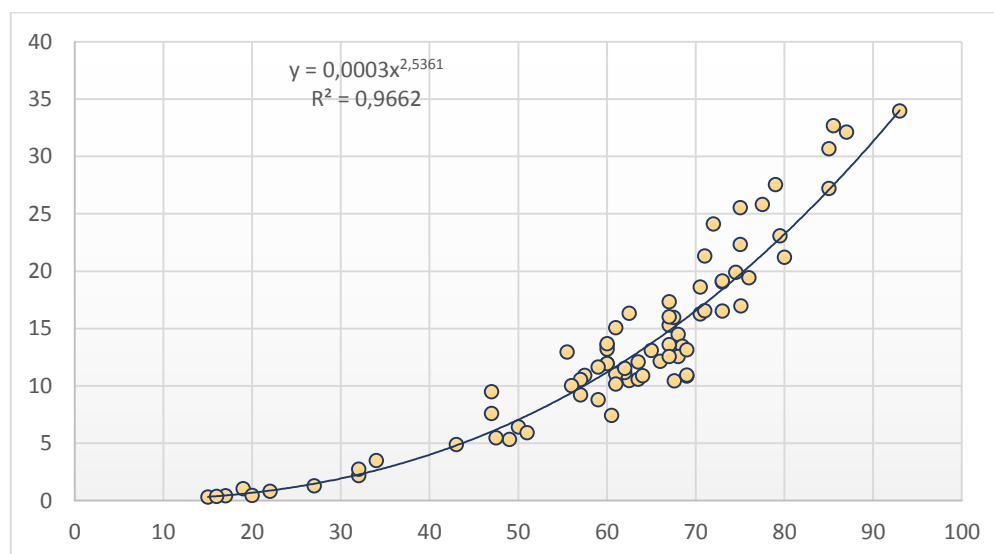


Figure III-2 : Régression entre la taille et le poids total chez la moule *Mytilus galloprovincialis* provenant de la ferme de kouali en moi de septembre.

Le coefficient de détermination R^2 de 96.62% montre une forte corrélation entre le poids total et la taille maximale. La détermination du test T a abouti à une valeur supérieure à 1.96, ce qui explique qu'il existe une différence significative entre l'évolution du poids par rapport à la taille de la moule. Cela peut être dû à un ou plusieurs facteurs biologiques.

L'estimation de la croissance relative de l'espèce *Mytilus galloprovincialis* par l'équation allométrique reliant la longueur maximale au poids total à partir d'un échantillon de 77 individus de différentes tailles de 15 jusqu'à 93mm, montre l'existence d'une allométrie minorante. Cela explique que le poids total des moules croît moins vite que leurs tailles.

III.2 Indice de condition :

L'indice de condition est calculé grâce aux mesures biométriques, (valeurs cités dans le tableau d'annexes) ;

Afin d'interpréter les résultats de notre lot qui contient 77 individus de différentes tailles (2 Kg), récolté de la station Kouali au mois de septembre, on a choisi l'interprétation hollandaise qui se fait par catégories selon le pourcentage de l'indice de condition dans le même lot. (IFREMER, 2003)

Selon Ifremer on utilise ce taux de remplissage pour classer les lots des moules élevées pour la consommation selon 4 classes :

Catégorie 1 : $IC \geq 22\%$

Catégorie 2 : $22\% > IC \geq 20\%$

Catégorie 3 : $20\% > IC \geq 18\%$

Catégorie 4 : $IC < 18\%$

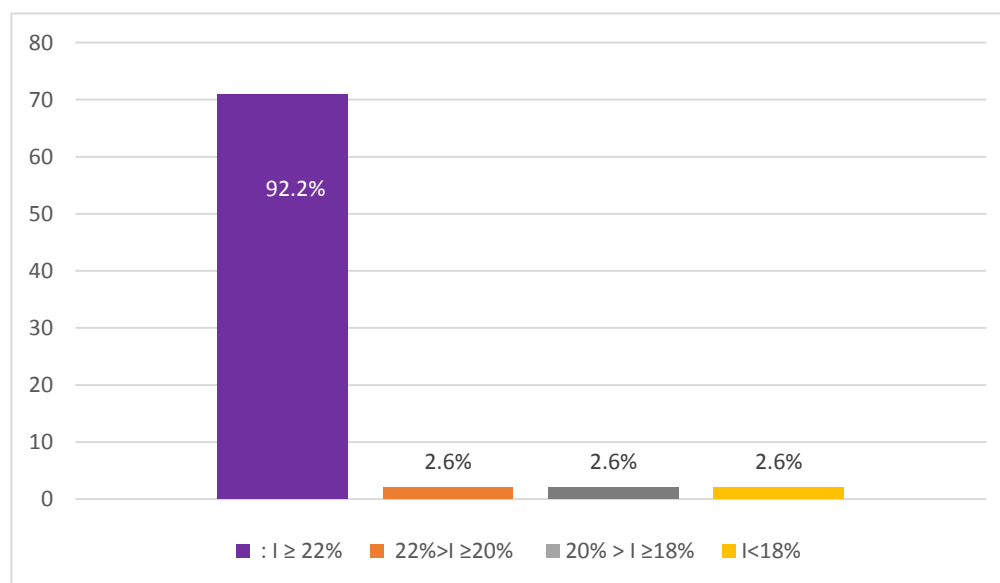


Figure III-3: Histogramme des pourcentages des catégories de l'indice de condition du lot de la moule *M. galloprovincialis*

Les variations de l'indice de condition sont liées à l'état de reproduction des moules et aux fluctuations des paramètres environnementaux (température, salinité et nutrition). Aussi, Schneider (1992) a montré l'impact de la température et des aliments disponibles sur le taux de remplissage des moules (PANTEA *et al.*, 2020)

Les résultats de l'estimation de l'indice de condition des individus récoltés depuis la station de Kouali ont révélé un très bon taux de remplissage, 92.2% des individus du même lot ont un indice supérieur à 22%, (c'est la meilleure catégorie du taux de remplissage dans l'interprétation hollandaise ,dont la production destinée à la commercialisation et à la consommation)(MAZURIÉ et BESSE, 2003).d'autre part,la ferme conchylicole « CulteMare »de kouali ne procède pas à des traitements chimiques. Pour cela, les valeurs de l'indice de condition peuvent être expliqués par l'influence de plusieurs facteurs qui peuvent améliorer le taux de croissance chez la moule. Ces dernières ont été récoltées vers la fin du mois de septembre .Or, la meilleure période de croissance et le moment optimal pour la récolte est la saison d'automne (PEHARDA *et al.*, 2007) . Aussi,nos moules sont matures sexuellement.

L'emplacement des moules par rapport aux cages à poissons influence considérablement la taille des moules. La durée du cycle de production, la profondeur, la position des cordes sur les radeaux et la position des bivalves par rapport aux courants (PEHARDA *et al.*, 2007).

III.3 Biomarqueur du stress oxydatif :

III.3.1 Dosage des protéines :

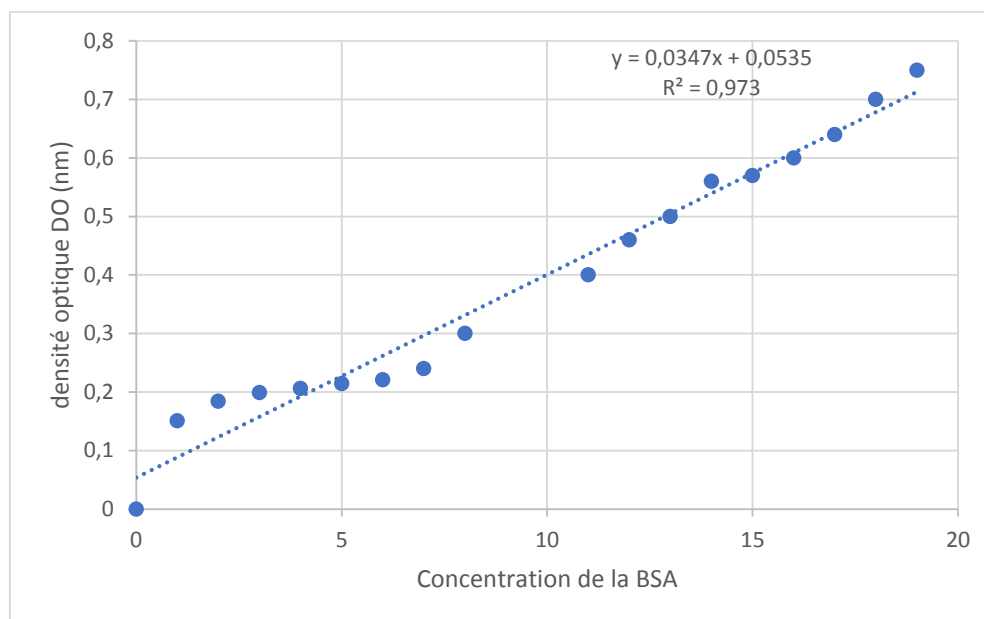


Figure III-4: Courbe d'étalonnage d'absorbance de la BSA en fonction de la concentration

Dans le but de doser l'activité enzymatique de la catalase, il est indispensable de déterminer la concentration en protéines dans notre échantillon, pour cette raison une courbe étalon a été effectuée à partir de d'albumine du sérum de bovin avec des concentrations connues par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540nm.

-Concentration en protéines de notre échantillon en mg/ml = 0,463 mg/ml.

III.3.2 Dosage de l'activité spécifique CAT :

Tableau III-1 Résultats du suivi de l'activité CAT en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) durant 3 min.

Essai	TEMPS(S)	T0	T30	T60	T90	T120	T150	T180
	DO(nm)	1.181	1.172	1.171	1.167	1.166	1.166	1.165

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

$$-\Delta \text{DO} / \text{min} = \text{DO à T0s} - \text{DO à T60s} = 1.181 - 1.171 = 0.01$$

$$\text{Activité catalase} = 0.54 \text{ nmole.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$$

L'évaluation du milieu aquatique se réalise par différents biomarqueurs éco-toxicologiques, dans notre étude, on a opté pour la mesure du stress oxydatif chez la moule *Mytilus galloprovincialis* cultivée, cette espèce est bien choisie pour sa forte adaptation aux polluants par le processus de bioaccumulation des métaux lourds (l'arsenic, le cadmium, le chrome hexavalent, le cuivre, le plomb, le mercure, le nickel, le sélénium...etc), ces derniers provoquent le stress oxydatif (DELLALI *et al.*, 2004), elle est capable d'augmenter sa capacité antioxydante en réponse à la pollution (ALOÍSIO TORRES *et al.*, 2002). Néanmoins, une diminution de la teneur en oxygène est à l'origine d'une augmentation de l'activité CAT chez le ver *Heteromastus filiformis* (DELLALI *et al.*, 2001)

De plus, les apports anthropiques et/ou les conditions du milieu ne sont pas les seuls phénomènes qui interviennent dans la réponse enzymatique CAT étudiée, elles peuvent présenter un grand polymorphisme génétique, et ne répondent pas de la même façon aux modifications du milieu. (DELLALI *et al.*, 2001)

La comparaison du résultat de l'activité CAT de la fraction S9 extraite de la glande digestive de la moule, montre que la valeur obtenue est très faible (négligeable) par rapport aux résultats de (BENALI, BOUTIBA, *et al.*, 2015; BENDJOU DI *et al.*, 2014; DELLALI *et al.*, 2001; KOURDALI *et al.*, 2020), comme l'indique le (Tableau 2)

Tableau III-2 : Comparaison de la valeur de l'activité CAT aux données bibliographiques.

Site étudié	Ferme « Cult Mare » Kouali (Tipaza)	Ferme «EAM»Ain- Tagourait Bou Ismail	Figuier, W. Boumerdes)	Port d'Oran	la lagune de Bizerte station Menzel Jemil -Tunisie	La côte est de l'Algérie Wilaya d'el Taref
Espèce	<i>Mytilus galloprovincialis</i>					
Auteur	La présente étude	(BENDJOU DI <i>et al.</i> , 2014)	(KOURDALI <i>et al.</i> , 2020)	(BENAL I, BOUTIB A, <i>et al.</i> , 2015)	(DELLALI <i>et al.</i> , 2001)	BOUDJEBIEUR, 2018
Activité CAT ($\mu\text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$)	5.4*10⁻⁴	4,97	59.3	>400	87,59	16.184

La faible activité enzymatique antioxydante CAT de dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) testées peut-être expliquer par l'absence du stress oxydatif, et cela reflète la stabilité physiologique relative de la moule (KOURDALI *et al.*, 2020).

Selon DELATTRE *et al.*, (2005), les radicaux libres, produits à faible concentration, interviennent dans le mécanisme de régulation intracellulaire tel que l'activation des protéines régulatrices de la fixation du GTP ou des récepteurs kinases, le signal est relayé par des seconds messagers intracellulaire tels que l'AMP cyclique (AMPC), le calcium [Ca^{++}] ou des métabolites secondaires. Produit en grande quantité, ils induisent des modifications irréversibles de structure et des fonctions de macromolécules de la matrice extracellulaire (DELATTRE *et al.*, 2005), en fonction de cette équation, le système antioxydant intervient dans le processus de neutralisation de l'excès de ces radicaux libres par l'augmentation de l'activité antioxydante de la catalase responsable de la dismutation du peroxyde d'hydrogène (PIZZINO *et al.*, 2017)

L'activité enzymatique CAT de notre échantillon semble relativement faible, en comparaison aux travaux effectués dans la même étude. D'autre part, la catalase peut être aussi bien inactivé par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à des concentrations supérieures à $100\mu M$ (DELATTRE *et al.*, 2005), cela peut expliquer la faible activité CAT dans notre échantillon.

Les résultats de (REGOLI et PRINCIPATO, 1995), de REGOLI *et al.*, (2000) ont montré que l'exposition continue au cuivre réduit la capacité de neutraliser diverses formes d'espèces réactives de l'oxygène, caractérisée par une sensibilité accrue à la maladie du stress oxydatif. Un tel état reflétera une altération de l'état de santé et l'apparition de plusieurs formes de toxicité à médiation oxyradicale. Parmi ceux-ci, la déstabilisation lysosomale, aux conséquences délétères sur la fonction immunitaire, la digestion intracellulaire de la matière alimentaire et le potentiel reproducteur (REGOLI, 2000).

La faible activité enzymatique de la catalase peut être également expliquer par l'altération génétique due aux polymorphismes d'ADN au niveau du gène responsable de l'expression de l'enzyme CAT (DELATTRE *et al.*, 2005).

Selon les résultats du présent travail, il semble difficile de mettre en évidence une estimation définitive sur l'état physiologique de la moule puisque le biomarqueur du stress oxydatif n'a pas exprimé une forte réponse.

Néanmoins, le résultat de cette étude pourrait être réapprécié dans un contexte d'étude et d'expérimentation post CoViD-19 où l'activité économique et sociale reprendrait sa vie normale.



**CONCLUSION GÉNÉRALE
ET PERSPECTIVES**

CONCLUSION GENERALE :

Le présent travail a été réalisé dans le but de contribuer à la mesure du stress oxydatif chez la moule *Mytilus galloprovincialis* qui est une espèce très abondante dans la méditerranée et cultivée dans les fermes aquacoles pour la consommation, par l'étude biochimique, de la réponse du biomarqueur du stress oxydant qui a été menée en mesurant l'activité enzymatique de la catalase.

La mise au point du protocole de dosage de l'activité catalase comme biomarqueur de stress oxydatif nous a abouti à une évaluation relative de l'état physiologique de l'espèce en question.

Les mesures biométriques nous indiquent que notre échantillon est en bonnes conditions d'élevage et répond aux mesures recommandées pour la commercialisation et la consommation, et cela décèle la nature du milieu dans lequel nos moules sont cultivées.

En effet, quand le niveau de pollution d'origine terrestre et anthropique a diminué durant cette période (crise sanitaire du CoViD19), la moule sentinelle *Mytilus galloprovincialis* exprime un état physiologique relativement stable, notamment le système de défense antioxydant étudié ne manifeste pas un état de stress oxydatif considérable.

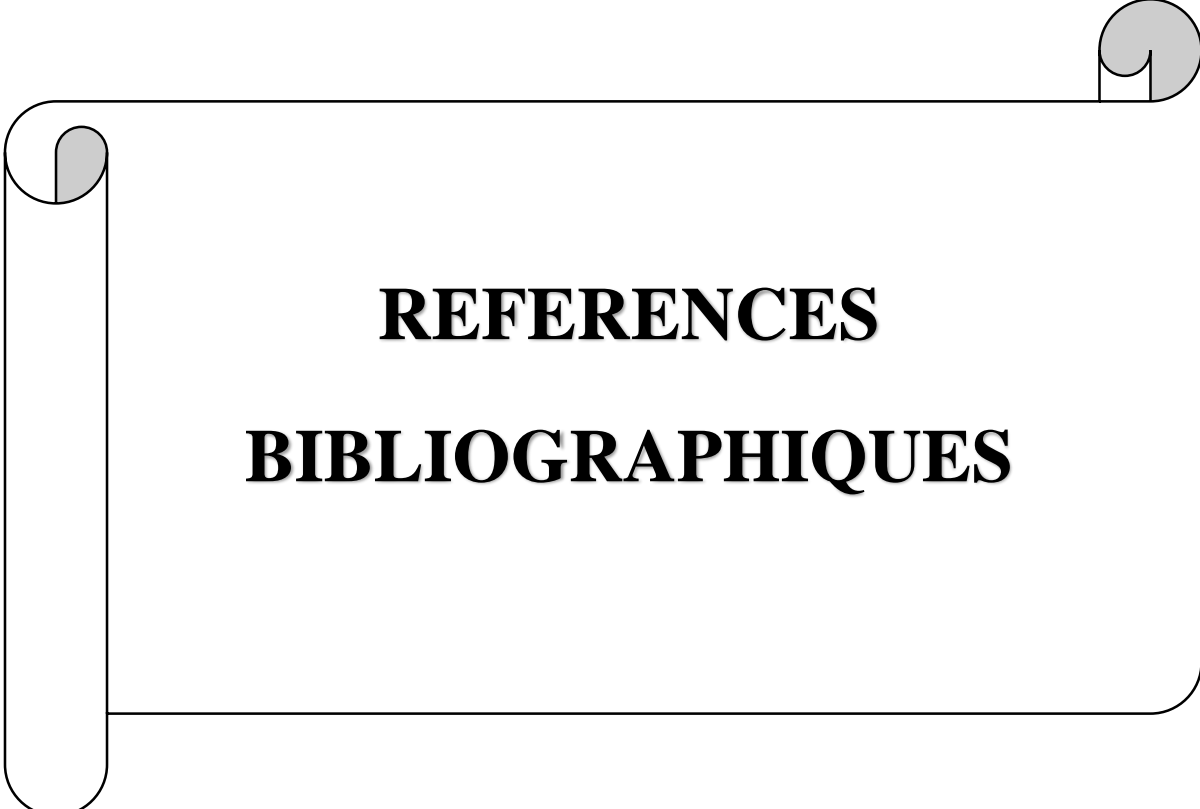
Notre étude étant effectuée dans une période exceptionnelle, les résultats discutés doivent être relativisés quant à l'estimation de l'état physiologique des moules destinées à la consommation. Il faut relever, de façon générale, que le contexte de crise sanitaire et de confinement pendant plusieurs mois a réduit sensiblement l'activité économique dans les zones industrielles ou dans les zones d'activités à proximité de l'écosystème marin comme les zones portuaires, limitant les niveaux de pollution marine. Même le trafic maritime international a été affecté. Il en résulte de tout ça un moindre déversement de pollution, surtout les polluants chimiques et organiques tels que (les HAP, PCB, pesticides et engrais chimiques), qui impactent fortement sur les espèces marines.

Enfin, la mesure du stress chez une telle espèce sédentaire et sensible à la pollution consiste à intégrer plusieurs biomarqueurs pour faire une étude complète et une estimation significative de l'état de physiopathologie de l'espèce. En effet, l'utilisation de la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* comme espèce bio-indicatrice, s'est avérée un moyen précieux pour la contribution à l'évaluation du risque environnemental. Ce travail de recherche aborde initialement le problème du stress oxydatif chez la moule *Mytilus galloprovincialis* et décèle des aboutissements qu'il faut approfondir en intégrant d'autres aspects qui sont apparus dans notre recherche.

Pour cela, nous suggérons de réfléchir en perspectives sur :

- La mesure des autres biomarqueurs de toxicité, tel que le biomarqueur de neurotoxique (Acétylcholinestérase), biomarqueur de génotoxicité (le test des comètes et le test des micronoyaux) pour étudier l'impact de la pollution marine sur le génome de l'espèce
- Etudier l'impact des altérations épigénétiques dues aux facteurs environnementaux et aux polluants sur l'expression génétique des protéines fonctionnelles.
- Séquençage du génome de la moule pour évaluer la contamination biologique par des micro-organismes (bactéries, virus, champignons) pathogènes.
- L'étude mécanistique plus approfondie des processus physiopathologiques permettra de définir de nouvelles approches thérapeutique.

Ces éléments peuvent constituer la base d'une nouvelle recherche que nous espérons continuer dans l'avenir .



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE :

- **BEIRAS RICARDO (2018).** Marine pollution –Sources, Fateand Effect of Pollutants Coastal Ecosystems.
- **DELATTRE JACUES *et al.*, (2005)** Radicaux libres et stress oxydant (Aspects biologique et pathologiques).Paris ,Lavoisier ,Edition TEC & DOC.

AARAB NADIA (2004).Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition a l'effet et du laboratoire au terrain.Pages.

ALBAKJAJI MOHAMAD (2010).Pollution of the Mediterranean Sea from oil-related to marine traffic.Pages.

ALMEIDA EDUARDO A, BAINY AFONSO CELSO DIAS, DAFRE ALCIR LUIZ, GOMES OSMAR F, MEDEIROS MARISA H- G et DI MASCIO PAOLO (2005).Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel (*Perna perna*) exposed to air and re-submersed. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 318:21-30.

ALOÍSIO TORRES MOACIR, PIRES TESTA CAMILA, GÁSPARI CATIA, BEATRIZ MASUTTI MARIANA, MARIA NEVES PANITZ CLARICE, CURI-PEDROSA ROZANGELA, ALVES DE ALMEIDA EDUARDO, DI MASCIO PAOLO et WILHELM FILHO DANILO (2002).Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. Marine Pollution Bulletin 44:923-932.

AMIARD-TRIQUET CLAUDE, THIERRY BURGEOT et DIDIER CLAISSE (1999).Biomonitoring of the marine environment quality : experience of the French National Observation Network (RNO) and the development of biomarkers. Océanis (0182-0745) 25 , N. 4 , P. 651-684:

AMIARD JEAN-CLAUDE AMIARD-TRIQUET CLAUDE (2008).Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. lavoisier.

AMIARD JEAN-CLAUDE, BACHELEY HÉLÈNE, BARILLÉ ANNE-LAURE, BARILLÉ LAURENT, GEFFARD ALAIN et HIMERY NOLWENN (2004).Temporal changes in nickel and vanadium concentrations and in condition index and metallothionein levels in three species of molluscs following the “Erika” oil spill. Aquatic Living Resources 17:281-288.

AMICO CLAUDIA (2017). Riviving the economy of the mediterranean sea Journal

BENALI, BOUTIBA, ZITOUNI, MERABET AMINA et CHÈVRE NATHALIE (2015).Integrated use of biomarkers and condition indices in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for monitoring pollution and development of biomarker index to assess the potential toxic of coastal sites. Marine Pollution Bulletin 95:385-394.

BENALI, IMENE BOUTIBA, MERABET ZITOUNI, CHÈVRE AMINA et NATHALIE (2015).Integrated use of biomarkers and condition indices in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for monitoring pollution and development of biomarker index to assess the potential toxic of coastal sites. Marine Pollution Bulletin 95:385-394.

BENDJOU DI DJAMEL, FAYZA ZOUAOUI, MOHAMED BRAHIM ERRAHMANI, KAMEL BENDJEDDOU et NADIA CHEKIR (2014).Measurements of two biomarkers catalase and malondialdehyde in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) following acute contamination by

Staphylococcus aureus spp., Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, Série Zoologie, 2013.

BOCQUENÉ GUILLES GALGANI FRANÇOIS (2004).Les marqueurs biologiques des effets des polluants:L'Acetylholinestérase

BODIN N, BURGEOT T, STANISIÈRE J. Y, BOCQUENÉ G, MENARD, MINIER C., BOUTET I., AMAT A., CHEREL Y. et BUDZINSKI H (2004).Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 138:411-427.

- BODOY ALAIN, PROU JEAN et BERTHOME JEAN-PAUL (1986).**Etude comparative de différents indices de condition chez l'huître creuse (*Crassostrea gigas*). *Haliotis*, 15, 173-182.:
- BOLOGNESI C, FRENZILLI G, LASAGNA C, PERRONE E et ROGGIERI P (2004).**Genotoxicity biomarkers in *Mytilus galloprovincialis*: wild versus caged mussels. *Mutat Res* 552:153-162.
- BOUKADIDA AMMAR KHOULOUD (2017).**Etude des réponses de la moule *Mytilus spp* exposée à des stress métallique et thermique durant les stades embryo-larvaires.Pages.
- CAIRN (2010).**Glossaire et index des sigles. *Sciences Eaux & Territoires* Numéro 1:55-60.
- CÉCILE MICHEL (2011).**Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* :indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN.Pages.
- COE WESLEY (2005).**Nutrition and growth of the California bay- mussel (*Mytilus edulis diegensis*). *Journal of Experimental Zoology* 99:1-14.
- COSSU C , A DOYOTTE, C JACQUIN M, BABUT, A EXINGER et . VASSEUR P (1997).**Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies.
. *Ecotox Environ. Safe.* 38, 122–131
- DELLALI MOHAMED, ROMEO MICHÈLE et AISSA PATRICIA (2001).**Suivi annuel de l'activité catalase chez des moules et des palourdes originaires de la lagune de Bizerte. *Oceanologica Acta* 24:263-271.
- DELLALI MOHAMED, ROMEO MICHÈLE, GNASSIA-BARELLI MAURICETTE et AÏSSA PATRICIA (2004).**A Multivariate Data Analysis of the Clam *Ruditapes Decussatus* as Sentinel Organism of the Bizerta Lagoon (Tunisia). *Water, Air, and Soil Pollution* 156:131-144.
- DESGUILLE ARLETTE (1969).** Les moules du Lazaret (Rade de Toulon) (suite) - Le plancton dans la nutrition des moules. pp. - Archimer.
- FRAISSE MATHILDE (2018).**Les territoires urbains méditerranéens au défi des mutations démographiques et environnementalespp. Agence des Villes et Territoires Méditerranéens Durables.
- GALLOWAY TAMARA S., BROWN REBECCA J., BROWNE MARK A., DISSANAYAKE AWANTHA, LOWE DAVID, DEPLEDGE MICHAEL H. et JONES MALCOLM B. (2006).**The ECOMAN project: A novel approach to defining sustainable ecosystem function. *Marine Pollution Bulletin* 53:186-194.
- GARRIC JEANNE , MORIN SOIZIC et VINCENT-HUBERT FRANÇOISE (2010).**Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage. *cairn .info* 12-17.
- GILLIS PATRICIA L., HIGGINS SARAH K. et JORGE MARIANNA B. (2014).**Evidence of oxidative stress in wild freshwater mussels (*Lasmigona costata*) exposed to urban-derived contaminants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 102:62-69.
- GISD (2020).**Species profile: *Mytilus galloprovincialis*pp. *Global Invasive Species Database*
- GOEURY DAVID(2014).**LA POLLUTION MARINE - Mers et océans.edited by R. WOESSNER. *Atlande*, Paris. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01091818>
- GORNALL A. G., BARDAWILL C. J. et DAVID M. M. (1949).**Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 177:751-766.
- GRAVEZ BERNARD (2006).**La pollution marine
- HELM MICHAEL M, NEIL BOURNE et ALESSANDRO LOVATELLI (2006).**Ecloserie De Bivalves: Un Manual Pratique.
- HERMES-LIMA M., STOREY J. M. et STOREY K. B. (1998).**Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 120:437-448.
- HYÖTYLÄINEN T., KARELS A. et OIKARI A. (2002).**Assessment of bioavailability and effects of chemicals due to remediation actions with caging mussels (*Anodonta anatina*) at a creosote-contaminated lake sediment site. *Water Res* 36:4497-4504.
- IFREMER (2003).**Mise au point d'un protocole standard utilisant la cuisson au four a micro-ondes pour la mesure d'un indice de condition de moules.pp. 14. ARCHIMER, Laboratoire Conchylicole de Bretagne-Station de la Trinité-sur-Mer.

- KAMEL NAOUEL (2014)**. Effets combinés des facteurs environnementaux et des polluants chimiques chez la moule *Mytilus galloprovincialis* : Harmonisation des biomarqueurs d'exposition suivant les recommandations OSPAR et MEDPOL. Pages.
- KHELIL F. Z. (2007)**. Evaluation de la contamination de l'eau de mer et d'un mollusque la moule, *Mytilus galloprovincialis* (Lmck, 1819) Pêché du port d'Oran. .Pages.
- KOURDALI SIDALI, NABILA BOUNAKOUS, ABDELLAH MEKNACHI, BILAL ZENATI et AHMED INAL (2020)**. Preliminary Study of Catalase Enzyme Activity and Protein Concentrations in the Mediterranean and African Mussels, *Mytilus galloprovincialis* and *Perna perna*, Cohabiting on the Same Natural Coastal Site (Figuier, Boumerdes, Algeria). *Ocean Science Journal*
- LABROT F. R. D., TISNERAT G, CABRIDENC R, NARBONNE JF (1996a,.)**. Le plomb dans l'environnement : sources, mécanismes de transfert et effets biologiques. Dans: "Aspects analytiques du plomb dans l'environnement". coordonateur M. Morlot, Lavoisier Tec & Doc éditions, 3-15.
- LAMARK LE CHEVALIER(1819)**. Histoire naturelle des ANIMAUX SANS VERTEBRE - Tome sixieme. Lavoisier, paris. <https://www.biodiversitylibrary.org>
- LIVINGSTONE DAVID. (1993)**. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 57, 195-211.
- LUBET PIERRE E. MATHIEU MICHEL (1999)**. Applications à la conchyliculture des récentes acquisitions sur la biologie des mollusques bivalves. *L'Année Biologique* 38:27-50.
- LUBEY PIERRE (1959)**. Research on the sexual cycle and the issuance of gametes among mytilids and pectinids (bivalve molluscs).
- MARTIGUES (2020)**. *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819pp. edited by MOLLUSCABASE. Word Register of Marine Species, france
- MARTÍNEZ-GÓMEZ CONCEPCIÓN, ROBINSON CRAIG DAVID, BURGEOT THIERRY, GUBBINS MATT, HALLDORSSON HALLDOR P., ALBENTOSA MARINA, BIGNELL JOHN P., HYLLAND KETIL et VETHAAK A. DICK (2017)**. Biomarkers of general stress in mussels as common indicators for marine biomonitoring programmes in Europe: The ICON experience. *Marine Environmental Research* 124:70-80.
- MAZURIÉ JOSEPH BESSE TIMOTHÉE (2003)**. Mise au point d'un protocole standard utilisant la cuisson au four a micro-ondes pour la mesure d'un indice de condition de moules.pp. IFREMER, Laboratoire Conchylicole de Bretagne.
- MEJDOUB ZINEB, FAHDE ABDELILAH, LOUTFI MOHAMMED et KABINE MOSTAFA (2017)**. Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary's pollution in coastal areas of Casablanca. *Ocean & Coastal Management* 136:95-103.
- MERZOUKI MOHAMED, TALIB NAJAT et SIF JAMILA (2009)**. Indice de condition et teneurs de quelques métaux (Cu, Cd, Zn et Hg) dans les organes de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la côte d'El Jadida (Maroc) en mai et juin 2004. 31:
- MIGDAL C. SERRES M. (2011)**. [Reactive oxygen species and oxidative stress]. *Med Sci (Paris)* 27:405-412.
- MOREIRA S. M., COIMBRA J. et GUILHERMINO L. (2001)**. Acetylcholinesterase of *Mytilus galloprovincialis* LmK. Hemolymph: A Suitable Environmental Biomarker. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 67:470-475.
- PAGLIASSOTTI MJ, DAVIS SN et CHERRINGTONAD (1994)**. The role of the liver in maintaining glucose homeostasis Austin R.G. Landes Company.
- PAIVA FILIPA (2014)**. "Ship transport of marine invasive species and its stress resistance". Pages.
- PAMPANIN DANIELA M., CAMUS LIONEL, GOMIERO ALESSIO, MARANGON ILENIA, VOLPATO ELISA et NASCI CRISTINA (2005)**. Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice Lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin* 50:1548-1557.
- PANTEA ELENA-DANIELA, OROS ANDRA, ROȘIORU DANIELA MARIANA et ROȘOIU NATALIA (2020)**. Condition Index of Mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) as a Physiological Indicator of Heavy Metals contamination. *Journal*

- PEHARDA MELITA, ŽUPAN IVAN, BAVČEVIĆ LAV, FRANKIĆ ANAMARIJA et KLANJŠČEK TIN (2007).**Growth and condition index of mussel *Mytilus galloprovincialis* in experimental integrated aquaculture. *Aquaculture Research* 38:1714-1720.
- PELLETIER EMILIE CAMPBELL PETER (2008).**Aquatic ecotoxicology - Comparison between organic micropollutants and metals: Current situation and future perspectives. *Revue des Sciences de l'Eau* 21:
- PERRETT D. NAYUNI N. K.(2020).**21 - Efficacy of current and novel cleaning technologies (ProReveal) for assessing protein contamination on surgical instruments☆, pp. 483-502 - Decontamination in Hospitals and Healthcare (Second Edition).edited by J. WALKER. Woodhead Publishing.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081025659000212>
- PETERS ESTHER C, GASSMAN NANCY J, FIRMAN JULIE C, RICHMOND ROBERT H et POWER ELIZABETH A (1997).**Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:12-40.
- PIZZINO G., IRRERA N., CUCINOTTA M., PALLIO G., MANNINO F., ARCORACI V., SQUADRITO F., ALTAVILLA D. et BITTO A. (2017).**Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev* 8416763:27.
- REGOLI FRANCESCO (2000).**Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquatic Toxicology* 50:351-361.
- REGOLI FRANCESCO PRINCIPATO GIOVANNI (1995).**Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology* 31:143-164.
- RITTSCHOF D. MCCLELLAN-GREEN P. (2005).**Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. *Mar Pollut Bull* 50:369-373.
- ROMÉO M., FRASILA C., GNASSIA-BARELLI M., DAMIENS G., MICU D. et MUSTATA G. (2005).**Biomonitoring of trace metals in the Black Sea (Romania) using mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Water Res* 39:596-604.
- ROUANE-HACÈNE OMAR (2007).**Biosurveillance de la pollution marine au niveau de la côte occidentale algérienne par l'étude de la contamination du Merlu méditerranéen (*Merluccius merluccius* L.,1758) par les polluants organochlorés (HCB, DDT, DDE, DDD, Lindane).Pages.
- SANCHEZ WILFRIED PORCHER JEAN-MARC (2009).**Use of biomarkers for characterisation of water body ecotoxicological status. *Techniques Sciences Méthodes* 29-38.
- STEINBERG CHRISTIAN ADE MANFRED (2005).**Ecotoxicology, where do you come from and where do you go? *Environmental science and pollution research international* 12:245-246.
- UTTING S. D. MILLICAN P. F. (1997).**Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture* 155:45-54.
- VAN DER OOST RON, BEYER JONNY et VERMEULEN NICO P. E. (2003).**Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13:57-149.
- VASSEUR PAULE COSSU-LEGUILLE CAROLE (2003).**Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environment International* 28:711-717.
- VIARENGO ALDO, PONZANO ENRICA, DONDERO FRANCESCO et FABBRI RITA (1997).**A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research* 44:69-84.
- VIDAL-LIÑÁN LETICIA, BELLAS JUAN, CAMPILLO JUAN ANTONIO et BEIRAS RICARDO (2010).**Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 78:265-272.
- VINCENT (2006).**étude d'expertise en aquaculture pollution-environnement - pêche
- W. E. JOHNSON K. L. KIMBROUGH, A. P. JACOB, AND G. G. LAUENSTEIN** Mussel Watch Program: Expanded Long-term Great Lakes Monitoring Project Planpp. edited by N. C. F. C. O. SCIE. Silver Spring, Maryland 20910.
- WADE T., MARTIN N. G. et TIGGEMANN M. (1998).**Genetic and environmental risk factors for the weight and shape concerns characteristic of bulimia nervosa. *Psychol Med* 28:761-771.

- WADE TERRY L., SERICANO JOSÉL, GARDINALI PIERO R., WOLFF GARY et CHAMBERS LAURA (1998).**NOAA's 'Mussel Watch' project: Current use organic compounds in bivalves. Marine Pollution Bulletin 37:20-26.
- WINSTON GARY W. DI GIULIO RICHARD T. (1991).**Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquatic Toxicology 19:137-161.
- YUSOF A. M, YANTA N. F et WOOD A. K. H (2004).**The use of bivalves as bio-indicators in the assessment of marine pollution along a coastal area. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 259:119-127.
- ZABR (2009).**La démarche écotoxicologie pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiquespp. - 5eme journée thématique de la ZABR. edited by ZABR. Graie, Parc des expositions – Valence (26)



ANNEXES

N	Longueur (L) mm	Largeur mm	Epaisseur mm	poids total gr	poids de la chair (gr)	poids de la coquille (gr)	IC %	Sexe
1	93	49	35	33,96	8,94	23,36	26,3250883	F
2	75	43	30	25,55	6,88	18,16	26,927593	F
3	85	46	31	30,67	7,68	21,97	25,0407564	F
4	85	44	30	27,21	8,45	17,6	31,0547593	M
5	79	48	31	27,56	8,42	18,78	30,5515239	F
6	87	43	31	32,12	10,01	21,26	31,1643836	F
7	75	42	29	22,34	6,38	15,66	28,5586392	M
8	69	36	22	10,87	3,61	7,22	33,2106716	M
9	70,5	36	24	16,27	5,08	9,9	31,22311	F
10	67	38	22,5	15,31	4,69	10,35	30,6335728	F
11	85,5	46	33	32,68	8,57	23,91	26,2239902	M
12	76	40,5	26,5	19,42	5,62	13,5	28,9392379	M
13	71	39,6	23	16,55	4,99	10,83	30,1510574	M
14	62,5	32,6	20,5	10,47	3,12	7,2	29,7994269	F
15	73	38	23,6	19,06	5,27	13,28	27,6495278	F
16	73	41	24	19,16	6,11	12,77	31,8893528	M
17	71	39	31	21,34	6,04	14,97	28,3036551	M
18	77,5	43	29	25,83	6	19,31	23,2288037	M
19	68	30,5	25	14,48	4,5	9,33	31,0773481	F
20	68,5	34	25,5	13,47	4,87	8,57	36,1544172	F
21	79,5	38	29	23,09	8,33	14,75	36,0762235	M
22	67,6	34	20	10,46	2,75	7,57	26,290631	F
23	72	41	26	24,13	6,62	6,05	27,4347286	M
24	75,1	41,2	30	16,97	5,37	10,81	31,6440778	F
25	70,5	37	22,9	18,61	5,32	12,5	28,5867813	M
26	73	37,5	27	16,53	4,97	11,45	30,0665457	F
27	69	31	22,5	10,95	3,77	7,15	34,4292237	F

28	74,5	36	27,5	19,91	6,17	13,08	30,9894525	F
29	67,5	38	22	15,96	4,99	10,97	31,2656642	F
30	67	35	24,5	13,6	4,19	9,32	30,8088235	M
31	66	36,5	23,5	12,16	3,18	8,84	26,1513158	F
32	80	39	28	21,21	4,41	15,72	20,7920792	M
33	61	33	22	15,08	4,21	10,49	27,9177719	F
34	68	35	23	12,56	3,46	8,94	27,5477707	F
35	63,5	29,5	21,5	10,6	3,01	7,47	28,3962264	F
36	62	31	21	11,16	3,7	7,19	33,1541219	F
37	61	34	20	11,04	2,64	8,38	23,9130435	F
38	60	31	19	11,96	3,41	8,36	28,5117057	M
39	64	34	20,5	10,89	3,21	7,33	29,476584	F
40	60,5	29,2	21	7,43	1,61	5,66	21,6689098	F
41	61	31,5	21	10,16	3,1	6,9	30,511811	F
42	55,5	31	24	12,95	3,55	9,33	27,4131274	M
43	57,5	32	24	10,93	2,8	7,84	25,6175663	F
44	69	37	21	13,14	3,47	9,62	26,4079148	F
45	67	37	21,5	16,03	4,2	11,6	26,2008734	M
46	62,5	35	23	16,34	4,24	11,7	25,9485924	M
47	67	37	24	17,34	4,07	12,79	23,4717416	F
48	67	37	23	12,57	3,33	9,1	26,4916468	F
49	60	35	21	11,96	3,55	8,1	29,6822742	M
50	59	31	20	8,8	2,25	6,43	25,5681818	F
51	65	36	23	13,09	4,11	8,49	31,3980138	F
52	60	33,5	20,5	13,55	4,28	9,07	31,5867159	M
53	60	37	24	13,2	3,61	9,27	27,3484848	M
54	57	34	20,5	10,55	2,8	7,55	26,5402844	M
55	56	31	20	10,04	3,49	6,5	34,7609562	F
56	50	27	17	6,44	1,9	4,84	29,5031056	M

57	62	32,5	22,5	11,53	2,81	8,34	24,3712056	F
58	63,5	32	20	12,08	3,52	8,24	29,1390728	F
59	59	31	22	11,66	2,11	9,39	18,0960549	F
60	49	26	17	5,33	1,37	3,9	25,7035647	M
61	60	35	23	13,671	4,15	8,97	30,3562285	M
62	57	29	19,5	9,22	2,68	6,41	29,0672451	F
63	47,5	26	16,5	5,48	1,41	4,02	25,729927	M
64	47	27,5	21,5	9,51	2,72	6,42	28,6014721	F
65	47	30	20,5	7,6	1,67	5,37	21,9736842	F
66	51	27	16	5,92	1,44	4,35	24,3243243	M
67	43	26	14	4,9	1,4	3,21	28,5714286	M
68	34	18	10	3,49	1,02	2,43	29,226361	F
69	32	20	9	2,2	0,61	1,34	27,7272727	F
70	32	24	9	2,75	0,68	2,02	24,7272727	F
71	19	13	7	1,04	0,23	0,78	22,1153846	M
72	27	15,5	7	1,29	0,3	0,91	23,255814	M
73	22	8	6	0,83	0,18	0,55	21,686747	F
74	20	11	5,5	0,46	0,12	0,33	26,0869565	M
75	17	10	5	0,4398	0,069	0,3616	15,6889495	F
76	15	9	3	0,3082	0,0528	0,2314	17,1317326	M
77	16	9	4,5	0,3646	0,0708	0,2775	19,4185409	M

Résumé :

Le présent mémoire est une contribution à l'étude de l'état physiologique de la moule *Mytilus galloprovincialis* récoltée de la ferme conchylicole « CultMare » de la plage Kouali-wilaya de Tipaza pendant le mois de septembre, par des indices biométriques et statistiques des individus, ainsi par la mise au point d'un protocole expérimental de mesure du dosage de l'activité enzymatique de la catalase comme biomarqueur de stress oxydatif.

La mesure du stress oxydatif a été effectuée sur de la fraction S9 de la Glande digestive de la moule.

Les résultats de l'indice de condition et de l'activité antioxydante montrent que les moules ne sont pas sous un stress oxydatif significativement élevé

Mots-clés : *Mytilus galloprovincialis*, biomarqueur, stress oxydatif, activité de la catalase, écosystème marin, pollution

Summary:

This thesis is a contribution to the study of the physiological state of the mussel *Mytilus galloprovincialis* harvested from the shellfish farm "CultMare" of the Kouali beach -wilaya of Tipaza during the month of September, by biometric and statistical indices of individuals. thus by the development of an experimental protocol for measuring the assay of the enzymatic activity of catalase as a biomarker of oxidative stress.

The measurement of the oxidative stress was carried out on the S9 fraction of the digestive gland of the mussel.

The results of the condition index and the antioxidant activity show that the mussels are not under significantly high oxidative stress

Keywords: *Mytilus galloprovincialis*, biomarker, oxidative stress, catalase activity, marine ecosystem, pollution

ملخص:

هذه الرسالة هي مساهمة في دراسة الحالة الفسيولوجية لبليح البحر *Mytilus galloprovincialis* الذي يتم حصاده من مزرعة المحار CultMare على شاطئ كوالي ولاية تيبازة خلال شهر سبتمبر، من خلال المؤشرات الحيوية والإحصائية للأفراد، وأيضاً من خلال تطوير بروتوكول تجريبي لقياس مقايصة النشاط الأنزيمي للكتلاز كمؤشر حيوي للإجهاد التأكسدي.

تم إجراء قياس الإجهاد التأكسدي على الجزء S9 من الغدة الهضمية لبليح البحر.

أظهرت نتائج مؤشر الحالة والنشاط المضاد للأكسدة أن بليح البحر لا يتعرض لضغط أكسدة مرتفع بشكل ملحوظ

الكلمات الدالة: المؤشرات الحيوية ، الإجهاد التأكسدي ، نشاط الكاتلاز ، النظام البيئي *Mytilus galloprovincialis*

البحري ، التلوث،