

Effet du cadmium sur l'activité de l' α -amylase chez *Mytilus galloprovincialis*

Effect of cadmium on α -amylase activity in Mytilus galloprovincialis

Aafaf Essedaoui*, Jamila Sif*, Pierre Kerambrun**

(*) Laboratoire de physiologie animale, Université Chouaib Doukkali, Faculté des sciences
Groupe sciences de la mer, B.P. 20 - 24000 El Jadida, Maroc

(**) Laboratoire d'océanologie et de biogéochimie, Centre d'océanologie de Marseille,
Université de la Méditerranée, Campus de Luminy, F-13228 Marseille Cedex 9, France

Mots clés : activité de l' α -amylase, côte atlantique marocaine, *Mytilus galloprovincialis*, cadmium.

Key-words: α -amylase activity, Atlantic coast of Morocco, *Mytilus galloprovincialis*, cadmium.

RÉSUMÉ

Essedaoui A., J. Sif, P. Kerambrun, 1998 - Effet du cadmium sur l'activité de l' α -amylase chez *Mytilus galloprovincialis*. Mar. Life, 8 (1-2) : 51-61

La variation de l'activité de l' α -amylase a été étudiée en fonction du degré de pollution métallique chez *Mytilus galloprovincialis*. Cette étude a été faite au niveau de la glande digestive des moules de taille 30-40 mm, d'une part, à partir des prélèvements mensuels provenant des stations avoisinant les rejets industriels de l'usine Maroc-phosphore III et IV, dans la région de Jorf-Lasfar, et d'autre part, sur des moules contaminées au laboratoire par du chlorure de cadmium. Parallèlement, nous avons réalisé le dosage du cadmium au niveau de ces mêmes glandes et effectué la mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer des différentes stations étudiées. La mesure de la température et du pH révèle une eau réchauffée et acide surtout au niveau de la station S3 située au voisinage immédiat du rejet principal. L'étude comparative de l'activité amylasique montre une variation saisonnière avec un maximum en été - automne. Si on considère les stations les plus proches de la source de pollution, cette activité présente une baisse significative par rapport à celle des animaux provenant des sites non ou peu pollués. Cette baisse est d'autant plus grande que l'accumulation du cadmium dans les mêmes conditions est plus importante, particulièrement en hiver. D'autre part, les résultats obtenus à partir des moules traitées au laboratoire montrent que l'activité de cette enzyme diminue lorsque la concentration et la durée d'exposition au cadmium augmentent.

ABSTRACT

Essedaoui A., J. Sif, P. Kerambrun, 1998 - [Effect of cadmium on α -amylase activity in *Mytilus galloprovincialis*]. Mar. Life, 8 (1-2): 51-61

Variation of α -amylase activity was studied in function of pollution level in *Mytilus galloprovincialis*. This study was carried out on the digestive gland on monthly samples coming from stations located near the industrial out-fall of Morocco-phosphor III and IV factories, at Jorf-Lasfar and on samples made at reference station, as well as in digestive gland mussels experimentally contaminated with cadmium chlorate. At the same time, measurements of cadmium content in the tissues of the digestive gland were carried out, and, in sea-water, main spatio-temporal fluctuations of temperature and pH were analysed. Amylase activity showed seasonal variations with a maximum in summer-autumn period at the reference station. Amylase activity decreased in mussels coming from polluted stations and seemed to be inversely proportional to cadmium accumulation in tissues, particularly in winter. Similarly, results obtained from experimental mussels showed that this activity decreased when concentration and duration of exposure to Cd increased.

INTRODUCTION

Les mollusques sentinelles sont considérés comme des indicateurs biologiques de la pollution métallique (Bryan, 1976 ; Phillips, 1976 ; Berthet *et al.*, 1986 ; Kennedy, 1986 ; Regoli, Orlando, 1993). De nombreux métaux tels le Cd, le Pb, le Zn, le Cu sont concentrés au niveau des tissus des bivalves (Lima *et al.*, 1986 ; Talbot, 1986 ; Phelps, Hetzel, 1987). Cette accumulation subit une variation saisonnière qui est due, d'une part, à la variation de la concentration du métal (Lewis, Cave, 1982) et, d'autre part, à la taille et au poids des organismes en relation avec leur maturité (Bryan, 1973 ; Frazier, 1975 ; Phillips, 1976 ; Majori *et al.*, 1978 ; Boyden, Phillips, 1981 ; Ritz *et al.*, 1982 ; Amiard *et al.*, 1986 ; Phelps, Hetzel, 1987).

Par ailleurs, la mesure des activités enzymatiques digestives est depuis longtemps utilisée comme moyen d'étudier la nutrition et le régime alimentaire du zooplancton (Boucher, Samain, 1975 ; Boucher *et al.*, 1976 ; Hirche, 1981 ; Guérin, Kerambrun, 1982 ; Hassett, Landry, 1983 ; Mayzaud *et al.*, 1984 ; Roche-Mayzaud *et al.*, 1991), particulièrement l'utilisation de l'activité de l' α -amylase (Samain *et al.*, 1980 ; Samain *et al.*, 1985 ; Mayzaud *et al.*, 1987 ; Rodriguez *et al.*, 1994).

La mesure de l'activité de la glutathione S-transférase (Fitzpatrick *et al.*, 1995), de la catalase et la putative D-T-diaphorase (Livingstone *et al.*, 1995) a été étudiée au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* exposée à la pollution organique. Toutefois, dans les données de la littérature, nous possédons peu d'informations sur la mesure de la variation à long terme de l'activité de l' α -amylase en fonction de la pollution métallique chez les bivalves.

Dans ce travail, nous avons étudié les variations de l'activité de l' α -amylase induites par la pollution métallique au niveau de la glande digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la région de Jorf-Lasfar. Cette approche a été rendue possible par l'utilisation conjointe des données de la mesure des paramètres physico-chimiques du biotope de ce bivalve et du dosage du cadmium au niveau de la glande digestive aussi bien des moules prélevées dans un milieu naturel pollué (région de Jorf-Lasfar) que de celles traitées au laboratoire par le chlorure de cadmium.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Description du site d'étude

La région de Jorf-Lasfar est située à 25 km au sud de la ville d'El Jadida ; elle présente un complexe chimique d'industries nommé Maroc-phosphore III et IV dont les rejets sont déversés directement et continuellement dans l'eau de mer à l'aide de deux collecteurs : respectivement le rejet de refroidissement et le rejet principal.

Le rejet de refroidissement est un effluent liquide constitué de l'eau de mer utilisée pour la

réfrigération, pour maintenir le vide dans les bouilleurs, pour le lavage des filtres, ...

Le rejet principal est un effluent liquide - solide, caractérisé par une température élevée, un pH acide et riche en résidus phospho-gypsifères, ces derniers sont récupérés à la sortie de l'étape de la filtration.

Le choix des stations étudiées (figure 1) est basé sur leur emplacement par rapport au rejet principal, source de pollution métallique. Les prélèvements ont été réalisés dans sept stations :

- station 1 (S1) : située à 500 m au nord du rejet principal ;
- station 2 (S2) : zone de contact de l'émissaire de refroidissement avec l'eau de mer ;
- station 3 (S3) : zone de contact de l'émissaire principal avec l'eau de mer ;
- station 4 (S4) : située à 500 m au sud du rejet principal ;
- station 5 (S5) : située à 1 km au sud du rejet principal ;
- station 6 (S6) : située à 2 km au sud du rejet principal ;
- station T (ST) : située à 1 km de la ville d'El Jadida et à 28 km au nord du rejet principal, elle est caractérisée par son éloignement des rejets domestiques et industriels.

Dosage des paramètres physico-chimiques

Parmi les paramètres mesurés dans l'eau de mer des différentes stations prospectées, nous citons : la température mesurée sur le terrain à l'aide d'un thermomètre gradué au 1/10° et exprimée en °C ; le pH mesuré dès l'arrivée des échantillons au laboratoire à l'aide d'un pH-mètre de type 521 WTW.

Le dosage de l'oxygène dissous (mg.l^{-1}) est réalisé par la méthode de Winkler (Rodier, 1984). Les orthophosphates (mg.l^{-1}) et les nitrites (mg.l^{-1}) sont dosés au laboratoire par la méthode d'Aminot et Chaussepied (1983).

Mesure de l'activité de l' α -amylase

Après leur prélèvement, les moules de taille 30-40 mm, prélevées uniquement au niveau des stations ST, S4, S5 et S6 (les stations S1, S2 et S3 sont dépourvues de moules), sont mises dans des flacons en matière plastique remplis d'eau de mer et transportées au laboratoire dans des glacières. Dès leur arrivée, les animaux sont disséqués et leurs glandes digestives sont isolées. Deux grammes de ces glandes sont ensuite homogénéisés à froid dans 4 ml de tampon phosphate salin (20 mM Na_2HPO_4 , 20 mM NaH_2PO_4 et 10 mM NaCl, pH 6,9), puis centrifugés à 4°C pendant 10 minutes à 10 000 g. Le surnageant obtenu est incubé avec 1% d'amidon dans le même tampon pendant 15 minutes à 37°C. La formation du sucre réducteur, le maltose, produit de la réaction enzymatique est quantifiée colorimétriquement par addition d'une solution d'acide 3,5-dinitrosalicylique et de tartrate double de sodium et potassium (Rick, Stegbauer, 1984). Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ de protéines.

Les protéines totales sont dosées au niveau de la glande digestive des moules par la méthode de Lowry et collaborateurs (1951) ; elles sont exprimées en $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ de poids sec.

Les moules traitées au laboratoire proviennent de la station de référence (ST) et sont transportées de la même manière. Elles sont mises ensuite dans des bacs contenant deux litres d'eau de mer (à raison de 12 individus par bac) continuellement oxygénée, et dont la température est comprise entre 21 et 23°C. Les animaux sont soumis à une acclimatation de 24 heures. Ils sont ensuite traités par le chlorure de cadmium (CdCl_2) pendant 24 et 48 heures. Les concentrations retenues sont 2 et 4 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Le groupe témoin ne reçoit aucun traitement particulier. L'activité de l' α -amylase est mesurée au niveau de la glande digestive des animaux des trois groupes (contrôle, 2 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ et 4 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de CdCl_2) par dosage colorimétrique décrit précédemment, à raison de quatre individus par groupe et par temps de contamination.

Dosage du cadmium dans les glandes digestives des moules

Une période de jeûne (environ 36 heures) a été imposée aussi bien aux moules prélevées sur le terrain qu'à celles contaminées au laboratoire, afin que les teneurs en métaux du contenu digestif ne viennent pas interférer avec les métaux présents dans les tissus de l'animal (Amiard-Triquet *et al.*, 1984).

Quarante à soixante glandes digestives par station sont isolées du reste du corps, desséchées à l'étuve à 70°C pendant 48 heures et broyées. Des fractions de 0,5 g de ces glandes sont soumises à une attaque par un mélange d'acide nitrique (20 ml) et d'acide sulfurique (5 ml) puis à un traitement à l'eau oxygénée (20 ml) et à l'eau bidistillée (20 ml) (Thibaud, 1983). Les fioles contenant les échantillons sont ensuite mises dans un bain de sable pendant 15 heures (la température est de l'ordre de 100 à 140°C). Les minéralisats ainsi obtenus sont filtrés, dilués à l'eau bidistillée, puis stockés dans des fla-

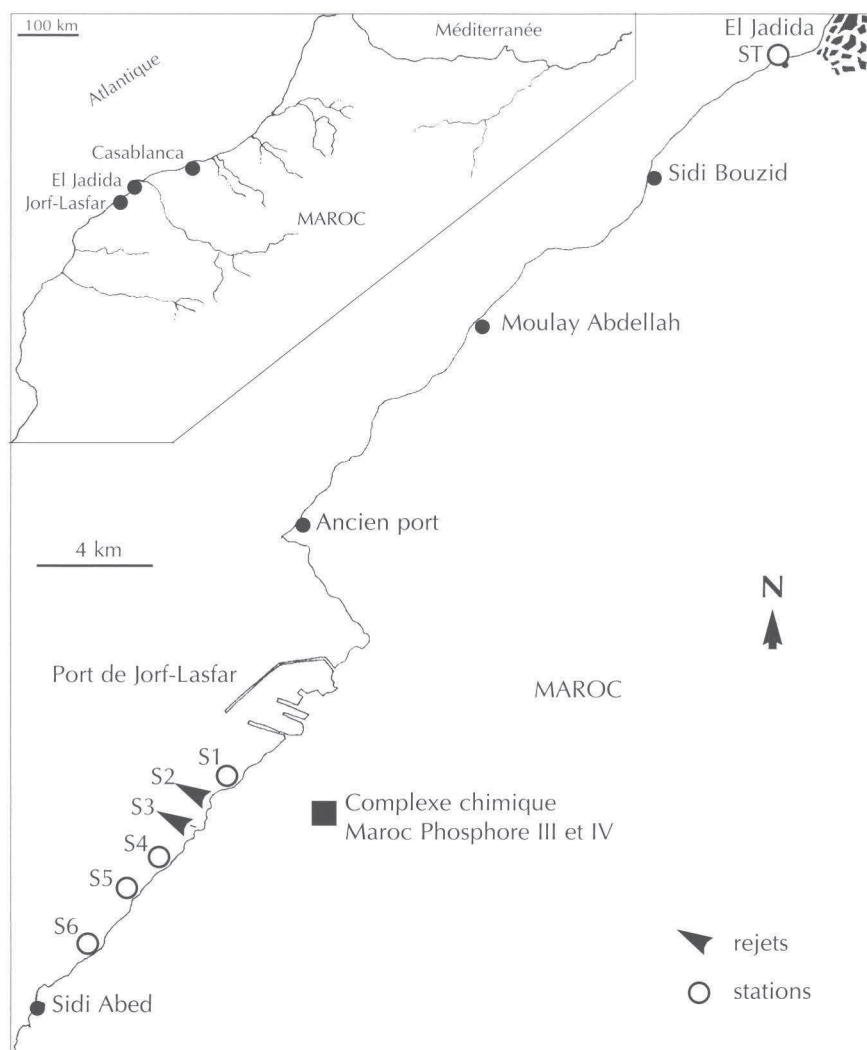


Figure 1 - Situation des stations d'étude et des deux émissaires de Jorf-Lasfar (El Jadida). / Location of the studied stations and two outfalls in the area of Jorf-Lasfar (El Jadida).

cons à 4°C jusqu'au moment de l'analyse par spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite réalisée au laboratoire d'analyses vétérinaires à Casablanca. Les résultats sont exprimés en mg.kg^{-1} de poids sec (ppm).

Traitements statistiques des données

Les concentrations en cadmium et les mesures de l'activité de l' α -amylase au niveau des glandes digestives sont exprimées sous forme de moyennes $\pm$ l'écart standard. Afin de comparer les différentes concentrations et activités, nous avons utilisé l'analyse de variance (ANOVA) et établi les tests de Fischer (test F) et de Newman et Keuls. Pour montrer l'effet du cadmium sur l'activité amylasique, nous avons déterminé le coefficient de corrélation (r) entre ces deux variables.

RÉSULTATS

Paramètres physico-chimiques

Nous ne rapportons ici que la mesure de la température et du pH qui sont directement liés à la mesure de l'activité enzymatique étudiée. Pour les stations qui sont au voisinage immédiat des rejets (S2 et S3), nous notons une élévation de la température de l'eau durant toute l'année avec une valeur minimale de 23°C pendant les mois de novembre et décembre (figure 2). Cependant, la température pendant la même saison dans la station la plus éloignée du rejet de refroidissement est de 15°C, soit environ 8°C de différence.

Concernant le pH (figure 3), les stations S1, S2, S4, S5 et S6 présentent une stabilité voisine de la station de référence ST, soit des valeurs de pH comprises entre 7 et 8. C'est surtout la station S3 qui pré-

sente deux situations différentes, d'abord une très grande variation annuelle et aussi des valeurs de pH très acide ($\text{pH}=2$ au mois de juillet).

Dosage du cadmium dans la glande digestive des moules

Moules issues du milieu naturel pollué

La figure 4 représente la variation de la quantité de cadmium au niveau de la glande digestive des moules des différentes stations prospectées. Le premier résultat qui mérite d'être signalé est la variation hautement significative de la concentration du cadmium selon la date ($F=152,57$; $P<0,0001$) et le site ($F=1060,60$; $P<0,0001$) du prélèvement.

Comparées à la station de référence (ST), les glandes des animaux de la station S4 présentent des concentrations significativement plus élevées en cadmium durant presque tous les mois, la valeur maximale ($53,30 \pm 1,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ de poids sec) est enregistrée au cours du mois d'avril. La plus faible valeur est notée au mois de janvier 1996 ($9,25 \pm 0,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ de poids sec).

Les glandes digestives des moules provenant de la station S5 présentent des concentrations également élevées en cadmium par rapport à celles des animaux de la station ST sur tous les mois de l'année. Comparées aux glandes digestives des moules de la station S4, ces concentrations restent comparables uniquement pendant les mois de juin, juillet, août, septembre, novembre et janvier. Les glandes des animaux de la station S5 présentent des concentrations en cadmium plus élevées seulement pendant les mois de novembre et février (respectivement $42,47 \pm 1,58$ et $38,15 \pm 1,61 \text{ mg.kg}^{-1}$ de poids sec). Durant les autres mois, les glandes des moules de la station S4 restent les plus concentrées en cadmium.

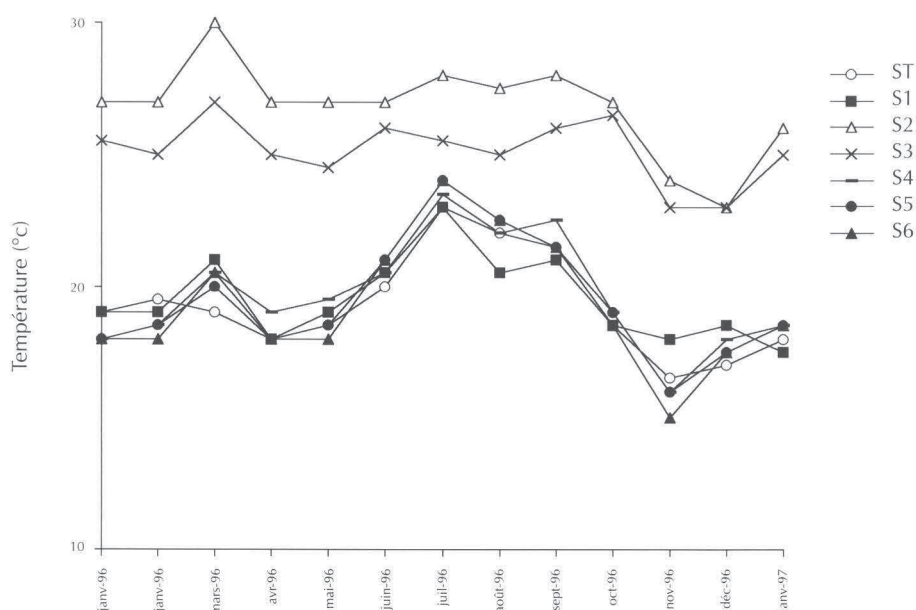


Figure 2 - Variation annuelle de la température dans les différentes stations étudiées. / Annual variation of the temperature in the different studied stations.

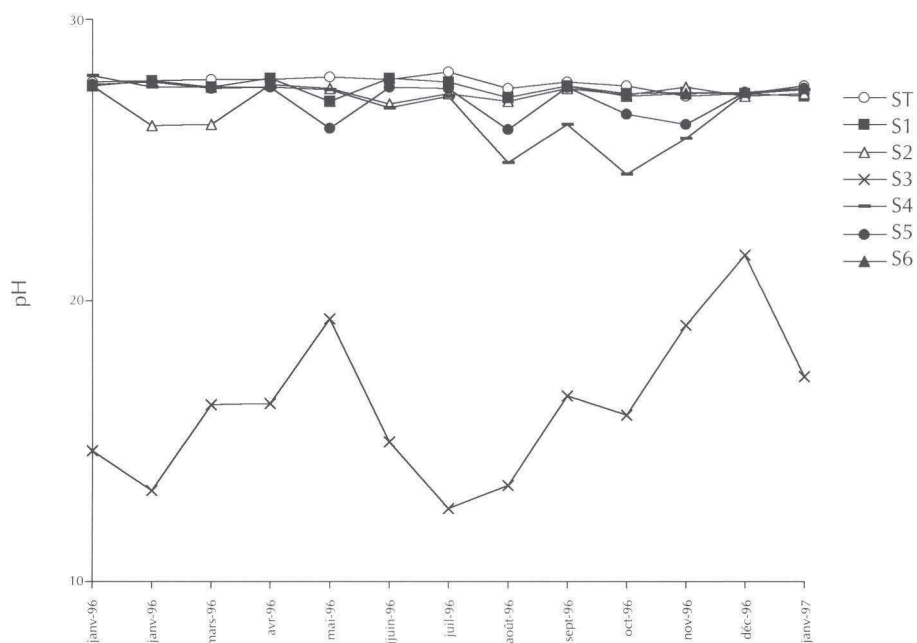


Figure 3 - Variation annuelle du pH dans les différentes stations étudiées. / Annual variation of the pH in the different studied stations.

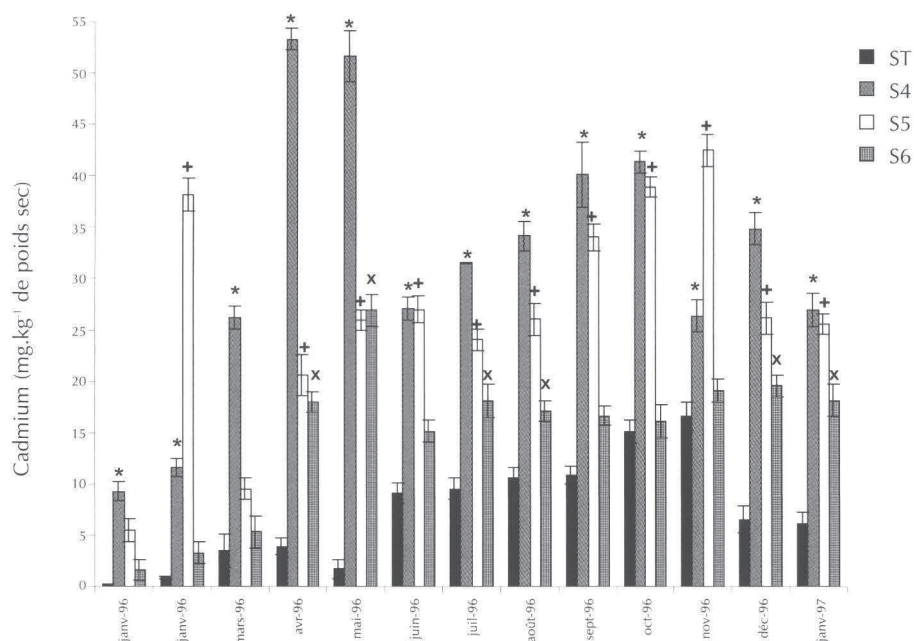


Figure 4 - Variation annuelle des concentrations du cadmium dans les glandes digestives des moules des stations étudiées. $p < 0,01$: (*) S4 versus ST ; (+) S5 versus ST ; (x) S6 versus ST. / Annual variation of concentration of cadmium in the digestive gland of mussels in the studied stations. $p < 0,01$; (*) S4 versus ST; (+) S5 versus ST; (x) S6 versus ST.

Au niveau de la station S6, les teneurs en cadmium s'avèrent les plus faibles par rapport aux autres stations (la valeur maximale est de $26,92 \pm 1,57$ mg.kg⁻¹ de poids sec en mai). Cependant, elles restent significativement plus élevées que celles des animaux de la station ST pendant les mois d'avril, mai, juin, juillet, août, décembre et janvier.

Moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium

La figure 5 représente la variation de la concentration du cadmium au niveau de la glande digestive des moules contaminées au laboratoire par 2 et 4 mg.l⁻¹ de chlorure de cadmium pendant 24 et 48 heures. L'analyse de variance réalisée montre une différence hautement significative selon la concentration du polluant ($F=1800,60$; $p<0,0001$) et la durée d'exposition ($F=786,34$; $p<0,0001$).

Aucune différence significative de la concentration du cadmium n'est enregistrée au niveau des glandes digestives des animaux des deux groupes témoins (24 h et 48 h).

La comparaison entre les groupes expérimentaux 2 et 4 mg.l⁻¹ ne montre aucune différence pour un même temps de contamination. Cependant, au sein d'un même groupe, les glandes digestives des moules traitées pendant 48 heures présentent une concentration en cadmium significativement plus élevée, d'une part, par rapport à celles des animaux contrôles, et d'autre part, par rapport à celles des animaux contaminés pendant 24 heures.

Activité de l' α -amylase

Moules issues du milieu naturel pollué

La figure 6 représente l'évolution de l'activité de l' α -amylase mesurée dans la glande digestive des moules prélevées dans les différentes stations prospectées. Cette activité présente une variation très significative selon le lieu ($F=4254,93$; $p<0,0001$) et le temps ($F=2631,34$; $p<0,0001$) de prélèvement.

Au niveau de la station S4 (située à 500 m du rejet), l'activité de l' α -amylase présente une baisse significative, par rapport à celle des animaux de la station de référence ST au cours de tous les mois à l'exception du mois de mai. Concernant la station S5 (située à 1 km du rejet), elle présente également une variation de l'activité amylasique ; la valeur minimale est relevée pendant le mois de janvier 1997 ($0,0019 \pm 0,0002$ $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mgP}^{-1}$). Une augmentation significative est notée pendant les mois de mai, septembre et novembre. L'activité enzymatique mesurée pendant les mois de février, avril, août, octobre et décembre reste comparable à celle de la station ST.

La mesure de l'activité amylasique au niveau de la station S6 (située à 2 km du rejet) montre une baisse significative pendant les mois de janvier, mars, juin, août, septembre, octobre et novembre. Elle est cependant significativement augmentée pendant le mois de mai, et reste comparable à la station de référence (ST) pour les autres mois de l'année (février, avril et décembre).

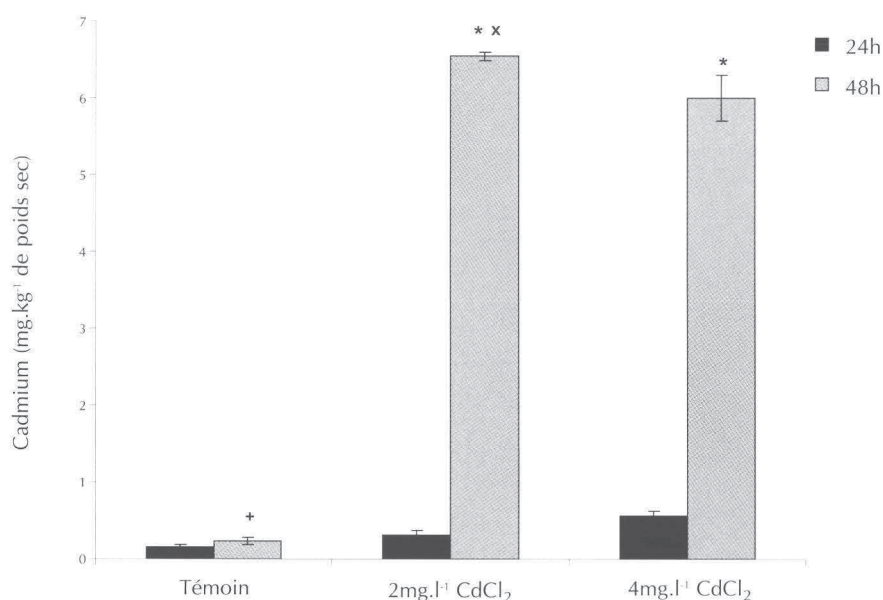


Figure 5 - Variation des concentrations du cadmium dans la glande digestive des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium. $p<0,01$: (*) 24 h versus 48 h pour les trois groupes ; (+) témoin versus 2 mg.l⁻¹ et témoin versus 4 mg.l⁻¹ après 24 h et 48 h ; (x) : 2 mg.l⁻¹ versus 4 mg.l⁻¹ après 24 h et 48 h. / Variation of the concentrations of cadmium in the digestive gland of mussels contaminated in the laboratory by cadmium chloride. $p<0,01$: (*) 24 h versus 48 h for the three groups; (+) control versus 2 mg.l⁻¹ and control versus 4 mg.l⁻¹ after 24 h and 48 h; (x): 2 mg.l⁻¹ versus 4 mg.l⁻¹ after 24 h and 48 h.

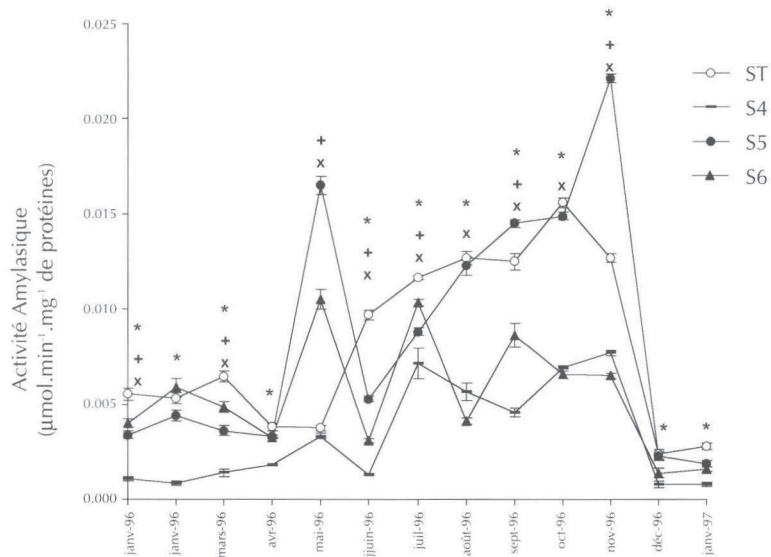


Figure 6 - Variation annuelle de l'activité de l' α -amylase au niveau de la glande digestive des moules des différentes stations prospectées. $p < 0,01$: (*) S4 versus ST ; (+) S5 versus ST ; (x) S6 versus ST. / Annual variation of the activity of α -amylase in the digestive gland of mussels in different stations prospected. $p < 0.01$: (*) S4 versus ST; (+) S5 versus ST; (x) S6 versus ST.

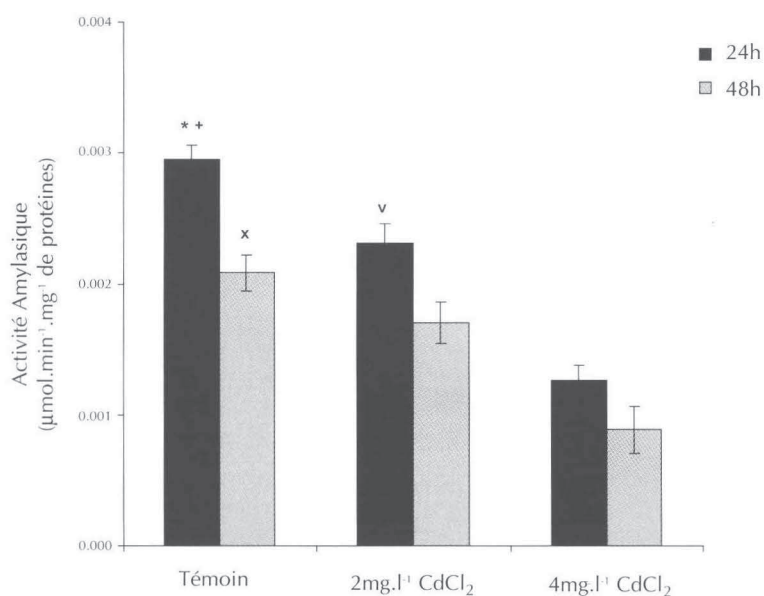


Figure 7 - Variation de l'activité de l' α -amylase au niveau la glande digestive des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium. $p < 0,05$: (*) 24 h versus 48 h pour les trois groupes ; $p < 0,01$: (+) témoin versus 2 mg.l⁻¹ et témoin versus 4 mg.l⁻¹ après 24 h ; (x) : témoin versus 4 mg.l⁻¹ après 48 h ; (v) : 2 mg.l⁻¹ versus 4 mg.l⁻¹ après 24 h. / Variation of the activity of the α -amylase in the digestive gland of mussels contaminated in the laboratory by cadmium chloride. $p < 0.05$: (*) 24 h versus 48 h for the three groups; $p < 0.01$: (+) control versus 2 mg.l⁻¹ and control versus 4 mg.l⁻¹ after 24 h; (x): control versus 4 mg.l⁻¹ after 48 h; (v): 2 mg.l⁻¹ versus 4 mg.l⁻¹ after 24 h.

L'étude de la variation de l'activité de l' α -amylase suivant les saisons a révélé l'existence d'une différence significative ($F=31,21$; $p<0,0001$). Cette activité présente une augmentation significative surtout pendant l'automne et l'été, et ceci dans les différentes stations prospectées. Par ailleurs, le calcul du coefficient de corrélation a montré l'existence d'une bonne corrélation, surtout en hiver, entre l'activité amylasique et la concentration du cadmium déterminée au niveau de la glande digestive des moules prélevées dans les différentes stations ($r=0,9253$; $r=0,8357$; $r=0,9932$; $r=0,9785$ respectivement dans les stations ST, S4, S5 et S6).

Moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium

La figure 7 représente la variation de l'activité de l' α -amylase au niveau des glandes digestives des moules contaminées au laboratoire par 2 et 4 mg.l⁻¹ de chlorure de cadmium pendant 24 et 48 heures. Cette activité présente une variation significative suivant la concentration du polluant ($F=28,69$; $p<0,0001$) et la durée d'exposition ($F=18,98$; $p<0,0001$).

Une différence significative est notée entre l'activité amylasique des moules témoins sacrifiées au bout de 24 heures et celles après 48 heures. Concernant les deux groupes expérimentaux, l'activité mesurée est significativement plus basse après 48 h qu'après 24 h de traitement par une même concentration. Par ailleurs, l'activité de l' α -amylase au niveau des glandes digestives des moules soumises à 4 mg.l⁻¹ de CdCl₂ s'avère significativement plus faible que celle du groupe de 2 mg.l⁻¹ de CdCl₂. Cette activité est inversement proportionnelle aussi bien à la durée d'exposition qu'à la concentration du polluant.

DISCUSSION

Les données de la mesure des paramètres physico-chimiques montrent une élévation, pendant tous les mois, de la température et de l'acidité de l'eau des stations situées à proximité des rejets (S2 et S3). Ceci reflète le déversement continu dans la mer d'une eau chaude et acide. Ces conditions expliquent bien la disparition de toute forme de vie au niveau de ces stations (Essedaoui, 1994 ; Kaimoussi, 1996). Cependant, dans les stations concernées par le prélèvement des moules (S4, S5 et S6), ces paramètres restent assez comparables à ceux de la station de référence.

Le dosage du cadmium (Cd), effectué mensuellement sur toute l'année au niveau de la glande digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis* du littoral de Jorf-Lasfar, montre une variation qui semble dépendre de la saison et du site de prélèvement. En effet, la concentration du Cd présente une variation spatio-temporelle : les plus fortes mesures sont enregistrées pendant les mois de février-avril-mai (printemps) puis septembre-octobre-novembre (automne), surtout dans les stations les plus proches du rejet (S4 et S5).

Des études effectuées précédemment dans les mêmes sites (Kaimoussi, 1996), ont montré une teneur en Cd très élevée dans la partie molle de *Mytilus galloprovincialis*. D'autre part, Phillips (1980) a résumé en trois points les facteurs qui causent les variations saisonnières de l'accumulation des métaux dans les organismes indicateurs : la variation de la source de pollution, les changements physiologiques liés au cycle de reproduction et la variation des facteurs du milieu ambiant. En ce qui nous concerne, la mesure des paramètres physico-chimiques du milieu, réalisée en parallèle avec le dosage du Cd sur une année chez des moules de la même classe de taille prélevées dans différentes stations à degré de pollution différent, est faite dans ce même but.

Plusieurs auteurs ont montré une variation saisonnière de la concentration des métaux chez les mollusques marins (Pentreath, 1973 ; Bryan, 1976 ; Phillips, 1976). En général, dans la partie molle du corps, cette concentration est plus élevée en hiver qu'en été, comme il a été rapporté chez quelques bivalves marins : *Mytilus edulis* (Phillips, 1976 ; Amiard *et al.*, 1986), *Mytilus galloprovincialis* (Majori *et al.*, 1978 ; Regoli, Orlando, 1994), *Perna viridis* (Chu *et al.*, 1990), *Crassostrea gigas* (Boyden, Phillips, 1981 ; Amiard, Berthet, 1996) et *Macoma balthica* (Bordin *et al.*, 1992). Cette variation a été mise en relation par certains auteurs avec le cycle de stockage des réserves lié à l'activité sexuelle de l'animal. Ce stockage ne se fait pas au niveau du manteau de *Mytilus galloprovincialis* entre les mois d'octobre et mai, mais au niveau de tous les tissus, y compris le manteau au cours de l'été (Morchid, 1989). Ainsi, à la fin du printemps et en été, les métaux traces sont peut-être dilués par l'augmentation du poids de la chair (Borchardt *et al.*, 1989). En automne et en hiver, par contre, les gonades et les tissus de stockage (Savari *et al.*, 1991) peuvent être résorbés, et le poids de la chair sera réduit sans changements majeurs de la concentration du métal dans le corps entier.

La concentration du Cd relevée au niveau de la glande digestive des moules traitées au laboratoire par ce métal, pendant 24 et 48 heures, montre une accumulation liée au temps d'exposition. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées après 48 heures d'exposition aussi bien pour 2 que pour 4 mg.l⁻¹ de CdCl₂. Ces résultats ne montrent pas la liaison entre la concentration de ce métal et son accumulation vu la période de traitement choisie. Henry (1987) a montré chez la palourde *Ruditapes decussatus* traitée par le Cd pendant 36 jours, que le facteur concentration influe sur la bioaccumulation et présente une proportionnalité surtout en fonction de la température. Par contre, pour une même température, la vitesse de pénétration reste liée au temps d'exposition.

L'étude de l'activité de l' α -amylase au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* révèle une variation spatio-temporelle très nette. L'activité la plus faible est notée dans les différentes stations selon leur proximité de la source de pollu-

tion soit S4, S5 puis S6 pendant l'hiver-printemps. Cependant, au cours des autres mois de l'année, l'activité amylasique varie en fonction des stations. Chez les animaux de la station S5, cette activité reste comparable ou plus élevée que celle de la station ST, du mois d'août jusqu'au mois de décembre. Alors qu'elle baisse dans les stations S4 et S6 pendant cette même période de l'année (Essedaoui, Sif, 1996). Chez les moules d'élevage, cette activité est d'autant plus faible que la concentration du Cd et le temps d'exposition sont plus importants (4 mg.l⁻¹ pendant 48 h). Chez les groupes témoins 24 h et 48 h, la différence d'activité amylasique observée peut être expliquée par une variation liée au rythme circadien. Signalons que la cinétique de l' α -amylase est linéaire dans nos conditions du dosage, ce qui élimine en partie la variance analytique.

Si l'on considère uniquement les animaux de la station de référence, la variation saisonnière de l'activité de l' α -amylase, bien que faible, est certainement liée à la nature des nutriments et à leur disponibilité, comme cela a été signalé par plusieurs auteurs (Dick, Feldber, 1975 ; Samain *et al.*, 1985 ; Gaudy, Boucher, 1987 ; Kerambrun, Guerin, 1993).

La variation saisonnière de l'activité enzymatique au niveau de la glande digestive des moules issues des sites pollués ou traitées au laboratoire a été abordée par certains auteurs. Les enzymes les plus étudiées sont les hydrolases (Gaudy *et al.*, 1991 ; Essedaoui *et al.*, 1998) qui montrent une élévation de leur activité à 24 heures d'exposition au Cd, suivie soit d'une stabilisation soit d'une baisse au bout de 48 et 72 heures. Cependant, Da-Ros *et al.* (1995) n'observaient une baisse légère de l'activité enzymatique chez *Mytilus* sp. qu'après 30 jours du même traitement.

Les enzymes antioxydantes telles la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathione peroxidase, ... ont été également étudiées au niveau de la glande digestive, soit de *Mytilus edulis* ou *M. galloprovincialis* (Viarengo *et al.*, 1991 ; Regoli, Principato, 1995 ; Wootton *et al.*, 1996). L'activité de ces enzymes montre une variation saisonnière qui dépend du degré de pollution, du site d'étude (Livingstone *et al.*, 1995), du niveau du métabolisme qui se trouve élevé à la fin du printemps - début été (Wootton *et al.*, 1996) et de l'existence d'une certaine adaptation ou de mécanisme compensateur chez ces organismes soumis à une pollution chronique (Regoli, Principato, 1995). Aussi, Fitzpatrick *et al.* (1995) n'ont pas remarqué de différence d'activité de certaines isoenzymes dosées au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* récoltée au niveau de six sites d'une lagune de la mer Adriatique.

A partir de toutes ces données, nous pouvons dire que la variation de l'activité enzymatique au niveau de la glande digestive des bivalves du genre *Mytilus* soumis à la pollution est réelle mais influençable. Les changements structuraux au niveau de cette glande paraissent plus sensibles à la pollution chimique (Krishnakumar *et al.*, 1995).

REMERCIEMENTS

Nous remercierons vivement le Directeur du laboratoire d'Analyse Vétérinaire de Casablanca (Maroc) et M. Rowane M. pour leur aide.

BIBLIOGRAPHIE

- Amiard-Triquet C., C. Métayer, J.C. Amiard, 1984 - Technical recommendations for studying the biogeochemical cycle of trace metals. *Revue int. Océanogr. méd.*, **73-74** : 27-34.
- Amiard J.C., C. Amiard-Triquet, B. Berthet, C. Métayer, 1986 - Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. I. Field study. *Mar. Biol.*, **90** : 425-431.
- Amiard J.C., B. Berthet, 1996 - Fluctuations of cadmium, copper, lead and zinc concentrations in field population of the pacific oyster *Crassostrea gigas* in the bay of Bourgneuf (Atlantic coast, France). *Annls Inst. océanogr., Paris*, **72** (2) : 195-207.
- Aminot A., M. Chaussepied (eds), 1983 - *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. C.N.E.X.O. Éditions, Brest, France, 395 pp.
- Berthet B., J.C. Amiard, C. Amiard-Triquet, C. Métayer, 1986 - Biological indicators of metal contamination in coastal areas: field and experimental studies of the limits of their use. In : *Chemicals in the environment* : J.N. Lester, R. Perry, R.M. Sterritt (eds), Selper Ltd, London, UK, pp : 171-178.
- Borchardt T., S. Burchert, L. Karbe, R. Zeitner, 1989 - Enhanced heavy metal concentrations in *Mytilus edulis* from the central North Sea. *Sci. mar. (Barc.)*, **53** (2-3) : 725-728.
- Boucher J., J.F. Samain, 1975 - Étude de la nutrition du zooplancton en zone d'*up-welling* par la mesure des activités enzymatiques digestives. In : *Proceedings of the 9th European Marine Biological Symposium*. H. Barnes (ed.), Aberdeen, Universa Press, pp : 329-341.
- Boucher J., A. Laurec, J.F. Samain, S.L. Smith, 1976 - Étude de la nutrition, du régime et du rythme alimentaire du zooplancton dans les conditions naturelles par la mesure des activités enzymatiques digestives. In : *Proceedings of the 10th European Marine Biological Symposium*. G. Persoone, E. Jaspers (eds), Wetteren, Belgium, Universa Press, **2**, pp : 85-110.
- Bordin J., J. Mc-Court, A. Rodriguez, 1992 - Trace metals in the marine bivalve *Macoma balthica* in the wester-scheld estuary (the wetherlands). Part 1. Analysis of total copper, cadmium, zinc and iron concentrations - Locational and seasonal variations. *Sci. total Environment*, **127** : 255-280.
- Boyden C.R., D.J.H. Phillips, 1981 - Seasonal and inherent variability of trace elements in oysters and their implications for indicator studies. *Mar. Ecol. -Prog. Ser.*, **5** (1) : 29-40.
- Bryan G.W., 1973 - The occurrence and seasonal variation of trace metals in the scallops *Pecten maximus* (L.) and *Chlamys opercularis* (L.). *J. mar. biol. Ass. UK*, **53** : 145-166.
- Bryan G.W., 1976 - Heavy metal contamination in the sea. In : *Marine Pollution*, Academic Press, pp : 185-302.
- Chu K.H., W.N. Cheng, S.K. Lau, 1990 - Trace metals in bivalves and sediments from the Tolo Harbo, Hongkong. *Environment int.*, **16** : 31-36.

- Da-Ros L., C. Nasci, G. Campesan, P. Sartorello, G. Stocco, A. Menetto, L. Forlin, L. Andersson (eds), 1995 - Effects of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) and cadmium in the digestive gland of mussel, *Mytilus* sp. In : 7th International symposium on responses of marine organisms to pollutants (PRIMO 7), 20 April 1993, at Goteborg, Sweden, *Mar. environ. Res.*, **39** (1/4), pp : 321-324.
- Dick J., J.P. Feldber, 1975 - Specific hormonal regulation by food, of pancreas enzymatic (amylase and trypsin) secretions. *Horm. Metab. Res.*, **7** : 161-166.
- Essedaoui A., 1994 - Impact de la pollution par les métaux lourds sur la faune littorale de la région de Jorf-Lasfar. *Rapport du C.E.A., Sciences de la mer, Fac. Sci., El Jadida, Maroc.*
- Essedaoui A., J. Sif, 1996 (unpublished) - Étude de l'activité enzymatique au niveau de la glande digestive des moules issues des zones polluées. In : X^e Congrès de la Société Française de Malacologie., 10 - 14 Décembre 1996, Agadir, Maroc.
- Essedaoui A., H. Massé, J. Sif, 1998 - L'étude de l'effet du cadmium sur l'activité de l'estérase C4, l' α -amylase, la valine arylamidase et la -galactosidase chez le mollusque *Mytilus galloprovincialis* dans la région de Jorf-Lasfar. *Bull. Ins. scient.*, sous presse.
- Fitzpatrick P.J., D. Sheehan, D.R. Livingstone, L. Forlin, T. Andersson, 1995 - Studies on isoenzymes of glutathione S-transferase in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* with exposure to pollution. *Mar. environ. Res.*, **39** (1/4) : 241-244.
- Frazier J.M., 1975 - The dynamics of metals in the American oyster *Crassostrea virginica*. I- Seasonal effects. *Chesapeake Sci.*, **16** : 162-171.
- Gaudy R., J. Boucher, 1987 - Respiration, excréation et activité enzymatique digestive chez quelques espèces de copépodes de l'Océan indien en relation avec leur stratégie nutritionnelle. In : *Production et relations trophiques dans les écosystèmes marins*. Proceedings of a symposium, 27 octobre - 2 novembre 1984, at Yalta, USSR, Actes Colloq. IFREMER, **5**, pp : 45-60.
- Gaudy R., J.P. Guérin, P. Kerambrun, 1991 - Sublethal effects of cadmium on respiratory metabolism, nutrition, excretion and hydrolase activity in *Leptomysis lingvura* (Crustacea : Mysidacea). *Mar. Biol.*, **109** (3) : 493-501.
- Guérin J.P., P. Kerambrun, 1982 - Effects of diet on esterases, alkaline phosphatase, malate dehydrogenase and phosphoglucomutase activity observed by polyacrylamide gel electrophoresis in *Tisbe holothuriae* (Haparticoid Copepod). *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B** (4) : 761-770.
- Hassett R.P., M.T. Landry, 1983 - Effect of food-level acclimation on digestive enzyme activities and feeding behaviour of *Calanus pacificus*. *Mar. Biol.*, **75** : 47-55.
- Henry M., 1987 - La glande digestive de la palourde méditerranéenne *Ruditapes decussatus*. *Recherches ultrastructurales, cytochimiques, écophysiologicals et écotoxicologiques*. Thèse de Doc. d'État. Université de droit, d'Économie et des Sciences d'Aix-Marseille, France, 439 pp.
- Hirche H.J., 1981 - Digestive enzymes of copepodites and adults of *Calanus finmarchicus* and *C. helgolandicus* in relation to particulate matter. In : *Lower organisms and their role in the food web*. G. Rheinheimer, H. Fluegel, J. Lens, B. Zeitschel (eds), Keil. *Meeresforsch.*, **5**, pp : 174-185.
- Kaimoussi A., 1996 - Étude de la variabilité de l'accumulation des métaux lourds dans les différents compartiments (sédiment, mollusques et algues) du littoral de la région d'El Jadida. Thèse 3^e cycle, opt. Sc. de l'environnement. Série n°26. Fac. Sci., El Jadida, Maroc.
- Kennedy P.C., 1986 - The use of molluscs for monitoring trace elements in the marine environment in New Zealand. 1- The contribution of ingested sediment to the trace element concentration in New Zealand molluscs. *N.Z. J. mar. Freshwat. Res.*, **20** : 627-640.
- Kerambrun P., J.P. Guérin, 1993 - Changes in amylase activity of *Leptomysis lingvura* in relation to experimental feeding conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, **105A** (2) : 303-310.
- Krishnakumar P.K., E. Casillas, U. Varanasi, 1995 - Effects of chemical contaminants on the health of *Mytilus edulis* from Puget Sound, Washington 2. Cytochemical detection of subcellular changes in digestive cells. *Mar. Biol.*, **124** (2) : 251-259.
- Lewis A.G., W.R. Cave, 1982 - The biological importance of copper in oceans and estuaries. *Oceanogr. mar. Biol. a. Rev.*, **20** : 471-695.
- Lima N.R.W., L.D. de Lacerda, W.C. Pfeiffer, M. Fiszman, 1986 - Temporal and spatial variability in Zn, Cr, Cd and Fe concentration in oyster tissues (*Crassostrea brasiliana* Lamarck 1891) from Sepetiba bay, Brazil. *Environ. Technol. Lett.*, **7** (8) : 453-460.
- Livingstone D.R., P. Lemaire, A. Matthews, L.D. Peters, C. Porte, P.J. Fitzpatrick, L. Foerlin, C. Nasci, U. Fossato, L. Forlin, L. Andersson, 1995 - Assessment of the impact of organic pollutants on goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) and mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from the Venise lagoon, Italy: Biochemical studies. *Mar. environ. Res.*, **39** (1/4) : 235-240.
- Lowry M., N.I. Roseborough, A.L. Farrand, R.T. Randall, 1951 - Protein measurement with the folinphenal reagent. *J. biol. Chem.*, **193** : 263-275.
- Majori L., G. Nedoclan, G.B. Modonutti, F. Daris, 1978 - Study of the seasonal variations of some trace elements in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* taken in the gulf of Trieste. *Revue int. Océanogr. méd.*, **39** : 37-50.
- Mayzaud O., P. Mayzaud, C. de la Bigne, P. Grohan, R.J. Conover, 1984 - Diel changes in the particulate environment, feeding activity and digestive enzyme concentration in neritic zooplankton. *J. expl mar. Biol. Ecol.*, **84** (1) : 15-35.
- Mayzaud P., A. Van Wormhoudt, O. Mayzaud-Roche, 1987 - Spatial changes in the concentrations and activities of amylase and trypsin in *Euphausia superba*. A comparison between activity measurement and immunoquantitation. *Polar Biol.*, **8** : 73-80.
- Morchid A., 1989 - Biochemical composition of cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from the gulf of Fos (NW Mediterranean Sea). Seasonal changes in lipid components and fatty acids. *Halictis*, **19** : 357-371.
- Pentreath R.J., 1973 - The accumulation from water of ⁶⁵Zn, ⁵⁴Mn, ⁵⁸Co and ⁵⁹Fe by the mussels *Mytilus edulis*. *J. mar. biol. Ass. UK*, **53** : 127-143.
- Phelps H.L., E.W. Hetzel, 1987 - Oyster size, age and copper and zinc accumulation. *J. Shellfish Res.*, **6** : 67-70.
- Phillips D.J.H., 1976 - The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.*, **38** : 59-69.
- Phillips D.J.H., 1980 - *Quantitative aquatic biological indicators*. Applied Science Publishers, London, UK.

- Regoli F., E. Orlando, 1993 - *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of lead pollution: biological variables and cellular responses. In : *Proceedings of the second european conference on toxicology*. W. Sloof, H. de Kruijf (eds), Sci. total Environment, Vol. suppl. **1-2**, pp : 1283-1292.
- Regoli F., E. Orlando, 1994 - Seasonal variation of trace metal concentrations in digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*: Comparaison between a polluted and a non-polluted site. *Archs environ. Contamin. Toxicol.*, **27** (1) : 36-43.
- Regoli F., G. Principato, 1995 - Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: Implication for the use of biochemical biomarkers. *Aquat. Toxicol.*, **31** (2) : 143-164.
- Rick W., H.P. Stegbauer, 1984 - α -amylase. In : *Methods of enzymatic analysis*, H.U. Bergmeyer (ed.), New York, Academic Press, pp : 885-889.
- Ritz D.A., R. Swain, N.G. Elliott, 1982 - Use of the mussel *Mytilus planatus* (Lamarck) in monitoring heavy metals in sea water. *Aust. J. mar. Freshwat. Res.*, **33** : 491-506.
- Roche-Mayzaud O., P. Mayzaud, D.C. Biggs, 1991 - Medium-term acclimation of feeding and of digestive and metabolic enzyme activity in the neritic copepod *Acartia clausi*. Evidence from laboratory experiments. *Mar. Ecol. -Prog. Ser.*, **69** : 25-40.
- Rodier J., 1984 - *L'analyse de l'eau (eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer)*. Dunod (7^e ed.), Paris, 1136 pp.
- Rodriguez A., L. Levay, G. Mourente, D.A. Jones, 1994 - Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and post larvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Mar. Biol.*, **118** : 45-51.
- Samain J.F., J. Moal, J.Y. Daniel, J.R. Le Coz, M. Jezequel, 1980 - The digestive enzyme amylase and trypsin during the development of *Artemia*: effect of food conditions. In : *The brine shrimp Artemia*, Vol. 2: *Physiology, biochemistry, molecular biology*. G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, E. Jaspers (eds), Wetteren, Belgium, Universa Press, pp : 239-255.
- Samain J.F., A. Hernandorena, J. Moal, J.Y. Daniel, J.R. Le Coz, 1985 - Amylase and trypsin activities during *Artemia* development on artificial Axenic media. Effect of starvation and specific deletions. *J. expl mar. Biol. Ecol.*, **86** : 255-270.
- Savari A., A.P.M. Lockwood, M. Sheader, 1991 - Effects of season and size (age) on heavy metal concentrations of the common cockle (*Cerastoderma edule* (L.)) from Southampton water. *J. Molluscan Stud.*, **57** : 45-57.
- Talbot V., 1986 - Seasonal variation of copper and zinc concentrations in the oyster *Saccostrea cucullata* from the danpier archipelago, Western Australia: implications for pollution monitoring. *Sci. total Environment*, **57** : 217-230.
- Thibaud Y., 1983 - Dosage de métaux (Cu, Zn, Fe, Pb, Cd) dans les organismes marins par absorption atomique. In : *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. A. Aminot, M. Chaussepied (eds), C.N.E.X.O. Éditions, Brest, France, pp : 263-273.
- Viarengo A., V. Contardi, A. Marabini, M. Orunesu, 1991 - Enzymic aspects of the xenobiotic metabolizing system in *Mytilus galloprovincialis* Lam. *MAP tech. Rep. Ser.*, **52** : 45-54.
- Wootton A.N., P.S. Goldfarb, P. Lemaire, S.C.M. O'Hara, D.R. Livingstone, 1996 - Characterization of the presence and seasonal variation of Cyp1A in digestive gland of the common mussel, *Mytilus edulis*. *Mar. environ. Res.*, **42** (1/4) : 297-301.

Reçu en août 1998 ; accepté en juillet 2000.

Received August 1998; accepted July 2000.