

# Impact de la pollution métallique sur l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive du mollusque *Mytilus galloprovincialis* de la région de Jorf-Lasfar (Maroc)

*Impact of metallic pollution on hydrolase activity in the digestive gland  
of mussel Mytilus galloprovincialis of Jorf-Lasfar (Morocco)*

Aafaf Essedaoui \*, Pierre Kerambrun \*\*, Elisabeth Alliot \*\*\*, Jamila Sif \*

\* 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 (U.M.R 6535),  
Université de la Méditerranée, Campus de Luminy, 13288 Marseille cedex 9, France

\*\*\* Station marine d'Endoume, rue de la batterie des lions, 13007 Marseille cedex 9, France

**Mots clés :** hydrolases, métaux lourds, glande digestive, *Mytilus galloprovincialis*, Jorf-Lasfar (Maroc).

**Keys-words:** hydrolases, heavy metals, digestive gland, *Mytilus galloprovincialis*, Jorf-Lasfar (Morocco).

## RÉSUMÉ

Essedaoui A., P. Kerambrun, E. Alliot, J. Sif - Impact de la pollution métallique sur l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive du mollusque *Mytilus galloprovincialis* de la région de Jorf-Lasfar (Maroc). Mar. Life, **11** (1-2) : 21-31.

L'activité de 17 hydrolases a été étudiée au niveau de la glande digestive du mollusque *Mytilus galloprovincialis* issu, d'une part, du milieu naturel pollué, situé à proximité d'un complexe d'industrie chimique dans la région de Jorf-Lasfar (Maroc) et, d'autre part, des élevages au laboratoire après contamination par le chlorure de cadmium. L'étude de cette activité enzymatique est réalisée sur l'extrait de glande digestive par la méthode qualitative et semi-quantitative Api-Zym (Monget, 1978). Les résultats obtenus montrent que la majorité de ces hydrolases présentent une variation spatio-temporelle. Ces variations d'activité sont bien nettes dans les glandes digestives des moules ayant accumulé essentiellement le cadmium par rapport au plomb. On note une baisse d'activité de la lipase C<sub>14</sub>, l' $\alpha$ -galactosidase, la  $\beta$ -glucosidase, la valine arylamidase, la cystine arylamidase et l'estérase C<sub>4</sub>. Cependant, l'activité de la  $\beta$ -galactosidase et de l'estérase lipase C<sub>8</sub> se trouve augmentée. La phosphatase acide, la phosphatase alcaline et la N-acétyl- $\beta$ -glucosaminidase présentent une activité similaire à celle observée chez les moules prélevées dans la station de référence. Quant aux moules contaminées au laboratoire, on note une baisse d'activité significative de l'estérase C<sub>4</sub>, de la lipase C<sub>14</sub>, de l' $\alpha$ -galactosidase et de la cystine arylamidase chez les groupes traités par 2 mg.L<sup>-1</sup> et 4 mg.L<sup>-1</sup> de chlorure de cadmium par rapport aux contrôles après 24 et 48 heures de contamination. Les autres enzymes présentent une activité toujours importante.

## ABSTRACT

Essedaoui A., P. Kerambrun, E. Alliot, J. Sif - [Impact of metallic pollution on hydrolase activity in the digestive gland of mussel *Mytilus galloprovincialis* of Jorf-Lasfar (Morocco)]. Mar. Life, **11** (1-2) : 21-31.

The activity of 17 hydrolases was studied in the digestive gland of the mollusc *Mytilus galloprovincialis* sampled on the one hand in natural polluted environment, located near a chemical industry complex in the area of Jorf-Lasfar (Morocco), and on the other hand in specimens reared in the laboratory after contamination by cadmium chloride. The study of these enzymatic activities was carried out on the extract of the digestive gland by the qualitative and semi-quantitative Api-Zym method (Monget, 1978). Results show that the majority of these hydrolases present spatial and temporal variations. These variations in activity are quite distinct in the digestive gland of some mussels that have mainly accumulated cadmium. One notes a decrease of activity of the lipase C<sub>14</sub>,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -glucosidase, valine arylamidase, cystine arylamidase and esterase C<sub>4</sub>. However, the activity of the  $\beta$ -galactosidase and of esterase lipase C<sub>8</sub> is increased. The phosphatase acid, phosphatase alkaline and N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase show a similar level of activity to that of mussels collected in the reference station. In the mussels contaminated in the laboratory, there is a significant decrease in activity of the esterase C<sub>4</sub>, lipase C<sub>14</sub>,  $\alpha$ -galactosidase and cystine arylamidase in the groups treated by 2 mg.L<sup>-1</sup> and 4 mg.L<sup>-1</sup> of cadmium chloride compared to controls after 24 and 48 hours of contamination. The other enzymes still present a high level of activity.

## INTRODUCTION

Depuis longtemps, *Mytilus galloprovincialis* et les espèces similaires, présentes le long du littoral de plusieurs pays, ont été utilisées dans les programmes d'analyse de la qualité du milieu littoral (Hax Neincheski, 1982 ; Berthet *et al.*, 1986 ; Viarengo *et al.*, 1993 ; Pipe *et al.*, 1995) parmi lesquels "Mussel Watch" qui préconise particulièrement l'utilisation de moules, huîtres et palourdes comme espèces sentinelles de la pollution métallique (Mauri, 1985 ; Kennedy, 1986 ; Cossa, Lassus, 1989 ; Regoli, Orlando, 1993).

Toutefois, les modifications physiologiques induites par la pollution métallique (Hiatt, Huff, 1975 ; Livingstone *et al.*, 1995) se traduisent en partie par des perturbations de l'activité des enzymes. D'après Regoli et Principato (1995), la comparaison entre les activités enzymatiques révélées chez les moules témoins et celles exposées aux métaux lourds, donne des indications très importantes sur l'utilisation des réponses biochimiques comme biomarqueurs de la pollution métallique.

L'objectif du présent travail est l'étude de l'effet de la pollution métallique sur l'activité des enzymes au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*. Pour ce faire, nous avons étudié l'activité de 17 hydrolases, d'une part, chez les moules prélevées dans des stations situées à différentes distances des rejets du complexe phosphatier de Jorf-Lasfar et, d'autre part, chez les moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium. Cette approche a été rendue possible par l'utilisation conjointe des données du dosage du cadmium et du plomb au niveau de la glande digestive des deux groupes de moules et permet de cerner l'impact de ces deux métaux.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Description du site d'étude

La région de Jorf-Lasfar, située à 25 kilomètres au sud de la ville d'El Jadida (Maroc), est le site d'un complexe d'industrie chimique nommé *Maroc-phosphore III et IV* dont les rejets sont déversés directement et continuellement dans l'eau de mer par deux collecteurs :

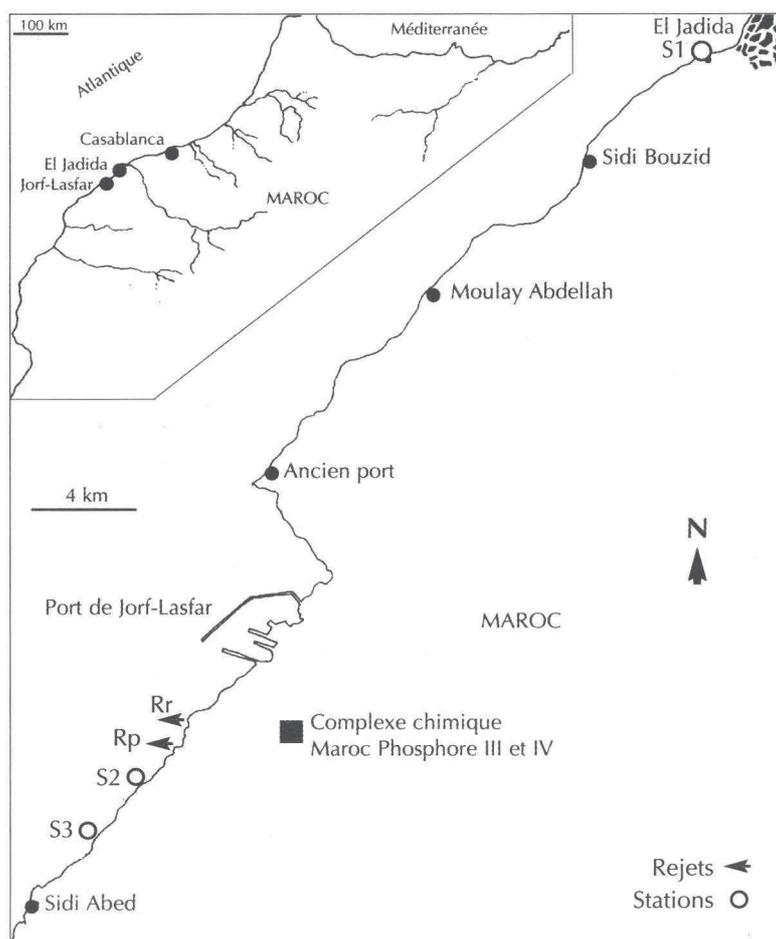


Figure 1 - Stations d'étude et émissaires de la région de Jorf-Lasfar. / Location of stations and outlets in the Jorf-Lasfar area.

- rejet de refroidissement (Rr) : effluent liquide, constitué de l'eau de mer utilisée pour la réfrigération aux niveaux des ateliers sulfuriques, pour maintenir le vide dans les bouilleurs, pour le lavage des filtres, etc. ;
- rejet principal (Rp) : effluent liquide-solide, riche en résidus phospho-gypsifères. Ces derniers sont récupérés à la sortie de l'étape de la filtration.

Le prélèvement des moules a été effectué au niveau de trois stations (figure 1) dont le choix est basé sur leur emplacement par rapport au rejet principal, source de pollution métallique (Kaimoussi, 1996) :

- station 1 (S1) : station témoin, située à 1 kilomètre au nord de la ville d'El Jadida et à 28 kilomètres au nord du rejet principal ;
- station 2 (S2) : située à 500 mètres au sud du rejet principal ;

- station 3 (S3) : située à 2 kilomètres au sud du rejet principal.

Les échantillons de moules, *Mytilus galloprovincialis*, ont été prélevés à marée basse au niveau du médiolittoral supérieur. Ils sont mis dans des flacons en plastique remplis d'eau de mer puis transportés au laboratoire dans des glacières.

#### Dosage du cadmium et du plomb

Une période de jeûne (environ 36 heures) a été imposée aussi bien aux moules prélevés sur le terrain qu'à celles contaminées au laboratoire, afin que les teneurs en métaux du contenu digestif ne viennent 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, desséchées à l'étuve à 70°C pendant 48

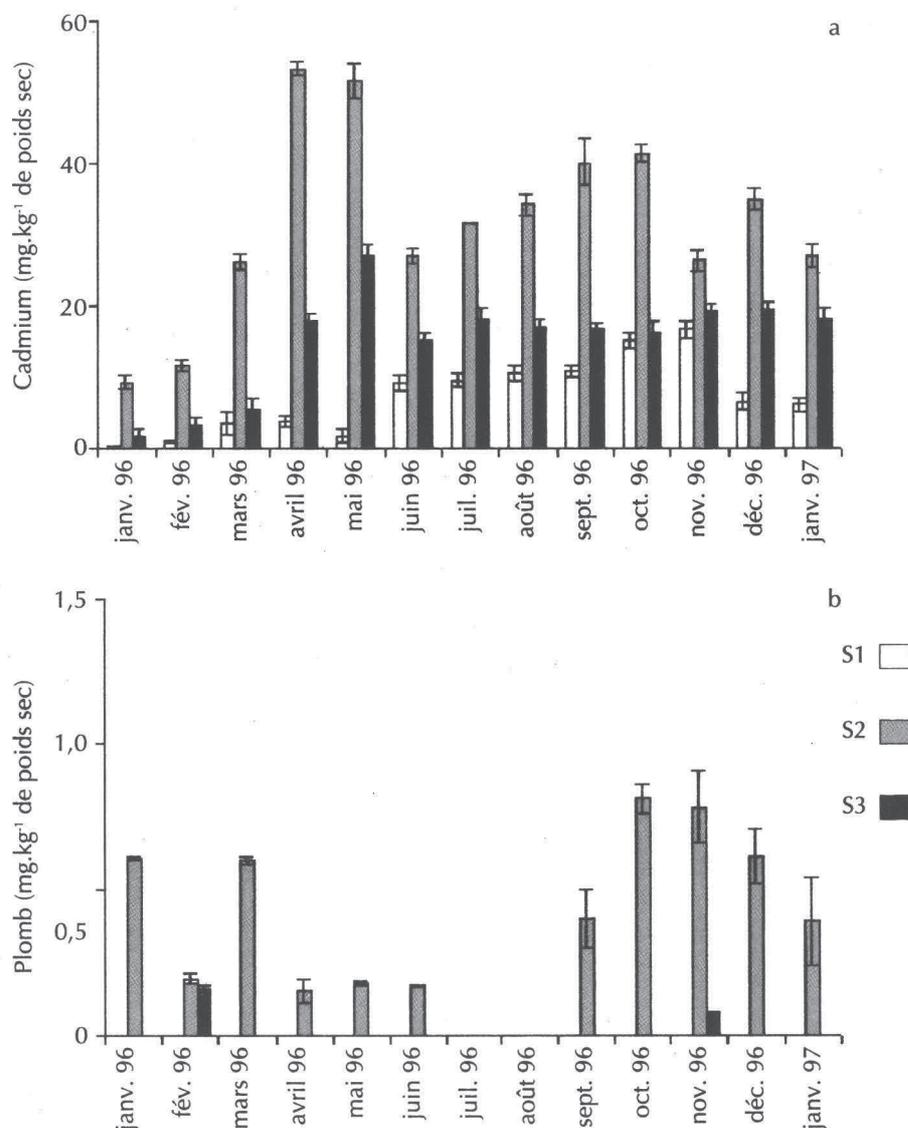


Figure 2 - Variation annuelle des concentrations en cadmium (a) et en plomb (b) mesurées dans les glandes digestives des moules des stations étudiées. / Annual variation in concentrations of cadmium (a) and lead (b) measured in the digestive glands of mussels at stations studied.

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 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 flacons 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<sup>-1</sup> de poids sec (ppm).

Les moules traitées au laboratoire proviennent de la station de référence (S1), la température *in situ* est de 18 ± 2°C. Elles sont mises 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<sub>2</sub>) pendant 24 et 48 heures. Les concentrations retenues sont 2 et 4 mg.L<sup>-1</sup>. Les animaux du groupe témoin sont élevés dans les mêmes conditions mais sans aucun traitement particulier. Le dosage du cadmium et du plomb au niveau de la glande digestive des animaux des trois groupes (contrôles, 2 mg.L<sup>-1</sup> et 4 mg.L<sup>-1</sup> de CdCl<sub>2</sub>) est réalisé suivant le même protocole expérimental décrit ci-dessus.

#### Mesure de l'activité des hydrolases

La détection de l'activité de 17 hydrolases d'un extrait de glande digestive (moules de même taille) est réalisée par la méthode qualitative et semi-quantitative qui est le test Api-Zym (Monget, 1978) dont le principe consiste en une batterie de vingt microcapsules contenant une trame inerte fibreuse dans lesquelles sont répartis les substrats synthétiques et leurs tampons. La préparation de l'extrait tissulaire testé consiste en un broyage de 2 grammes de glande digestive des moules, prélevées sur le terrain ou contaminées au laboratoire par le CdCl<sub>2</sub> dans 4 mL de NaCl à 9 ppm puis centrifugés à 4°C pendant 10 min à 10 000 g. Le surnageant obtenu est déposé dans les batteries à raison de 65 µL par microcapsule. Les batteries sont ainsi incubées à 37°C pendant trois heures. Les activités enzymatiques sont ensuite révélées par le réactif coloré (Fast Blue BB). Les résultats sont exprimés en unité arbitraire de 0 à 5 (une unité correspond à cinq nanomoles de substrat hydrolysé durant la période d'incubation).

Les différentes hydrolases étudiées sont : les estérases, les arylamidases, les phosphatases, la lipase C<sub>14</sub>, l'α-galactosidase, la β-glucosidase, la β-glucuronidase, l'α-fucosidase, l'α-mannosidase, le naphthol-As-biphosphatase, l'α-glucosidase, la β-galactosidase, la N-acetyl-β-glucosaminidase, la tryptase et l'α-chymotrypsine.

## RÉSULTATS

### Cadmium et plomb

Moules issues du milieu naturel pollué

La figure 2a représente la variation de la quantité de cadmium au niveau de la glande digestive des moules des différentes stations prospectées. Comparées à la station de référence (S1), les glandes digestives des moules de la station S2 présentent les concentrations les plus élevées de ce métal durant presque tous les mois (à l'exception de novembre et février). La valeur maximale (53,30 ± 1,04 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec) est enregistrée au cours du mois d'avril, alors que la plus faible valeur est notée au mois de janvier 1996 (9,25 ± 0,96 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec). Au niveau de la station S3, les concentrations en cadmium s'avèrent plus faibles par rapport aux autres stations, la valeur maximale est de 26,92 ± 1,57 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec en mai. Cependant, elles restent significativement plus élevées que dans les glandes des animaux de la station S1 pendant les mois d'avril, juin, juillet, août, décembre et janvier.

Les teneurs en plomb (figure 2b) au niveau des glandes digestives sont beaucoup plus faibles. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées au niveau de la station S2, soit 0,81 ± 0,05 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec, 0,78 ± 0,32 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec et 0,62 ± 0,29 mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec respectivement au cours des mois d'octobre, novembre et décembre. Pour la station de référence (S1), la teneur en plomb n'a pas pu être décelée au niveau des glandes digestives des moules analysées.

Moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium

La figure 3 représente la variation de la concentration du cadmium au niveau de la glande digestive des moules contaminées au laboratoire.

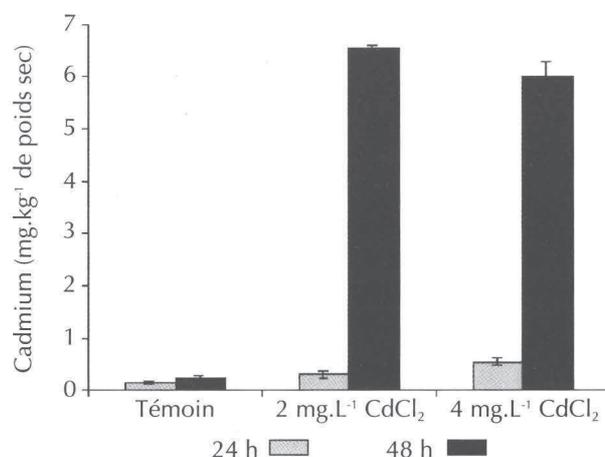


Figure 3 - Variation des concentrations en cadmium mesurées dans les glandes digestives des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium. / Variation in concentrations of cadmium in the digestive glands of mussels contaminated in the laboratory by the cadmium chloride.

Aucune différence significative de la mesure du cadmium n'est enregistrée au niveau des glandes digestives des deux groupes témoins. La comparaison entre les groupes expérimentaux ne montre aucune différence. Cependant, au sein d'un même groupe, les glandes digestives des moules traitées pendant 48 heures présentent une concentration en cadmium significativement élevée, d'une part, par rapport à

celles des animaux témoins et, d'autre part, à celles des animaux contaminés pendant 24 heures.

### Les hydrolases

Moules issues du milieu naturel pollué  
Les figures 4a et 4b représentent la variation de l'activité de 17 hydrolases au niveau des glandes

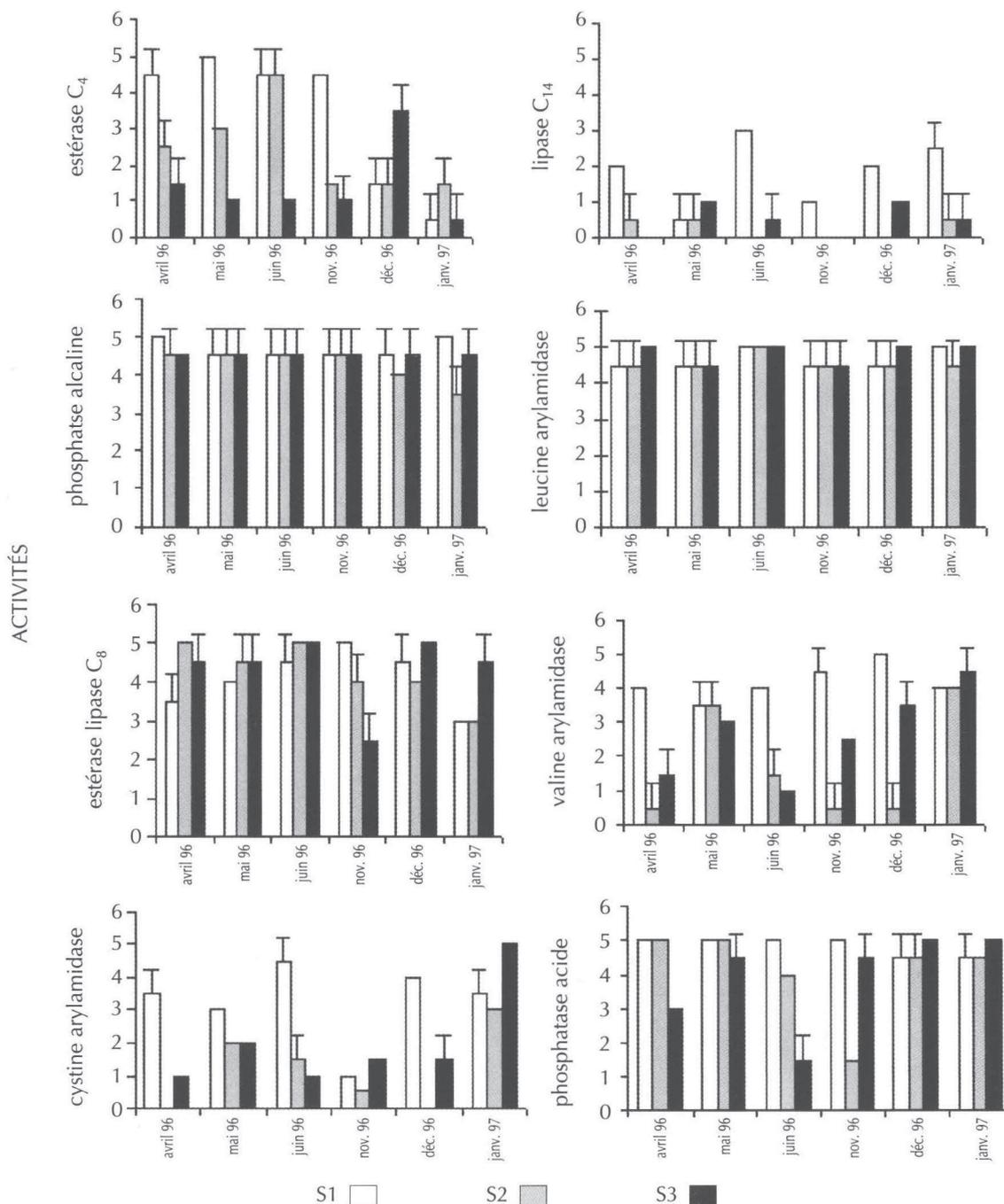


Figure 4a - Variation de l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive des moules issues du milieu naturel pollué. / Variation of the activity of hydrolases in the digestive gland of mussels from natural polluted environment.

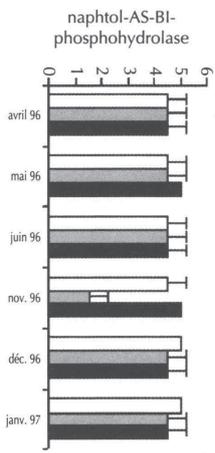
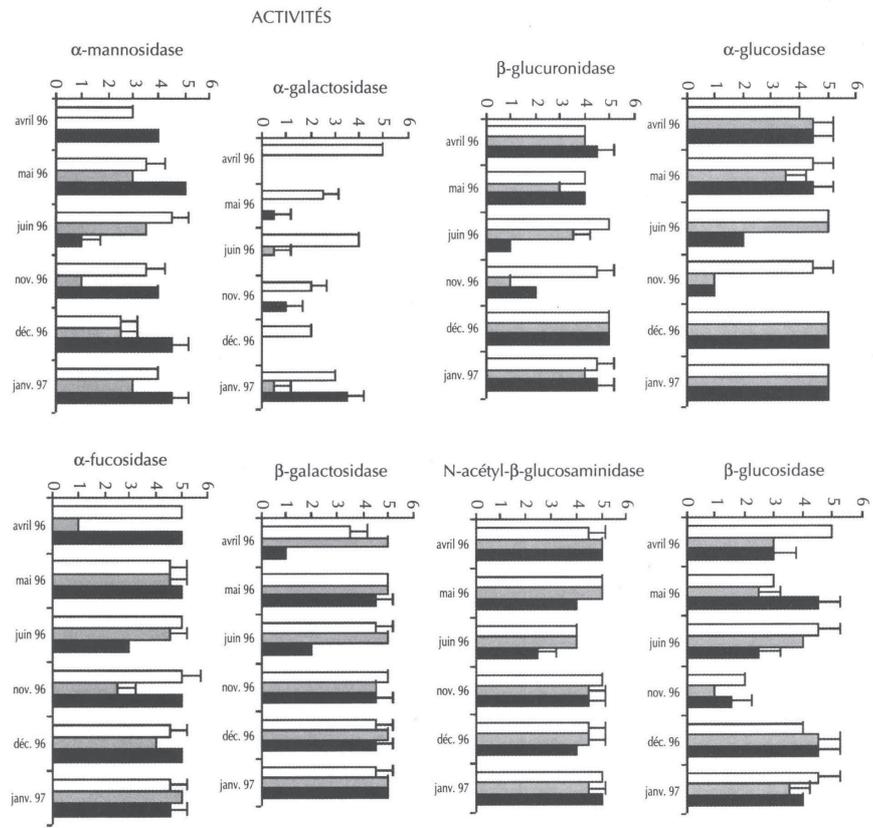


Figure 4b - Variation de l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive des moules issues du milieu naturel/pollué. / Variation of the activity of hydrolases in the digestive gland of mussels from natural/polluted environment.

digestives des moules issues des trois sites étudiés au cours des mois de janvier, avril, mai, juin, novembre et décembre.

Au niveau de la station témoin (28 kilomètres au nord du rejet principal), l'activité de la plupart des hydrolases est supérieure à 40 nmol de substrat hydrolysé pendant la durée d'incubation sur presque tous les mois à l'exception de la cystine arylamidase qui présente une légère baisse d'activité. Cependant, en comparant l'activité des différentes enzymes étudiées, on remarque que l'estérase  $C_4$ , la lipase

$C_{14}$ , l'estérase lipase  $C_8$ , l' $\alpha$ -galactosidase et l' $\alpha$ -mannosidase ont une activité plus faible en novembre et décembre. En ce qui concerne les autres stations (S2 et S3), l'activité des hydrolases montre une différence très nette par rapport à la station S1. Si on considère la station S2, il s'agit d'une baisse d'activité très marquée de la lipase  $C_{14}$ , l' $\alpha$ -galactosidase, la  $\beta$ -glucosidase pendant toute la période d'étude et de l'estérase  $C_4$ , la cystine arylamidase, la valine arylamidase, la  $\beta$ -glucuronidase, l' $\alpha$ -fucosidase et l' $\alpha$ -mannosidase pendant la majorité des mois d'étude.

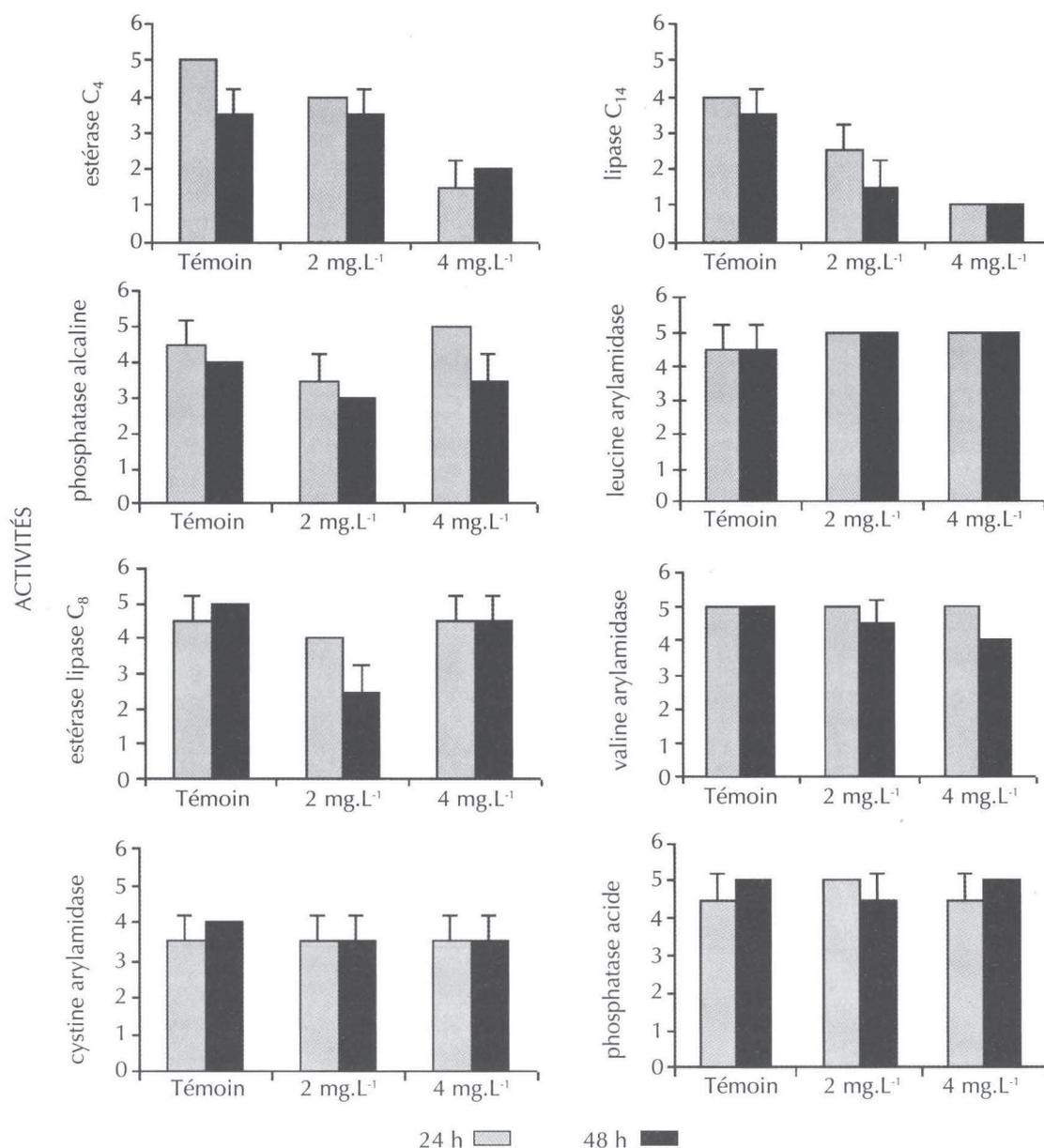


Figure 5a - Variation de l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive des moules traitées au laboratoire par 2 et 4 mg.L<sup>-1</sup> de chlorure de cadmium pendant 24 et 48 heures. / Variation in hydrolase activity in the digestive gland of mussels treated in the laboratory by 2 and 4 mg.L<sup>-1</sup> of cadmium chloride during 24 and 48 hours.

Cependant, une baisse plus modéré est notée pour la phosphatase acide et la naphthol-AS-BI-phosphohydrolase uniquement pendant les mois de juin et novembre, pour la phosphatase alcaline en décembre-janvier et pour l' $\alpha$ -glucosidase en mai-novembre. Cette baisse d'activité est noté également au niveau de la station S3.

Par contre, l'activité de l'estérase lipase  $C_8$  et de la  $\beta$ -galactosidase reste élevée pendant presque tous les mois d'étude. L'activité de la N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase et de la leucine arylamidase reste très importante et sans variation notable toujours au niveau des stations S2 et S3. L'activité de la trypsine et de l' $\alpha$ -chymotrypsine n'a pas pu être décelée par ce test.

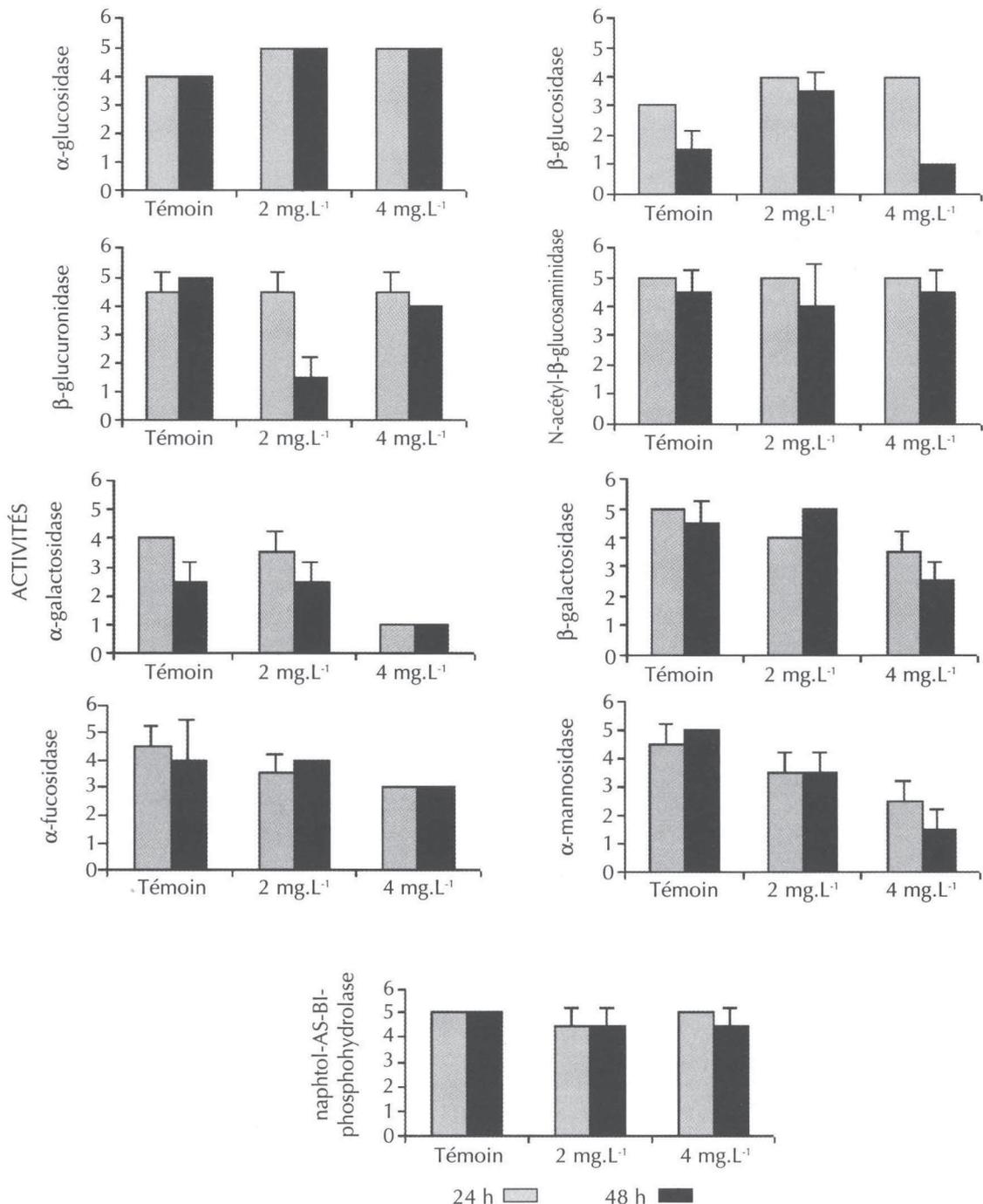


Figure 5b - Variation de l'activité des hydrolases au niveau de la glande digestive des moules traitées au laboratoire par 2 et 4 mg.L<sup>-1</sup> de chlorure de cadmium pendant 24 et 48 heures. / Variation in hydrolase activity in the digestive gland of mussels treated in the laboratory by 2 and 4 mg.L<sup>-1</sup> of cadmium chloride during 24 and 48 hours.

Moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium

Les figures 5a et 5b représentent la variation de l'activité de 17 hydrolases au niveau des glandes digestives des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium (contrôles, 2 mg.L<sup>-1</sup> et 4 mg.L<sup>-1</sup>) après 24 et 48 heures d'exposition.

Pour le groupe témoin (les contrôles), l'activité des hydrolases est en général comprise entre 30 et 40 nmol de substrat hydrolysé par durée d'incubation. Concernant les deux autres groupes, cette activité montre des différences significatives par rapport aux contrôles. Ainsi, on note une baisse d'activité pour un certain nombre d'hydrolases comme l'estérase C<sub>4</sub>, la lipase C<sub>14</sub>, l' $\alpha$ -galactosidase, la  $\beta$ -galactosidase, l' $\alpha$ -mannosidase, l' $\alpha$ -glucosidase et la cystine arylamidase et ceci après 24 et/ou 48 heures de contamination par 2 et/ou 4 mg.L<sup>-1</sup>. Par contre, celle de la N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, la leucine arylamidase et la  $\beta$ -glucuronidase n'a pas changé durant l'exposition au cadmium par rapport aux contrôles, alors que celle de l' $\alpha$ -glucosidase et de la  $\beta$ -glucosidase a connu une légère augmentation.

## DISCUSSION

Le dosage du cadmium (Cd) et du plomb (Pb), effectué mensuellement sur toute l'année au niveau de la glande digestive de la moule, *Mytilus galloprovincialis*, montre des variations qui dépendent de la saison et du site de prélèvement. En effet, les plus fortes teneurs en Cd sont enregistrées pendant l'automne et le printemps au niveau de la station la plus proche du rejet (S2). Le plomb présente des concentrations plus faibles au niveau de ces glandes, il est accumulé préférentiellement pendant l'automne et l'hiver dans le même site.

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<sup>-1</sup> de CdCl<sub>2</sub>.

Des études similaires réalisées sur les bivalves ont montré que l'accumulation des métaux lourds (Cd, Pb, Cu, Mn) est influencée par plusieurs facteurs abiotiques tels que la saison, la température, la salinité, la présence simultanée des autres métaux (Phillips, 1976). En effet, Amiard et Berthet (1996) ont montré chez *Crassostrea gigas* que l'accumulation de Cd, Zn et Cu décroît à la fin du printemps et au début de l'été avec simultanément une élévation du poids des tissus mous, ce qui est dû à la maturité sexuelle. L'accumulation du Pb subit des variations moins importantes. Cette variation saisonnière a été également étudiée chez *Mytilus galloprovincialis* (Majori et al., 1978 ; Regoli, Orlando, 1993) issue

d'un site naturel pollué ; l'accumulation de Pb, Mn et Fe se fait préférentiellement au niveau de la glande digestive (Regoli, Orlando, 1994).

La variation saisonnière des concentrations des métaux au niveau des tissus de la moule *Mytilus galloprovincialis* est due aux variations du poids de ces tissus au cours des différents stades du cycle de reproduction (Soto et al., 1995). Ces oscillations sont affectées par un grand nombre de facteurs qui accompagnent le changement du poids (Luoma et al., 1985 ; Amiard et al., 1986 ; Marigomez, Ireland, 1990 ; Cajaraville et al., 1992).

Les mesures des activités des 17 hydrolases au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* montrent des variations spatio-temporelles très nettes. Les baisses d'activité les plus marquées sont notées pour la lipase C<sub>14</sub>, l'estérase C<sub>4</sub>, l' $\alpha$ -galactosidase, l' $\alpha$ -mannosidase, l' $\alpha$ -fucosidase, la  $\beta$ -glucosidase, la  $\beta$ -glucuronidase et la cystine arylamidase au niveau de la station S2 durant la période d'étude. Alors que celles de l'estérase lipase C<sub>8</sub> et la  $\beta$ -galactosidase se trouvent augmentées. Cependant, la N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, la leucine arylamidase, l' $\alpha$ -glucosidase, la phosphatase acide, la phosphatase alcaline et la naphthol-AS-BI-phosphohydrolase ont une activité comparable à celle des moules prélevées dans la station témoin. En ce qui concerne les moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium, ce sont l'estérase C<sub>4</sub>, la lipase C<sub>14</sub>, l' $\alpha$ -galactosidase, la  $\beta$ -galactosidase, l' $\alpha$ -glucosidase et la cystine arylamidase qui présentent une baisse après 48 heures d'exposition au cadmium.

L'activité des enzymes digestives présente une variation saisonnière significative chez la population d'*Acartia clausi* prélevée sur le site de référence (Kerambrun et al., 1993). Cette variation est engendrée par la variation saisonnière de la disponibilité de la nourriture (Mayzaud, Conover, 1976) et reflète en fait l'activité métabolique (Zammit, Newsholme, 1976).

Les perturbations physiologiques induites par l'accumulation des métaux traces ont été abordées par plusieurs auteurs (Hunter, 1949 ; Kerkut, Munday, 1962 ; Hubschman, 1967 ; Brown, Newell, 1972 ; Lorz, Mc Pherson, 1976). L'activité des enzymes digestives est parmi les réponses biologiques étudiées (Coombs, 1972 ; Alayse-Danet et al., 1979). Elle présente également une variation saisonnière au niveau de la glande digestive de *Mytilus edulis* (Wootton et al., 1996) et de *Mytilus galloprovincialis* (Livingstone et al., 1995).

L'activité des estérases chez *Acartia clausi* et *Centropages typicus* diminue nettement auprès de rejet urbain dans la région de Marseille (Rivière, Kerambrun, 1983) indiquant l'existence d'un métabolisme anormal chez la population prélevée sur le site pollué. En effet, la diminution de l'activité des enzymes digestives correspond à une diminution de la consommation de nourriture (Moraitou-Apostolopoulou, Verriopoulos, 1980).

Van-Wormhoudt (1980) a observé chez *Palaemon serratus* des variations d'activité amylasique et de protéines totales et accordé cela à la variation du taux de croissance. En revanche, un taux élevé d'activité enzymatique est associé à un taux de croissance élevé.

Ainsi, Regoli et Principato (1995), qui ont considéré les animaux d'un milieu naturel pollué et ceux traités au laboratoire, ont montré que l'activité des enzymes antioxydantes, mesurée au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*, présente des différences entre les moules provenant de sites pollués et non pollués, alors que d'autres enzymes comme la phosphatase alcaline présentent des activités similaires pour les deux sites. Cependant, les animaux contaminés au laboratoire présentent une variation de l'activité de cette dernière.

Nos résultats recourent également en partie ceux de Gaudy *et al.* (1991) qui ont étudié la variation de l'activité des hydrolases en fonction du temps d'exposition au cadmium chez le crustacé *Leptomyis lingvura* par la méthode Api-Zym. Ils ont montré une élévation de l'activité de 14 hydrolases après 24 heures d'exposition au cadmium, suivie par la suite, soit d'une stabilisation, soit d'une baisse au bout de 48 et 72 heures.

Parmi les facteurs environnementaux marins, on note les conditions trophiques et le taux de pollution qui jouent un rôle très important non seulement au niveau du nombre d'espèces présentes et de la densité des populations naturelles mais aussi au niveau des caractéristiques physiologiques de ces populations (Kerambrun *et al.*, 1993). La différence observée au niveau des activités des enzymes entre les populations prélevées sur le site pollué et celles du site non pollué, constitue une réponse écophysologique aux conditions environnementales (Benon *et al.*, 1975 ; Rivière, Kerambrun, 1983).

Cette différence de tendance de la variation de l'activité des enzymes digestives des moules issues de milieu naturel pollué et de celles contaminées au laboratoire pourrait être expliquée, soit par action combinée de plusieurs polluants, soit par le développement d'un système d'adaptation ou d'un mécanisme compensatoire chez ces organismes soumis à une pollution chronique.

L'activité des enzymes digestives peut être utilisée comme un indicateur de l'activité métabolique. Elle a une utilité particulière dans les études de l'impact de la pollution pour évaluer les conséquences physiologiques (Guérin, Kerambrun, 1982).

Nous avons remarqué que l'activité des estérases de la leucine aminopeptidase révélée par le test Api-Zym varie nettement en fonction du degré de la pollution. C'est la raison pour laquelle nous avons complété ce travail par une étude qualitative et quantitative de l'activité de ces estérases par la méthode d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide et celle de la leucine aminopeptidase par la méthode spectro-photométrique. Dans le même sens, l'activité de la trypsine n'a pas été révélée par ce test. Nous

avons choisi la méthode spectrophotométrique pour l'étude de cette enzyme.

## BIBLIOGRAPHIE

- Alayse-Danet A.M., J.L. Charlou, M. Jézéquel, J.F. Samain, 1979 - Modèle de détection rapide des effets sublétaux des polluants : modification des taux d'amylase et de la trypsine d'*Artemia salina* contaminées par le cuivre et le zinc. *Mar. Biol.*, **51** : 41-46.
- 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*. *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.
- 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.
- Benon P., F. Blanc, B. Bourgade, R. Kantin, P. Kerambrun, M. Leveau, D. Sautriot, 1975 - Essai d'écotypologie protéique du sous écosystème zooplanctonique d'une aire maritime polluée (Golfe de Fos). *C. r. Acad. Sci., Paris*, **281D** : 235-238.
- 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, pp : 171-178.
- Brown B.E., R.C. Newell, 1972 - The effect of copper and zinc on the metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **16** : 108-118.
- Cajaraville M.P., J.A. Marigomez, E. Angulo, 1992 - Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels. I. Survival, growth and gonad development. *Comp. Biochem. Physiol.*, **102 C** (1) : 103-112.
- Coombs T.L., 1972 - The distribution of Zinc in the oyster *Ostrea edulis* its relation to enzyme activity and the other metals. *Mar. Biol.*, **12** : 170-178.
- Cossa D., P. Lassus, 1989 - Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. *Rapp. scient. tech., IFREMER*, **16** : 100 pp.
- Gaudy R., J.P. Guérin, P. Kerambrun, 1991 - Sublethal effects of cadmium on respiratory metabolism, nutrition, excretion and hydrolase activity in *Leptomyis lingvura* (Crustacea; Mysidacea). *Mar. Biol.*, **109** : 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* (Harpacticoid Copepod). *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B** (4) : 761-770.
- Hax Niencheski L.F., 1982 - *Utilisation de Mytilus galloprovincialis comme indicateur de pollution du littoral méditerranéen français par les composés organochlorés et les métaux lourds*. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle en océanologie. Université d'Aix-Marseille II. 153 pp.
- Hiatt V., J.E Huff, 1975 - The environmental impact of cadmium. An overview. *Int. J. environ. Stud.*, **7** : 277-285.

- Hubschman J.H., 1967 - Effects copper on the crayfish *Orconectes rusticus* (Girard). II. Mode of toxication. *Crustaceana*, **12** : 141-150.
- Hunter W.R., 1949 - The poisoning of *Marinogammarus marinus* by cupric sulfate and mercuric chloride. *J. expl Biol.*, **26** : 113-124.
- 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 de 3<sup>e</sup> cycle, opt. Sc. de l'environnement. Série n°26. Fac. Sc. 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., M. Thessalou-Legaki, G. Verriopoulos, 1993 - Comparative effects of environmental conditions, in eutrophic polluted and oligotrophic non-polluted areas of the Saronikos Gulf (Greece), on the physiology of the copepod *Acartia clausi*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **105C** (3) : 415-420.
- Kerkut G.A., K.A. Munday, 1962 - The effect of copper on the tissue respiration of the crab *Carcinus maenas*. *Cah. Biol. mar.*, **3** : 27-35.
- Livingstone D.R., P. Lemaire, A. Matthews, L.D. Peters, C. Porte, P.J. Fitzpatrick, L. Foerlin, C. Nasci, U. Fossato and al., 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.
- Lorz H.W., B.P. Mc Pherson, 1976 - Effects of copper on down-stream migration, gill ATPase, and adaptation to sea water of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kistush*). *J. Fish. Res. Bd Can.*, **33** : 2023-2030.
- Luoma S.N., D. Cain, C. Johansson, 1985 - Temporal fluctuations of silver, copper and zinc in the bivalve *Macoma balthica* at five stations in South San Francisco Bay. *Hydrobiologia*, **129** : 109-120.
- 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.
- Marigomez I., M.P. Ireland, 1990 - A laboratory study of cadmium exposure in *Littorina littorea* in relation to environmental cadmium and exposure time. *Sci. total Environment*, **90** : 75-87.
- Mauri M., 1985 - Les mollusques bivalves marins bioindicateurs pour les métaux lourds. *Symbioses*, **17** (2) : 89-98.
- Mayzaud P., R.J. Conover, 1976 - Influence of potential food supply on the activity of digestive enzymes of neritic zooplankton. In : *Proc. of the 10<sup>th</sup> European Marine Biological Symposium*. G. Persoone, E. Jaspers (eds), University Press, Wetteren, Belgium, pp : 415-427.
- Monget D., 1978 - *Mise au point d'une microméthode de détection et de mesure d'activité enzymatique (Api-Zym). Résultats obtenus dans différents domaines d'application*. Thèse Docteur-Ingénieur. Université C. Bernard, Lyon I.
- Moraitou-Apostopoulou M., G. Verriopoulos, 1980 - Feeding activity of three annual generations of unperturbed and pollution impacted *Acartia clausi* (Copepoda) populations in Saronikos Gulf (Greece). *Revue int. océanogr. méd.*, **58** : 29-39.
- 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.
- Pipe R.K., J.A. Coles, M.E Thomas, V.U. Fossato, A.L. Pulsford, 1995 - Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussels from the Venice Lagoon. *Aquat. Toxicol.*, **32** (1) : 59-73.
- Regoli F., E. Orlando, 1993 - *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of lead pollution: biological variables and cellular responses. *Sci. total Environment*, (Suppl.) **2** : 1283-1292.
- Regoli F., E. Orlando, 1994 - Seasonal variation of trace metal concentrations in digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*: Comparison 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.
- Rivière D., P. Kerambrun, 1983 - Impact d'une pollution d'origine urbaine sur les activités enzymatiques de deux copépodes planctoniques *Acartia clausi* et *Centropages typicus*. *Mar. Biol.*, **75** : 25-35.
- Soto M., M. Kortabitarte, I. Marigomez, 1995 - Bioavailable heavy metals in estuarine waters as assessed by metal/shell-weight indices in sentinel mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. -Prog. Ser.*, **125** : 127-136.
- Thibaud Y., 1983 - Dosage de métaux (Cu, Zn, Fe, Pb, Cd) dans les organismes marins par absorption atomique. Publ. CNEXO, pp : 263-273.
- Van-Wormhoudt A., 1980 - *Adaptations des activités digestives, de leurs cycles et de leur contrôle, aux facteurs du milieu chez Palaemon serratus (Crustacea Natantia)*. Thèse doctorat d'état, Université d'Aix-Marseille II.
- Viarengo A., L. Canesi, A. Mazzucotelli, E. Ponzano, 1993 - Cu, Zn and Cd content in different tissues of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*: Role of metallothionein in heavy metal homeostasis and detoxication. *Mar. Ecol. -Prog. Ser.*, **95** (1/2) : 163-168.
- 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.
- Zammit V.A., E.A. Newsholme, 1976 - The maximum activities of hexokinase, phosphorylase, phosphofructokinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, nucleoside diphosphatekinase, glutamateoxaloacetate transaminase and arginine kinase in relation to carbohydrate utilization in muscle from marine invertebrates. *Biochem. J.*, **160** : 447-462.

Reçu en janvier 1999 ; accepté en juin 2000.  
Received January 1999; accepted June 2000.