

## Bio-accumulation des métaux lourds et induction des métalloprotéines au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*

Aafaf ESSEDAOUI<sup>1</sup> & Jamila SIF<sup>1a</sup>

(Reçu le 18/03/1999 ; Accepté le 06/12/2000)

### التراكم البيولوجي للفلزات الثقيلة وتحريض الميتالوبروتين على مستوى الغدة الهضمية لـ *Mytilus galloprovincialis*

على مدار السنة، قمنا بدراسة تحريض الميتالوبروتين وتراكم الكاديوم، الزنك والنحاس على مستوى الغدة الهضمية لباح البحر *Mytilus galloprovincialis*. العينات المدروسة تم جمعها انطلاقاً من وسط طبيعي ملوث (نفايات صناعية ناحية الجرف الأصفر - المغرب). وعينات أخرى تمت تربيتها بالمختبر بعد معالجتها بكلورور الكاديوم. يظهر تركيز Zn، Cu و Cd عن اختلافات الفصول و مكان أخذ العينة. تم تسجيل أكبر كمية من هذه المعادن خلال فصلي الربيع والخريف، خاصة عند الحيوانات المأخوذة من الوسط الطبيعي الملوّث، مع الإشارة إلى تركيز Cd يبقى مسيطراً و واضحاً على تركيز كل من Cu و Zn. إن معايرة الميتالوبروتين عند الحيوانات المأخوذة من مختلف المحطات تبين تغيرات زمنية، فتركيزها يتم خاصة على مستوى الغدة الهضمية لباح البحر المأخوذ من المحطة الأكثر تلوثاً. وبخصوص الحيوانات المعالجة بالمختبر، فتركيز هذه البروتينات عرف تطوراً ملحوظاً حسب مدة المعالجة بكلورور الكاديوم.

**الكلمات المفتاحية:** الميتالوبروتين - المعادن الثقيلة - الغدة الهضمية - *Mytilus galloprovincialis* - الجرف الأصفر (المغرب)

### Bio-accumulation des métaux lourds et induction des métalloprotéines au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*

L'induction des métalloprotéines et l'accumulation du Cuivre, Zinc et Cadmium ont été étudiées, durant une année, au niveau de la glande digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis*. Les animaux proviennent soit d'un milieu naturel pollué, situé à proximité des rejets industriels de la région de Jorf Lasfar (Maroc), soit de l'élevage au laboratoire après traitement par le chlorure de cadmium. Les concentrations du Cu, Zn et Cd présentent des variations qui semblent dépendre de la saison et du site de prélèvement. Les plus fortes teneurs sont enregistrées au printemps et en automne, préférentiellement chez les animaux des stations avoisinant les rejets. Chez les moules traitées au laboratoire, la concentration du Cd présente une augmentation significative au delà de 48 heures d'exposition, alors que celle du Cu et du Zn reste faible. Le dosage des métalloprotéines, chez les animaux prélevés dans les différents sites, révèle une variation spatio-temporelle. Leur concentration se fait préférentiellement dans les glandes des moules de la station la plus polluée. Concernant les animaux d'élevage, la concentration de ces protéines montre une nette évolution en fonction de la durée d'exposition au chlorure de cadmium.

**Mots clés :** Métalloprotéines - Métaux lourds - Glande digestive *Mytilus galloprovincialis* - Jorf Lasfar (Maroc)

### Bio-accumulation of the heavy metals and the metalloproteins induction on the level of the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*

The induction of the metalloproteins and the accumulation of Copper, Zinc and Cadmium were studied, during a year, on the level of the digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. The animals proceed either of a natural polluted middle, situated near the industrial dismissals in the region of Jorf Lasfar (Morocco), either of the rearing in the laboratory after treatment by the chloride of cadmium. The concentrations of Cu, Zn and Cd present some variations who seems depend of the season and of the site of taking. The strongest contents are registered in the spring and in autumn preferential at the animals some neighbouring stations the dismissals. As for the mussels treated in the laboratory, the concentration of Cd present a significant increase to the beyond of 48 hours of exhibition. Then that the one of Cu and Zn remains weak. The measuring of the metalloproteins, at the animals collected in the different sites, reveals a spatio - temporal variation, their concentration makes preferably in the glands of mussels in the polluted station. Regarding the animals of rearing, the concentration of these proteins shows a neat evolution in function the length of exhibition to the chloride of cadmium.

**Keys words :** Metalloproteins - Heavy Metals - Digestive Gland - *Mytilus galloprovincialis* - Jorf Lasfar (Morocco)

<sup>1</sup> Laboratoire de Physiologie Animale, Université Chouaib Doukkali, Faculté des Sciences Groupe "Sciences de la Mer" B.P. 20 El Jadida 24000, Maroc

<sup>1a</sup> Auteure correspondante

## INTRODUCTION

Les mollusques, notamment les moules, peuvent accumuler dans leurs tissus de grandes quantités de métaux (Zn, Cu, Cd, Hg, etc.) (Phillips, 1976 ; Viarengo *et al.*, 1987 ; Riber *et al.*, 1989 ; Pavicic *et al.*, 1992) bien que la prise des formes solubles de ces métaux semble être un processus passif (Carpéne & George, 1980 ; Simkiss, 1983). Par contre, l'élimination de ces métaux est un mécanisme actif qui permet leur accumulation au niveau des lysosomes sous forme de corps résiduels riches en métaux (George & Viarengo, 1985). Ces mêmes auteurs montrent que, dans les lysosomes, les métaux sont en liaison avec la production soit de la peroxydation lipidique (George, 1983), soit de la polymérisation des métallothionéines (Viarengo *et al.*, 1985). Ces dernières jouent un rôle important dans la réduction des effets cytotoxiques des métaux (Viarengo *et al.*, 1987). Ce sont des "metal-binding- proteins" thermostables à poids moléculaire faible (Berger *et al.*, 1995), isolées aussi bien chez les vertébrés que les invertébrés marins (Overnell, 1982). Elles sont synthétisées par de nombreux groupes d'organismes à la suite d'une intoxication métallique et peuvent intervenir dans le stockage, la bio-accumulation, le transport et la détoxification des métaux (Langston & Mingjing, 1986 ; Cossort *et al.*, 1989 ; Berger *et al.*, 1995).

L'effet de la pollution métallique sur le métabolisme de la moule *Mytilus galloprovincialis* a retenu notre attention. Pour cela, on a tenté d'étudier la variation de l'activité enzymatique au niveau de la glande digestive de ce bivalve (Essedaoui *et al.*, 1999 ; 2000 a, b). Dans le but d'évaluer l'influence de l'excès du cuivre, du zinc et du cadmium sur le métabolisme de la moule, on s'est proposé, dans ce travail, de doser la concentration de ces métaux et de mesurer le taux des métalloprotéines au niveau de la glande digestive de la moule.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1. Description du site d'étude

La région de Jorf Lasfar est située à 25 km au sud de la ville d'El Jadida (Maroc) et contient un complexe d'industrie chimique 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 :

- 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 et 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.

### 1.1. Stations de prélèvement

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

- Station 1 (S<sub>1</sub>) : station témoin, sise à 1 km au nord de la ville d'El Jadida et à 28 km au nord du rejet principal.

- Station 2 (S<sub>2</sub>) : localisée à 500 m au sud du rejet principal.

- Station 3 (S<sub>3</sub>) : située à 1,5 km au sud du rejet principal.

- Station 4 (S<sub>4</sub>) : située à 2 km au sud du rejet principal.

### 1.2. Échantillons

Les échantillons de moules *Mytilus galloprovincialis* ont été prélevés à marée basse au niveau du médiolittoral supérieur de manière mensuelle durant l'année 96 - 97. Ils sont mis dans des flacons en plastique remplis d'eau de mer puis transportés au laboratoire dans des glacières.

Les moules traitées au laboratoire proviennent de la station de référence (S<sub>1</sub>). Elles sont mises dans des bacs contenant deux litres d'eau de mer (à raison de 12 individus par bac) continuellement oxygénée. 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, 48, 72 et 96 heures. Les concentrations retenues sont 2 et 4 mg.l<sup>-1</sup>. Le groupe témoin ne reçoit aucun traitement particulier.

### 2. Dosage des métaux (Cd, Cu et Zn)

Une période de jeûne (environ 36 heures) a été imposée aux animaux prélevés du milieu naturel pollué et ceux qui sont contaminés au laboratoire par le chlorure de cadmium, 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).

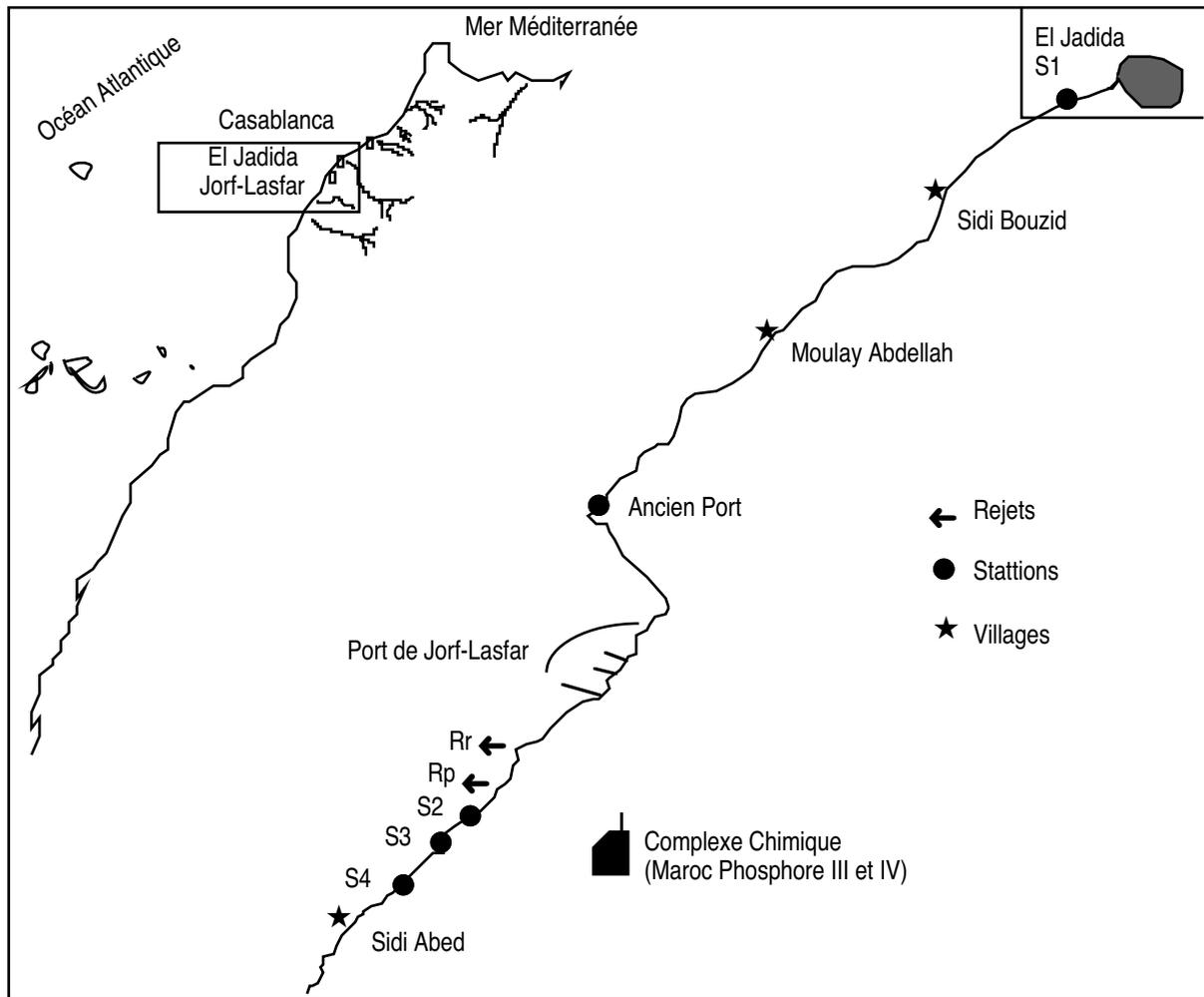


Figure 1. Localisation des stations d'étude et des émissaires dans la région de Jorf Lasfar (El Jadida)

Quarante à soixante glandes digestives par station ont été isolées, puis séchées à l'étuve à 70°C pendant 48 heures. Des fractions de 0,5 g sont soumises à une attaque acide (mélange HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et d'eau oxygénée (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 pour le Cd et à flamme pour le Cu et le Zn (ce dosage a été effectué au laboratoire d'analyses vétérinaires de Casablanca). Les résultats sont exprimés en mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec (ppm).

### 3. Dosage des métalloprotéines

Après la période de purge, les moules issues du milieu naturel pollué et celles qui sont

contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium sont disséquées ; leurs glandes digestives sont prélevées, lavées à l'eau distillée et pesées. Deux grammes de ces glandes sont homogénéisées dans 6 ml de tampon de formiate d'ammonium 0,01 M, pH 7,4. Cet homogénat subit d'abord une première centrifugation à 10000 g à 4°C pendant 1 h 30 mn. Le surnageant récupéré est traité thermiquement (10 mn à 60°C) puis recentrifugé une 2<sup>ème</sup> fois dans les mêmes conditions. Ce traitement thermique est indispensable pour l'isolement des protéines fixatrices de métaux (Overnell & Trehwella, 1979 ; Dhainaut-Courtois *et al.*, 1991).

L'absorbance du deuxième surnageant est mesurée à deux longueurs d'ondes : 254 et 280 nm au moyen d'un spectrophotomètre UV-Visible, vu que ces protéines sont riches en résidus "cystéines" tout en étant pauvres en acide aminés aromatiques (Kägi & Vallée, 1961 ; Nordberg *et al.*, 1974).

## RÉSULTATS

### 1. Cadmium, Cuivre et Zinc

#### 1.1. Moules issues du milieu naturel pollué

La variation des concentrations du Cd (Figure 2a), Cu (Figure 2b) et Zn (Figure 2c) est étudiée au niveau de la glande digestive des moules prélevées dans les différentes stations prospectées pendant l'année 1996-97.

Comparées à la station de référence ( $S_1$ ), les glandes digestives des moules de la station  $S_2$  présentent les concentrations les plus élevées en Cd durant presque tous les mois (à l'exception de novembre et février). La valeur maximale est enregistrée au cours du mois d'avril ( $53,30 \pm 1,04$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec). La plus faible valeur est notée au mois de janvier 1996 ( $9,25 \pm 0,96$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec).

Au niveau des stations  $S_3$  et  $S_4$ , les concentrations en Cd s'avèrent plus faibles par rapport aux autres stations (valeur maximale  $26,92 \pm 1,57$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec en mai). Cependant, elles restent significativement plus élevées que dans les glandes des animaux de la  $S_1$  pendant le mois d'avril, juin, juillet, août, décembre et janvier.

La teneur en Cu au niveau de la glande digestive montre également une variation saisonnière importante dans les différentes stations. Au niveau de la  $S_2$ , seul le mois de novembre présente une concentration très élevée ( $684 \pm 13$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec). Cependant, au niveau de la  $S_3$  et de la  $S_4$ , l'accumulation du Cu reste significative uniquement pendant les mois de janvier 1996, février, mars et novembre.

Les concentrations en Zn au niveau de cette même glande montrent également des fluctuations en fonction des saisons. Les teneurs les plus élevées

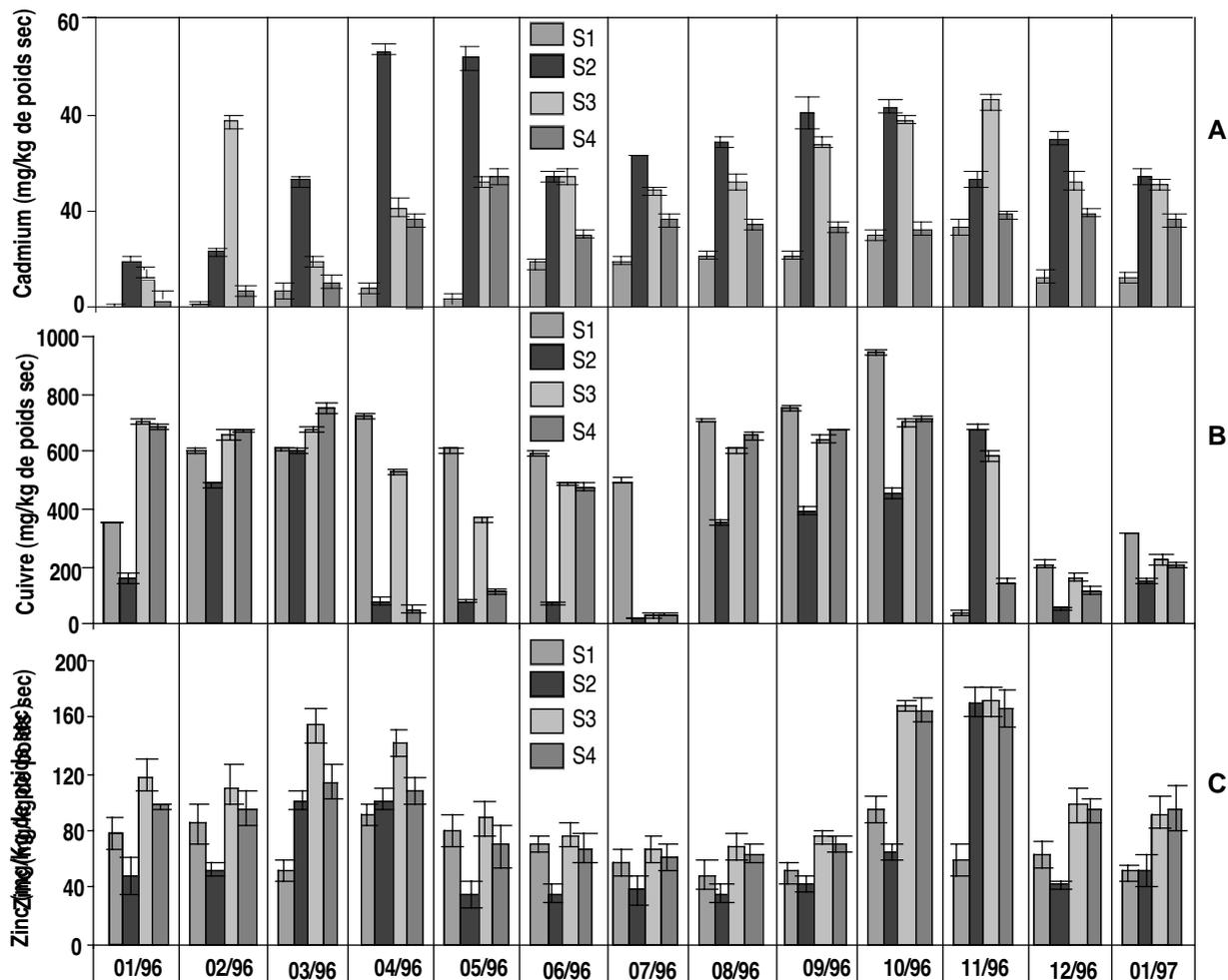


Figure 2. Variation annuelle des concentrations des métaux lourds dans la glande digestive des moules des stations étudiées a : Cadmium ; b : Cuivre ; c : Zinc

sont enregistrées en automne, hiver et printemps surtout dans les stations  $S_3$  et  $S_4$  ( $170,37 \pm 9,80$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec).

Cependant, elles restent comparables à la station de référence  $S_1$  en été. Au niveau de la station  $S_2$ , les glandes digestives des animaux présentent des concentrations élevées uniquement pendant les mois de mars ( $102,31 \pm 6,53$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec) et novembre ( $170,35 \pm 9,80$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec).

### 1.2. Moules contaminées au laboratoire par le $CdCl_2$

La variation des concentrations du Cd (Figure 3a), Cu (Figure 3b) et Zn (Figure 3c) est étudiée au niveau de la glande digestive des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium ( $CdCl_2$ ) pendant 24, 48, 72 et 96 heures. Aucune différence significative dans la mesure de

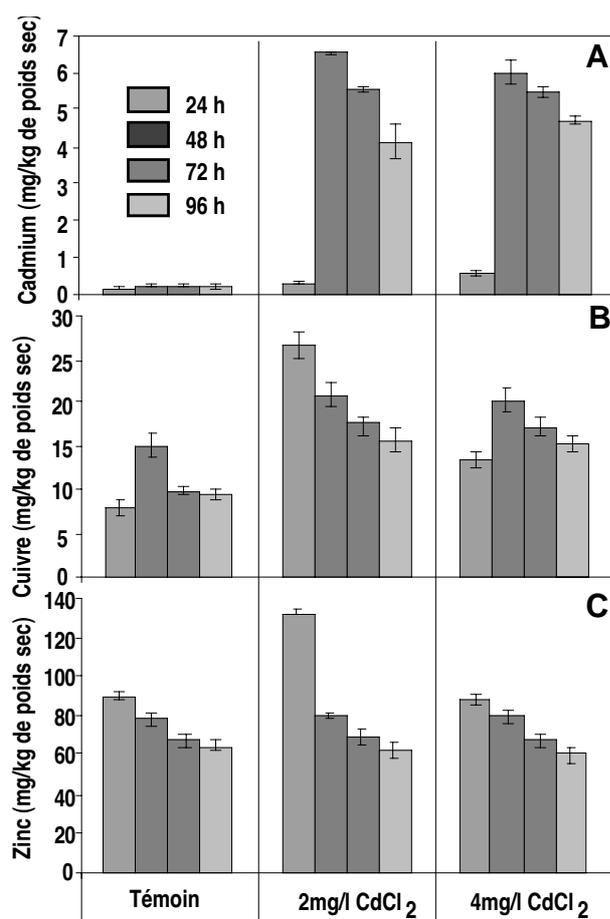
ces métaux n'est enregistrée au niveau des glandes digestives des différents groupes témoins.

Les deux groupes expérimentaux (2 et 4 mg.l<sup>-1</sup>) ne présentent pas de différence de concentration de Cd. L'accumulation de ce métal n'est significative qu'au delà de 48 heures de traitement ( $6,54 \pm 0,06$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec). Une légère diminution est cependant notée après 72 et 96 heures d'exposition.

Par ailleurs, la glande digestive des moules traitées à 2 mg.l<sup>-1</sup> de  $CdCl_2$  présente une accumulation du Cu, très significative essentiellement pendant 24 heures ( $26,62 \pm 1,49$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec).

Une légère diminution est remarquée en fonction du délai du traitement (48, 72 et 96 heures). Lorsque la concentration de  $CdCl_2$  est plus élevée (4 mg.l<sup>-1</sup>), l'accumulation du Cu reste cependant faible pendant la première journée de traitement alors que celle qui se fait pendant 48, 72 et 96 heures est comparable à la première concentration.

La concentration de Zn au niveau des glandes digestives des moules n'est significative que pendant les premières 24 heures d'exposition à 2 mg.l<sup>-1</sup> de  $CdCl_2$  ( $132,63 \pm 1,59$  mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec).



**Figure 3. Variation des concentrations des métaux lourds dans la glande digestive des moules contaminées au laboratoire par le chlorure de cadmium a : Cadmium ; b : Cuivre ; c : Zinc**

### 2. Métalloprotéines (MP)

Les valeurs du rapport d'absorbance à 254 nm et à 280nm, qui traduisent l'existence des métalloprotéines (MP) au niveau des glandes digestives des animaux issus du milieu naturel pollué (Figure 4), montrent une variation spatio-temporelle bien nette.

Les moules de la station  $S_2$  présentent les plus fortes teneurs pendant toute l'année d'étude, le rapport le plus élevée étant enregistrée pendant le mois d'avril ( $3,091 \pm 0,109$ ). Les animaux de la station  $S_3$  présentent également des teneurs en MP significativement élevées par rapport à celles de la station de référence  $S_1$  ( $1,480 \pm 0,030$ ), mais beaucoup plus faibles, comparées à la station  $S_2$ . D'autre part, les moules de la station  $S_4$  présentent des taux en MP comparables à ceux de la station témoin  $S_1$ .

Concernant les animaux traités au laboratoire par le chlorure de cadmium, le taux de MP montre une évolution très nette en fonction de la durée d'exposition (Figure 5).

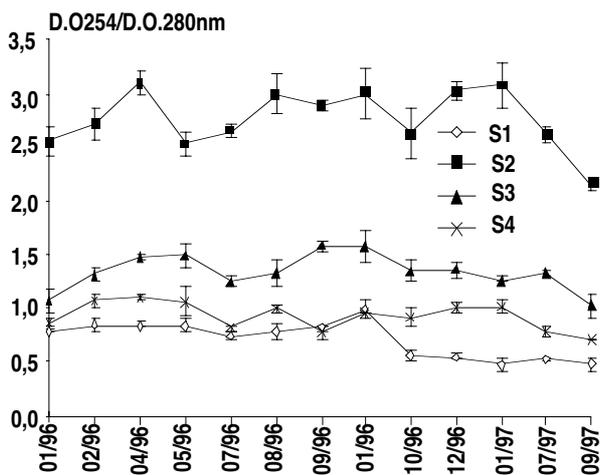


Figure 4. Variation du rapport D.O.254/D.O.280 au niveau de la glande digestive des moules prélevées des différentes stations prospectées

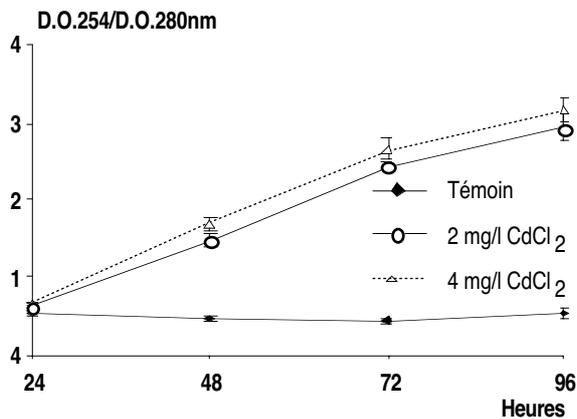


Figure 5. Variation du rapport D.O.254/D.O.280 au niveau de la glande digestive des moules traitées au laboratoire par le chlorure de cadmium

En effet, les moules exposées pendant 96 heures au Cd présentent les plus fortes teneurs de MP dans leurs glandes digestives. Aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes traités par 2 et 4 mg.l<sup>-1</sup> de CdCl<sub>2</sub>.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les concentrations de Cd, Cu et Zn déterminées mensuellement sur une année d'étude au niveau de la glande digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis* du littoral de Jorf Lasfar montrent des variations spatio-temporelles. Les plus fortes valeurs sont enregistrées essentiellement en automne et au printemps aussi bien pour le Cd, le Cu que pour le Zn dans la majorité des stations prospectées. Les teneurs en

Cd sont particulièrement plus élevées, notamment dans les stations les plus proches des rejets.

Les glandes digestives des moules traitées au laboratoire par le chlorure de cadmium, pendant 24, 48, 72 et 96 heures, montrent une accumulation du Cd. Par contre, la variation du Cu et du Zn est notée surtout durant les premières 24 heures de traitement à 2 mg.l<sup>-1</sup> de Cd Cl<sub>2</sub>.

La variation saisonnière de la concentration des métaux lourds a été mentionnée à plusieurs reprises (Goldberg *et al.*, 1983 ; Cain & Luoma, 1990). Bryan (1973) a étudié la saisonnalité des métaux traces chez la scallope et a trouvé que les concentrations les plus élevées sont enregistrées pendant l'automne et suggéra qu'elle est inversement proportionnelle à la productivité phytoplanctonique. D'après Fowler & Oregioni (1976), les valeurs maximales des métaux traces sont enregistrées au printemps chez *Mytilus galloprovincialis*, tandis que, chez *Mytilus edulis*, elles sont identifiées à la fin d'hiver, les valeurs minimales étant notées en automne (Borchardt *et al.*, 1988). Cette variation saisonnière est affectée par un grand nombre de facteurs accompagnant la variation du poids (Amiard *et al.*, 1986 ; Cajavarille *et al.*, 1992).

D'autres études (Phillips, 1976 ; Denton & Burdon-Jones, 1981) ont montré que la salinité et la température sont les principaux agents de la variation saisonnière de la concentration des métaux. Chez l'huître *Crassostrea gigas*, l'accumulation du Cd, du Zn et du Cu décroît à la fin du printemps et en début d'été avec une élévation simultanée du poids des tissus mous, due au développement gonadique et à la période de ponte (Boyden & Phillips, 1981 ; Amiard & Berthet, 1996).

Dans cette étude, deux phénomènes peuvent être à l'origine de la faible bio-accumulation du Cu et du Zn chez *Mytilus galloprovincialis* de la région de Jorf Lasfar :

- Une biodisponibilité limitée de ces deux métaux dans l'environnement vu leur spéciation et leur forte association au sédiment.
- Une régulation des concentrations tissulaires du Cu et du Zn vu leur rôle respectif d'éléments essentiels, intervenant dans de nombreuses réactions métaboliques (Cosson & Amiard-Triquet, 1989 ; Cosson *et al.*, 1989).

Concernant les métalloprotéines (MP), le taux le plus élevé est enregistré au niveau des glandes

digestives des moules de la station la plus proche du rejet principal, source de pollution métallique surtout le Cd. Le traitement expérimental de ces animaux par le chlorure de cadmium montre une présence croissante de MP en fonction du temps d'exposition. Ces résultats laissent supposer l'existence d'une corrélation positive entre le taux des MP sécrétées et la concentration des métaux dans l'environnement (Bebianno & Langston, 1992 ; Raspor & Pavicic, 1991).

D'après plusieurs auteurs (Langston, 1985 ; Nejmeddine *et al.*, 1988), les métaux lourds induisent la synthèse des MP dont la chélation avec le métal entraîne l'élévation de l'absorbance à 254 nm. La forte concentration du Cd est probablement la cause de l'importante absorbance à cette longueur d'onde des extraits testés. Wlostowski (1992) a montré qu'une courte période d'exposition à de faibles concentrations du Cu et du Cd cause des changements significatifs des taux d'accumulations du Cu, du Zn et du Cd et de la concentration de ces protéines au niveau des tissus des organismes marins.

Chez les invertébrés marins, les MP sont présentes au niveau de plusieurs tissus et notamment la glande digestive (Kägi, 1993). Chez le crabe australien *Scylla serrata*, les protéines fixatrices de métaux ont été isolées à partir de la glande digestive par chromatographie sur gel (Olafson *et al.*, 1979). En cas de pollution modérée (Roesijadi & Fellingham, 1987) ou de faible bio-accumulation de Cu et de Zn (Cosson *et al.*, 1989), les concentrations en MP dans les glandes digestives des bivalves présentent une stabilité relative.

Selon Piscator (1964), la synthèse des MP est considérée comme une réponse cellulaire pour réduire l'effet cytotoxique dû à la grande accumulation des métaux. Elles permettent la régulation des concentrations des métaux lourds au niveau des cellules des animaux marins (Viarengo *et al.*, 1993). Les résultats obtenus par Viarengo *et al.* (1987) confirment le rôle important des MP dans l'accumulation du Cd et démontrent qu'au niveau de la glande digestive des moules exposées pendant 9 jours au Cd, seulement 30 à 40 % de la quantité de Cd accumulé est retrouvée au niveau du lien cytosol-thionéines.

Chez certains organismes, les MP peuvent être utilisées pour évaluer l'impact des métaux lourds au niveau cellulaire (George & Langston, 1994), le mollusque *Mytilus* sp. est le plus utilisé comme indicateur test.

## RÉFÉRENCES CITÉES

- Amiard J.C. & Berthet B. (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). *Ann. Inst. Oceanogr.* 72 (2) : 195-207
- Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Berthet B. & Métayer C. (1986) Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 90: 425-431
- Amiard-Triquet C., Berthet B., Métayer C. & Amiard J.C. (1984) Technical recommendations for studying the biogeochemical cycle of trace metals. *Rev. Intern. Oceanogr. Med.* 73-74 : 27-34
- Bebianno M.J. & Langston W.J. (1992) Cadmium induction of metallothionein synthesis in *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 103C (1) : 79-85
- Berger B., Dallinger R. & Thomaser A. (1995) Quantification of metallothionein as a biomarker for cadmium exposure in terrestrial gastropods. *Environ. Toxicol. Chem.* 14 (5) : 781-791
- Borchardt T., Burchert S., Hablitzel H., Karbe L. & Zeitner R. (1988) Trace metal concentrations in mussels : comparaison between estuarine, coastal and offshore regions in the southeastern North sea from 1983 to 1986. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 42 : 17-31
- Boyden C.R. & Phillips D.J.H. (1981) Seasonal variation 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.). *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 53: 705-725
- Cain D.J., Luoma S.N. (1990) Influence of seasonal growth, age and environmental exposure on Cu and Ag in a bivalve indicator, *Macoma balthica*, in San Francisco Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 60 : 45-55
- Cajavarille M.P., Marigomez J.A. & Angulo E. (1992) Comparative effects of the WAF of three oilson mussels. I. Survival, growth and gonad development. *Comp. Biochem. Physiol.* 102: 103-112
- Carpenè E. & George S.G. (1980) Absorption of cadmium by gills of *Mytilus edulis* (L.). *Mol. Physiol.* 1 : 23-24
- Cosson R. & Amiard-Triquet C. (1989) Copper, zinc and tin metabolism in the oyster and mussel in relation to pollution caused by the activity of a marina. *Océanis Doc.-Océanogr.* 15 (4) : 411-418

- Cosson R., Amiard-Triquet C. & Grandier-Vazeille X. (1989) Etude du métabolisme du cuivre, du zinc et de l'étain chez l'huître et la moule en relation avec les pollutions dues à l'activité d'un port de plaisance. *Océanis* 15(4): 411-418
- Denton G.R.W. & Burdon-Jones C. (1981) Influence of the temperature and salinity on the uptake, distribution and depuration of mercury, cadmium and lead by the black-lip oyster *Saccostrea echinata*. *Mar. Biol.* 65: 317-326
- Dhainaut-Courtois N., Demuynek S. & Salzet-Raveilion B. (1991) Mécanismes de détoxification chez les poissons et les invertébrés marins. *Océanis* 17 : 403-419
- Essedaoui A., Kerambrun P. & Sif J. (2000 a) Effet du cadmium sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase chez *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Life* (accepté, sous presse)
- Essedaoui A., Masse H. & Sif J. (1999) Etude de l'effet du cadmium sur l'activité de l'estérase C4, l' $\alpha$ -amylase, la valine arylamidase et la  $\beta$ -galactosidase chez le mollusque *Mytilus galloprovincialis* dans la région de Jorf Lasfar. *Bull. Inst. Sci.* 21 (sous presse)
- Essedaoui A., Sif J., Kerambrun P. & Alliot E. (2000 b) 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* (accepté, sous presse)
- Fowler S.W. & Oregioni B. (1976) Trace elements in mussels from the N. W. Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 72: 26-29
- George S.G. (1983) Heavy metal detoxification in the mussel *Mytilus edulis*. Composition of Cd-containing kidney granules (tertiary lysosomes). *Comp. Biochem. Physiol.* 76C : 53-57
- George S.G. & Langston W.J. (1994) Metallothionein as an indicator of water quality : Assessment of the bioavailability of cadmium, copper, mercury and zinc in aquatic animals at the cellular level. Ed. Stcliffe D.W., Ambleside UK. Freshwater-Biological Association pp. 138-153
- George S.G. & Viarengo A. (1985) An integration of current knowledge of the uptake, metabolism and intracellular control of heavy metal in mussels. In : *Marine pollution and physiology : recent advances* Ed. : F.J. Vernberg, F.P. Thurberg, A. Calabrese and W.B. Vernberg. University of South Carolina Press. pp. 125-144
- Goldberg E.D., Koide, Hodge V., Flegal A. R. & Martin J. (1983) U.S. mussel watch : 1977-1978, results on trace metals and radionuclides. *Estuar. Coastal Shelf Sci.* 16: 69-91
- Kägi J.H.R. (1993) Evolution, structure and chemical activity of class 1 metallothionein. An overview. In : *Metallothionein III - Biological Roles and medical Implications*. Ed. K.T. Suzuki, N. Imura and M. Kimura. Birkhäuser Verlag, basel, Swit-Zerland, pp. 29-55
- Kägi J.H.R. & Vallée B.L. (1961) Metallothionein : a Cd- and Zn- containing protein from equine renal cortex. II. Physicochemical properties. *J. Biol. Chem.* 236 : 2435-2442
- 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>ème</sup> Cycle en science de l'environnement. Série n°26. Université Chouaïb Doukkali, El Jadida (Maroc). 156 p.
- Langston W.J. (1985) The use of organisms and sediments as indicators of environmental contamination with special référence to mercury in the Mersey estuary. In *Heavy metals in the environment*. Ed. : T.D. Lekkas Edinburgh CEP Consultants. 1 : 374-376
- Langston W.J. & Mingjing Z. (1986) Evaluation the significance of metal-binding proteins in the gasteropod *Littorina littorea*. *Mar. Biol.* 92 : 505-515
- Nejmeddine A., Dhainaut-Courtois N., Baert J.L., Sautière P., Fournet B. & Boulenguer P. (1988) Purification and characterization of a cadmium-binding protein from *Nereis diversicolor* (Annelida, Polychaeta). *Comp. Biochem. Physiol.* 89 : 321-326
- Nordberg M., Trojanowska B. & Nordberg G.F. (1974) Studies on metal-binding proteins of low molecular weight from renal tissue of rabbits exposed to Cd or Hg. *Environ. Physiol. Biochem.* 4 : 149-158
- Olafson R.W., Sim R.G. & Boto K.G. (1979) Isolation and chemical characterization of the heavy metal-binding protein metallothionein from marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 62B : 407-416
- Overnell J. (1982) A method for the isolation of metallothionein from the hepatopancreas of the crab *Cancer pagurus* that minimizes the effect of the tissue proteases. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B (3) : 547-553

- Overnell J. & Trehwella E. (1979) Evidence for the natural occurrence of (cadmium, copper)-metallothionein in the crab *Cancer pagurus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 64C : 69-76
- Pavicic J., Raspor B. & Branica M. (1992) Metal-binding proteins of *Mytilus galloprovincialis* similar to metallothioneins, as a potential indicator of metal pollution. *Map. Tech. Rep. Ser.* 69 : 217-234
- 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
- Piscator M. (1964) On cadmium in normal human kidneys together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium exposed rabbits. *Nord. Hyg. Tidskr.* 45 : 76-82
- Raspor B. & Pavicic J. (1992) Complexing properties of metallothionein-like proteins. *Chem. Speciat. Bioavail.*, 3 (Suppl.) : 201-206
- Raspor B., Pavicic J. & Branica M. (1989) Cadmium - induced proteins from *Mytilus galloprovincialis* characterization and study of their interaction with cadmium. *Mar. Chem.* 28 (1/3) : 199-214
- Ribera D., Narbonne J.F., Suteau P., Raoux C., Garrigues P. & Lafaurie M. (1989) Activities of the PAH metabolizing system in the mussel as a biochemical indicator for pollution : french coasts of the Mediterranean sea. *Océanis* 15 (4) : 443-449
- Roesijadi G. & Fellingham G.W. (1987) Influence of Cu, Cd and Zn pre-exposure on Hg toxicity in the mussel *Mytilus edulis*. *J. Fish. Aquat. Sci.* 44 (3) : 680-684
- Simkiss K. (1983) Lipid solubility of heavy metals in saline solutions. *Mar. Biol. Ass. U.K.* 63 : 1-9.
- Thibaud Y. (1983) Dosage de métaux (Cu, Zn, Fe, Pb, Cd) dans les organismes marins par absorption atomique. *C.N.E.X.O.* pp : 263-273
- Viarenco A., Canesi L., Mazzu-Cotelli A., Ponzano E. & Orunesu M. (1993) Cu, Zn, Cd content in different tissues of Antarctic scallop *Admussium colbecku* (Smith, 1902) : role of metallothionein in the homeostasis and in the detoxification of heavy metals. *Mar. Environ. Res.* 35 (1/2) : 216-217
- Viarenco A., Moore M.N., Mancinelli G., Mazzucotelli A., Pipe R.K. & Farrar S.V. (1987) Metallothioneins and lysosomes in metal toxicity and accumulation in marine mussels : the effect of cadmium in the presence and absence of phenanthrene. *Mar. Biol.* 94 : 251-257
- Viarenco A., Moore M.N., Pertica M., Mancinelli G., Zanicchi G. & Pipe R.K. (1985) Detoxification of copper in the cells of the digestive gland of mussel : the role of lysosomes and thioneins. *Sci. Tot. Environ.* 43 : 135-145
- Wlostowski T. (1992) On metallothionein, cadmium, copper and zinc relationships in the liver and kidney of adult rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 103C (1) : 35-41