

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955-سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecotoxicologie Animale

Intitulé :

Effets reprotoxique des deux éléments traces métalliques (Cd et Hg) sur  
la moule *Mytilus galloprovincialis* bioindicatrice de la pollution marine.

Présentées par :

- + Saad djaballah Widad
- + Nouari Ikram
- + vBouchama Naouel
- + Guerirem Nesrine

**Membre de Jury:**

M<sup>me</sup> Gabli Zahra (MCA)

Présidente

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

M<sup>me</sup> Nadji Safia (MCB)

Promotrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

M<sup>me</sup> Abbaci Sameh (MAA)

Examinatrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

---

## Remerciement

En premier lieu on remercie Allah qui nous a donné la santé le courage et la volonté pour atteindre notre objectif.

Nous adressons de chaleureux remerciements à notre encadreur NADJI Safia, pour nous avoir encadrés, orienté, aidé, et conseillé.

Nous tenons à remercier les membres du jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils nous adressent lors de cette soutenance afin

D'améliorer notre travail.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'université *de Skikda 20aout 1955* départements de *Sciences de la nature et de la vie*.

Nous remercions également tous les professeurs et les enseignants qui nous ont apporté leurs connaissances et leurs soutiens durant toute notre formation.

Finalement, nous ne manquerons pas d'adresser nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.

---

## Dédicace

Je dédie ce mémoire ....

### *A ma très chère mère*

*Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur de sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement*

*Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec chaque fois une attention renouvelée*

*Puis dieu, tout puissant vous combler de sante, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

### *A mon très cher père*

*J'implore dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.*

*A mes frère **Salah Eddine, Noureddine, Zakaria.***

*A mes chère sœurs **Manel et Amel.***

**BOUCHAMA NAOUEL**

---

## Dédicace

واخر دعواهم ان الحمد لله رب العالمين

**Tout d'abord, louange à Allah, par Sa grâce s'accomplissent les bonnes actions. Louange à Allah pour Ses bienfaits sur moi et pour Sa guidance dans mes efforts, ainsi que pour tous les succès et les distinctions atteints. Loué soit Allah qui m'a préservé des moments difficiles et m'a donné la force de me relever après chaque échec.**

**Ensuite, à ma chère mère, mon soutien après Allah, qui m'a aidé dans les moments de faiblesse, m'a encouragé et a semé en moi la graine du bien, me permettant de marcher dans cette vie avec fierté et confiance.**

**Je remercie également mon père pour ses sacrifices, ses veilles et ses conseils qui ont rendu ma vie plus facile, en me donnant force et soutien.**

**À mes chères sœurs, Bouchra, Nour Elhouda, et Ayat El Rahman, je remercie Allah pour votre soutien et votre présence dans ma vie.**

**Bien sûr, je n'oublie pas les plus jeunes membres de ma famille, notamment le nouveau venu, Yazen, l'âme de sa tante.**

**À ceux qui sont loin et proches, qui ont toujours souhaité mon bien et m'ont encouragé dans tout ce que je fais, que ce soit par leur présence physique ou spirituelle, je leur suis reconnaissant. Je remercie Allah de vous avoir mis sur mon chemin, Abdul Shakoor, que Dieu vous préserve.**

**Je dédie ce travail à mes amis en Palestine et à tous les étudiants palestiniens dont la guerre a empêché l'obtention du diplôme. Je prie pour tous les martyrs de Gaza, terre de dignité.**

**Enfin, je remercie sincèrement tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé vers le succès.**

**SAAD DJABALLAH WIDAD**

---

## Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect. Avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie.

A mon paradis, a la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin.

Ma moitié. Maman.

A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir.

A mon prince papa.

A mes frères qui m'encouragent surtout Amine pour l'amour qu'il me réserve.

A ma sœur Souhaila et ma belle-sœur Meriem qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

A mon encadrante Dr NADJI Safia pour leur enseignement précieux et leurs conseils avisés.

A mes amies Djihane, Feryale et Lina pour leur présence et encouragement.

A tous mes collègues de promotion de Master 2 Eco toxicologie animale.

A tous ce qui ont participé à ma réussite et a tous qui m'aiment.

**NOUARI IKRAM**

---

## Dédicace

"وأخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين"

Je dédie cette recherche scientifique, comme mon humble réussite, à ma mère, qui a inondé ma vie de tendresse et d'amour, et à mon père, mon modèle de vie, qui a toujours souhaité me voir dans mon uniforme de fin d'études, et à mes frères. , toute ma famille et tous mes amis qui m'ont donné la vie et l'espoir, et puis à tous ceux qui m'ont appris une lettre qui est devenue une dent avec une lumière qui éclaire le chemin devant moi, louange à Dieu pour ce qui reste, pour ce qui est. À venir et pour ce qui est encore à venir, louange à Dieu pour toujours et pour toujours.

**GUERIREM NESRINE**

---

## *Sommaire :*

<b>Liste des abréviations</b> .....	
<b>Liste des tableaux</b> .....	
<b>Liste des figures</b> .....	
<b>Résumés</b> .....	
<b>1. Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Matériel et Méthodes</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 Matériel Biologique</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1.1 Présentation de l'espèce</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1.2 Position systématique</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1.3. Biotope, Mode Alimentaire</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1.4. Cycle de développement d'un bivalve</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1.5. Morphologie et Anatomie</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1.6 Répartition géographique</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.7. Ecologie</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.8. Localisation et présentation du site d'échantillonnage</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2. Matériel Chimique</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2.1. Présentation des deux xénobiotique</b> .....	<b>155</b>
<b>2.3. Récolte et traitement des échantillons</b> .....	<b>176</b>
<b>2.3.1. Technique d'échantillonnage</b> .....	<b>177</b>
<b>2.3.2 Protocole de contamination des moules</b> .....	<b>188</b>
<b>a) Suivis des moules</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4 Dissection et prélèvement des organes</b> .....	<b>20</b>
<b>2.5. Paramètres étudiés</b> .....	<b>20</b>
<b>2.5.1. Extraction et dosage des vitéllogénines</b> .....	<b>20</b>
<b>2.6. Analyse des métaux</b> .....	<b>20</b>
<b>2.6.1. Le séchage</b> .....	<b>20</b>

---

2.6.2. Le broyage .....	20
2.6 3. La minéralisation .....	20
2.6.4 Dosage des métaux traces .....	21
2.7. Analyse histologique .....	22
2.8. Analyse statistique .....	25
3. Résultats et discussion .....	266
3.1. Bioaccumulation de cadmium chez <i>M. galloprovincialis</i> .....	266
3.2. Bioaccumulation de mercure chez <i>M. galloprovincialis</i> .....	288
3.3. .... Effet du cadmium sur le taux de la vitellogénine chez les femelles de <i>M. galloprovincialis</i> : .....	30
3.4. Effet du mercure sur le taux de vitellogénine chez les femelles de <i>M. galloprovincialis</i> .....	281
3.5. Etude histopathologiques des gonades de <i>M. galloprovincialis</i> .....	262
3.5.1. Observation des coupes histologiques de la gonade mâle témoin .....	262
3.5.2. Observation des coupes histologiques de la gonade femelle témoin .....	262
3.5.3. Effet du Cd sur les gonades males de <i>M. galloprovincialis</i> .....	32
3.5.4. Effet du Cd sur les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i> .....	34
3.5.5. Effet de l'Hg sur les gonades Males de <i>M. galloprovincialis</i> .....	36
3.5.6. Effet du Hg sur les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i> .....	37
4. Discussions .....	399
4.1. Accumulation du cadmium et du mercure .....	399
4.2. Effets du cadmium et du mercure sur le taux de la vitellogénine : .....	399
4.3. Effet du cadmium et du mercure sur l'histologie des gonades : .....	40
4. Conclusion et perspectives .....	42
5. Références bibliographiques .....	44

---

**Résumé :**

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la bioaccumulation de deux éléments traces métalliques (Cd et Hg) et les effets toxiques qu'ils induisent sur le taux des vitellogénines au niveau des gonades, après l'exposition d'une espèce bioindicatrice de la pollution marine la moule *Mytilus galloprovincialis* à deux concentrations (100 et 1000 µg/l), reflétant des niveaux de pollution potentiellement rencontrés dans les environnements marins contaminés, cette étude a été complétée par une étude histopathologique des gonades mâles et femelles.

Les résultats de cette étude indiquent que l'exposition au Cd et Hg a des effets reprotoxiques néfastes sur *Mytilus galloprovincialis*. Ces effets se manifestent par :

- Un potentiel d'accumulation important de cadmium et du mercure dans les gonades, indiquant une capacité à absorber et à retenir ces contaminants.
- L'accumulation du cadmium est plus importante que celle du mercure et les mâles sont plus sensibles que les femelles.
- Une perturbation de la vitellogénine qui joue un rôle crucial dans la reproduction des mollusques. Son altération significative par les deux métaux suggère une perturbation potentielle de la fonction reproductrice.
- Des dommages tissulaires observés dans les gonades des moules. Ces anomalies suggérant que l'exposition aux particules métalliques pourrait perturber la spermatogénèse et l'ovogénèse, il semble donc évident que les deux métaux exercent un effet toxique sur la reproduction des bivalves.

**Mots clés :** *Mytilus galloprovincialis*, bioaccumulation, cadmium, mercure, vitellogénine, histopathologie.

**Abstract:**

The main objective of this study was to evaluate the bioaccumulation of two trace metal elements (Cd and Hg) and their toxic effects on vitellogenin levels in gonads after exposure of the marine pollution bioindicator species, *Mytilus galloprovincialis*, to two concentrations (100 and 1000 µg/l). These concentrations reflect potential pollution levels encountered in contaminated marine environments. The histopathological examination of male and female gonads complemented the study.

The results indicate that exposure to Cd and Hg has detrimental reproductive toxic effects on *Mytilus galloprovincialis*, including:

- Significant accumulation of cadmium and mercury in gonads, indicating the capacity to absorb and retain these contaminants.
- Cadmium accumulation is higher than mercury in both sexes, with males being more sensitive than females.
- Disturbance in vitellogenin, which plays a crucial role in mollusk reproduction. Its significant alteration by both metals suggests potential disruption of reproductive function.
- Tissue damage observed in mussel gonads, indicating that exposure to metal particles could disrupt spermatogenesis and oogenesis, thereby demonstrating toxic effects on bivalve reproduction.

**Key words:** *Mytilus galloprovincialis*, bioaccumulation, cadmium, mercury, vitellogenin, histopathology.

## ملخص :

كان الهدف الرئيسي لهذه الدراسة تقييم التراكم الحيوي لعنصرين أثريين معدنيين (الكاديوم والزنبق) والآثار السامة التي يسببها على مستوى الفيتيلوجينين في الغدد التناسلية، بعد تعريض نوع حيواني مؤشر على التلوث البحري، المحار الأزرق بلح البحر، لتركيزين (100 و 1000 ميكروغرام/لتر). هذه التراكيز تعكس مستويات التلوث المحتملة في البيئات البحرية الملوثة. وقد تمت المدرسة بدراسة نسيجية للغدد التناسلية للذكور والإناث.

تشير النتائج إلى أن التعرض للكاديوم والزنبق له آثار سامة تؤثر سلباً على بلح البحر بما في ذلك

- تراكم كبير للكاديوم والزنبق في الغدد التناسلية، مما يدل على قدرتها على امتصاص واحتجاز هذه الملوثات.

- تراكم الكاديوم أكبر من الزنبق في كل من الجنسين، والذكور أكثر حساسية من الإناث

- اضطراب في الفيتيلوجينين الذي يلعب دوراً حاسماً في تكاثر الرخويات. التغيير الكبير فيه بواسطة كلا المعدنين يشير إلى اضطراب محتمل في الوظيفة التناسلية

- أضرار نسيجية ملاحظة في غدد المحار، مما يشير إلى أن التعرض للجزيئات المعدنية قد يؤثر على تشكل الحيوانات المنوية والبويضات، مما يظهر أن العنصرين يمارسان تأثيراً ساماً على تكاثر الرخويات

**كلمات مفتاحية:** بلح البحر تراكم حيوي، كاديوم، زنبق، فيتيلوجينين، التشريح المرضي.

**Liste des abréviations :**

**BBC** : Bleu brillant de comassie

**DDT** : Dichloro-diphényle-trichlor-éthane

**DHT** : Une dose hebdomadaire tolérable

**HE** : Hématoxyline –Eosine

**ETM** : Eléments Traces Métalliques

**RNA** : Ribonucléique Acide

**SAA** : Spectromètre d'Absorbtion Atomique

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau N°1</b>	Cycle de reproduction chez <i>la moule M. galloprovincias</i>	10
<b>Tableau N°2</b>	Distribution selon la taille de quelques espèces chimiques du cadmium dans les eaux naturelles (Cossa et Lassus, 1989).	16

**Liste des figures :**

<b>Figure N°1</b>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	4
<b>Figure N°2</b>	Cycle biologique des moules	9
<b>Figure N°3</b>	Morphologie externe d'une moule "vue du côté droit" (HIS et CANTIN, 1995)	10
<b>Figure N°4</b>	Anatomie interne et externe de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Khelil, 2007).	12
<b>Figure N°5</b>	Répartition géographique de la moule <i>M. galloprovincialis</i> dans le monde	13
<b>Figure N°6</b>	Localisation du site d'échantillonnage Chetaïbi par Satellite	14
<b>Figure N°7</b>	La structure chimique du cadmium	16
<b>Figure N°8</b>	La structure chimique du mercure	17
<b>Figure N°9</b>	Les aquariums d'élevage des moules	18
<b>Figure N°10</b>	Fixation des organes	21
<b>Figure N°11</b>	Déshydratation et Inclusion dans la paraffine	22
<b>Figure N°12</b>	Réalisation des coupes par le microtome	22
<b>Figure N°13</b>	Coloration des coupes	23
<b>Figure N°14</b>	Les coupes colorées	23
<b>Figure N°15</b>	Concentrations moyennes du Cd ( $\mu\text{g/g}$ de tissu sec) accumulés dans les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i>	26

<b>Figure N°16</b>	Concentrations moyennes du Cd ( $\mu\text{g/g}$ de tissu sec) accumulés dans les gonades mâles de <i>M. galloprovincialis</i> .	27
<b>Figure N°17</b>	Concentrations moyennes de l'Hg ( $\mu\text{g/g}$ de tissu sec) accumulés dans les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i> .	28
<b>Figure N°18</b>	Concentrations moyennes de l'Hg ( $\mu\text{g/g}$ de tissu sec) accumulés dans les gonades mâles de la moule <i>M. galloprovincialis</i> .	29
<b>Figure N°19</b>	Taux des vitéllogénines ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) dans les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i> traités par le cadmium	30
<b>Figure N°20</b>	Taux des vitéllogénines ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) dans les gonades femelles de <i>M. galloprovincialis</i> traités par le mercure.	31
<b>Figure N°21</b>	Coupes histologiques de la gonde mâle des moules témoins.	33
<b>Figure N°22</b>	Coupes histologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 1 $\mu\text{g/l}$ de Cd.	33
<b>Figure N°23</b>	Coupes histologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 2 de Cd.	33
<b>Figure N°24</b>	Coupes histologiques des gonades femelles des moules témoins.	34
<b>Figure N°25</b>	Coupes histologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 1 de Cd.	35

<b>Figure N°26</b>	Coupes histologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 2 de Cd.	35
<b>Figure N°27</b>	Coupes histologiques de la gonade male des moules traités avec la dose 1 de Hg.	36
<b>Figure N°28</b>	Coupes histologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 2 de Hg.	36
<b>Figure N°29</b>	Coupes histologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 1 de Hg	37
<b>Figure N°30</b>	Coupes histologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 2 de Hg.	37

# *Introduction*

### 1. Introduction :

Depuis la révolution industrielle, notre environnement ne cesse de se détériorer. En effet, les activités industrielles, urbaines, agricoles et routières, sans cesse croissantes, sont à l'origine de nombreuses modifications des écosystèmes. Ce changement de l'état naturel, dû aux différents polluants d'origine anthropique, pose de graves répercussions sur la santé humaine et environnementale (Miquel, 2001).

Les contaminants rejetés dans l'environnement finissent par se retrouver plus ou moins rapidement dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens et côtiers où ils peuvent avoir des effets à court et à long terme (Burton, 1992). Le milieu marin et plus particulièrement les zones côtières sont soumis à toutes sortes de pollutions d'origine terrigène et marine. En effet les pollutions anthropiques dues aux apports de substances chimiques par le vecteur des voies fluviales, des vents, de l'air en basse altitude ou des rejets directs, sont les principales sources de dysfonctionnement des écosystèmes marins. Les contaminants majeurs, dont certains sont également d'origine naturelle, sont regroupés en plusieurs familles : les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les chlorophénols, les polychlorobiphényles (PCBs), les hexachlorohexanes, les hexachlorobenzènes, les dioxines, les organoétains, les pesticides organophosphorés, les insecticides organophosphorés, les carbamates et les métaux lourds tels que le cadmium, le mercure, l'argent, le plomb, le zinc, le cuivre ou le fer (Vidal, 2001).

Le cadmium (Cd), l'un des métaux les plus toxiques, est un contaminant persistant qui s'accumule dans l'environnement. De grandes quantités de ce métal sont libérées chaque année dans les différents compartiments environnementaux et peuvent constituer une menace significative pour l'écosystème (Pacyna *et al.* 1995). Ces émissions de Cd proviennent de la combustion du charbon, ainsi que de l'incinération des huiles et des égouts (Nordberg, 1995), il est répandu dans l'environnement des estuaires et des côtes. Les sources anthropogènes du Cd dues à la pollution des estuaires, ont suscité beaucoup plus d'attention (Roesijadi, 1996). Cependant, les sources naturelles sont également très importantes et peuvent être liées à l'écoulement des fleuves dans les sols riches en Cd, du lessivage des roches ou du dépôt de diatomées en sédiment marin (Gesamp, 1987 ; Frew *et al.* 1997). La concentration élevée du Cd est extrêmement toxique aux organismes aquatiques et les niveaux sublétaux peuvent, de manière significative, affecter leur physiologie (Sokolova, 2004 ; Sokolova *et al.*, 2004).

Le mercure est le seul métal qui se bioaccumule à travers tous les niveaux des réseaux trophiques (Lawson et Mason, 1998 ; Blackmore et Wang, 2004). L'amplification est beaucoup plus efficace pour le  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  que pour l'Hg inorganique qui s'associe aux membranes

cellulaires et non dans le cytoplasme à partir duquel il est assimilé par les organismes prédateurs (Mason *et al*, 1996). Le mercure est utilisé par l'homme dans de multiples domaines. Il a été largement utilisé dans l'agriculture (pesticide), comme fongicide pour les papeteries et les industries de peinture, pour le traitement des minerais d'or et d'argent, dans l'industrie catalytique et l'électrolyse (Lindqvist, 1991).

La recherche environnementale, initiée dans les années 60, a révélé que beaucoup d'organismes peuvent accumuler certains toxiques entraînant des concentrations corporelles beaucoup plus élevées que celle présente dans leur environnement (Portmann, 1975). Les concentrations corporelles en contaminants peuvent être ultérieurement utilisées pour évaluer leur absorption par les organismes vivants et l'augmentation de la concentration d'un polluant depuis l'environnement vers l'organisme (bioaccumulation) où certains tissus vont avoir un rôle prépondérant, en séquestrant de façon préférentielle le polluant.

Plusieurs programmes de surveillances dans le monde utilisent «des espèces sentinelles» telle que les moules et les huîtres (programme américain- the Mussel Watch Project (Bayne, 1999) et dans le même esprit le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu (RNO) crée en France par l'IFREMER et le ministère de l'environnement en tant qu'indicateurs de contaminants dans les environnements marins et estuariens. Les espèces bioaccumulatrices retenues comme bioindicateurs sont en général des espèces sessiles, abondantes, relativement résistantes aux toxiques et d'une durée de vie suffisante ce qui leur confère une capacité d'intégration des variations de la qualité du milieu (Amiard *et al*, 1989).

Les mollusques, notamment les bivalves, sont des modèles biologiques très utilisés en écotoxicologie en tant que bioindicateurs de la pollution (Miller *et al*, 2000), car ils peuvent accumuler une quantité importante de polluants dans leurs tissus (Levingstone, 1993) par voie directe, via une contamination de la colonne d'eau ou par voie trophique, via l'ingestion des particules contaminées (algues, bactéries). A cet effet, ce sont d'excellents modèles représentatifs des écosystèmes qui reposent avant tout sur les capacités à interagir avec leur environnement aquatique et à concentrer les polluants en relation avec une forte tolérance (Boening, 1999; Beeby, 2001). En plus de leur intérêt dans l'étude de la contamination du système aquatique, les bivalves sont des espèces comestibles et constituent un excellent aliment facilement digestible, de haute valeur nutritionnelle (aliment hydrocalorique apportant des Acides aminés essentiels), riche en éléments minéraux et vitamines.

Dans le monde, la production des bivalves est plus importante que celle des crustacés ; elle occupe la deuxième place après celle des poissons et représente les  $\frac{3}{4}$  de la production des mollusques

La présente étude vise à évaluer en conditions contrôlées de laboratoire les effets reprotoxiques de deux éléments traces métalliques (cadmium et mercure) sur un organisme bioindicateur et bioaccumulateur de la pollution marine la moule *Mytilus galloprovincialis* après une durée d'exposition de 21 jours à (100 et 1000 $\mu$ g/l) notre travail a pour objectif :

D'analyser l'accumulation des deux métaux (cadmium et mercure) mesurables à l'état de traces au niveau des gonades mâles et femelles de *M. galloprovincialis*.

D'étudier les variations d'un biomarqueurs d'exposition et d'effet la vitellogénine au niveau des gonades femelles.

Cette étude a été compléter par une étude histopathologique au niveau des deux gonades pour vérifier l'impact tissulaire.

# *Matériel et Méthodes*

## 2. Matériel Et Méthodes

### 2.1 Matériel Biologique

#### 2.1.1 Présentation de l'espèce

La moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* est un mollusque bivalve qui possède une charnière munie d'une ou deux dents ; fréquemment une dans la valve gauche et deux dans la valve droite. Les muscles rétracteurs du pied et muscles rétracteur du byssus forment une empreinte médiadorsale sur la coquille, le muscle rétracteur postérieur du byssus à une empreinte bien visible et adjacente à celle de l'adducteur postérieur, l'intérieur des valves est nacré, blanc rosé (Figure. 2). Elle peut atteindre une longueur maximale de 18 cm. On la rencontre dans les substrats durs de l'étage infralittoral et jusqu'à 100 m de profondeur. *P. parna* est une espèce largement répandue dans le monde puisqu'on la rencontre dans le monde sur les côtes Est et Ouest de l'atlantique tropical et subtropical, en Amérique du Sud et sur les bords de la Méditerranée (Afrique du Nord : Algérie, Tunisie, Maroc).



**Figure 01 :** *Mytilus galloprovincialis*

**2.1.2 Position systématique :** La classification des Mollusques repose sur des critères anatomiques discriminant les grands axes taxonomiques, auxquels s'ajoute la distribution géographique. Le genre *Mytilus*, de la famille des Mytilidés (Pélicypodes) est principalement défini par la forme de la coquille, en particulier par son embout en position terminale. L'espèce *Mytilus galloprovincialis*, dite moule méditerranéenne (Lubet, 1959), est un Mollusque

bivalve, dont la biologie est parfaitement connue (Naciri, 1998 ; Narbonne *et al.*, 2005). La classification de la moule, *Mytilus galloprovincialis* s'établit comme suit (Turgeon *et al.*, 1998)

:

- Règne : Animal
- Sous-règne : Bilateria
- Phylum : Mollusca
- Classe : Bivalvia
- Sous-classe : Ptériomorphia
- Ordre : Mytiloida
- Famille : Mytilidae
- Genre : *Mytilus*
- Espèce : *galloprovincialis*

### **2.1.3. Biotope, Mode Alimentaire :**

#### **2.1.3. a) Biotope :**

La moule méditerranéenne est présente en groupes serrés le long du littoral, dans la Zone intertidale, souvent dans les eaux éclairées et battues, juste sous la surface. La limite supérieure correspond à la limite de dessiccation lors de l'émersion ; la limite inférieure dépend de la compétitivité avec d'autres espèces.

Elle vit fixée par son byssus aux substrats solides comme la roche ou d'autres supports, tels que les cordages, ou encore d'autres moules. C'est une espèce sessile. Elle supporte de rester hors de l'eau un certain temps car elle garde une réserve d'eau entre ses deux valves (Gosling, 1992). Selon Stellio. (2005), on distingue parmi les caractéristiques des moules :

- ✓ Capacité de bioaccumulation

La moule *M. galloprovincialis* accumule des métaux avec un facteur de concentration de  $10^3$  à  $10^5$ .

- ✓ Caractère intégrateur d'une espèce

La moule *M. galloprovincialis* a une espérance de vie relativement grande.

- ✓ Critère de représentativité

La moule *M. galloprovincialis* est sessile et subit des déplacements mineurs au cours de sa vie. Elle s'étend sur une large aire de distribution. Elle est résistante au stress pour être présente et permettre la surveillance des milieux les plus pollués, et elle est euryhaline.

- ✓ Faisabilité de la bio-surveillance

Elle a une taille suffisante et elle est en abondance (la collecte et le traitement des échantillons doit être facile).

- ✓ Leur consommation par l'homme, donc vecteur de contamination, facilite la collectées et la possibilité de les transplanter

### **2.1.3. b) Le mode alimentaire**

La *Mytilus galloprovincialis* est un animal microphage, cela signifie qu'elle se nourrit de petites particules en suspension dans l'eau de mer. Pour se nourrir, la moule filtre l'eau de mer à travers ses branchies et récupère les particules alimentaires qui y sont retenues. Ce sont les algues microscopiques, le phytoplancton, bactéries et débris organiques qui constituent l'essentiel de sa nourriture (Bouchard, 2004).

### **2.1.4. Cycle de développement d'un bivalve**

#### **2.1.4. a) Maturité**

L'âge des animaux ayant atteint la première maturité sexuelle est variable ; il dépend de la saison de fixation du naissain et des facteurs du milieu agissant sur la croissance et le métabolisme (nutrition, température, salinité, zonation, etc.). D'après les observations, cet âge se situerait entre 5 et 8 mois après la fixation, les animaux atteignant alors des tailles comprises entre 15 et 35 mm de longueur. Les individus fixés en automne peuvent être murs à la fin de l'hiver ou au printemps de l'année suivante (6 à 8 mois) ; ceux fixés au printemps au début de l'automne (5 à 6 mois). La taille atteinte par ces animaux au moment de la première maturité sexuelle est très variable ; elle est plus importante dans les stations infralittorales où l'apport nutritionnel est important. Une fois instaurée, l'activité sexuelle de l'animal durera toute sa vie, avec de brèves périodes de repos (stade 0) de 1 à 2 mois pendant lesquelles les gonades régressent fortement alors que la masse viscérale et le manteau sont envahis par des cellules de réserve renfermant lipides et glycogène.

Pendant le cycle sexuel annuel (Lubet, 1959), la gonade passe par des périodes de gamétogénèse intense aboutissant à la ponte ou à l'éjaculation puis après l'émission des gamètes, elle est à nouveau le siège de phénomènes de restauration pouvant aboutir après un temps minimum d'un mois à une nouvelle phase de maturité, Un même animal peut donc pondre plusieurs fois pendant son cycle sexuel

#### **2.1.4. b) Fécondation**

La fécondation est externe et se fait dans l'eau de mer. Toutefois, il est fréquent d'observer dans les moulières que beaucoup d'animaux libèrent leurs gamètes simultanément (Lubet, 1959). Dans ce cas, la fécondation peut avoir lieu dans la cavité palléale mais il n'y a jamais d'incubation des germes ou larves. Ce synchronisme dans l'émission des gamètes a été expliqué (Lubet, 1959) par l'action de stimuli externes qui déclencheraient l'éjaculation chez les mâles murs ; Le sperme actif semblerait sécréter ou véhiculer une substance qui stimulerait électivement la femelle mûre entraînant la ponte, ce qui faciliterait la fécondation. Il est difficile de dire si cette substance est réellement liée au sperme (Lubet, 1959) ou s'il ne s'agit pas d'une phéromone libérée en même temps que les gamètes.

#### **2.1.4. c) Gonades :**

Les gonades ne constituent pas un organe anatomiquement distinct chez les Mytilidés mais sont formées de tubules envahissant la masse viscérale et le manteau, il est donc impossible d'établir des relations entre leur poids et celui de l'animal, son âge ou sa longueur. Toutefois, il nous a paru important de préciser l'évolution histologique et cytologique de ces gonades grâce à laquelle nous avons pu établir une échelle de stades (Lubet, 1959).

##### **\*Stade 0 :**

Il correspond à la période de repos sexuel qui est très brève chez *Mytilus galloprovincialis*

##### **\*Stade I :**

Repérable chez les animaux accomplissant leur premier cycle sexuel et chez les moules ayant terminé la phase de repos sexuel (stade 0). Dans tous les cas, cette étape est très rapide et peut être caractérisée par l'aspect particulier du manteau, on observe chez les jeunes animaux la formation de tubules gonadiques qui envahissent la masse viscérale et le manteau (multiplication des gonocytes et des spermatocytes ou ovocytes) (Le Gall, 1971), chez les animaux ayant terminé la phase de repos sexuel, ce stade correspond à la restauration des tubules gonadiques qui redeviennent apparentes mais restent encore noyés dans le tissu de réserve inter-folliculaire

##### **\*Stade II :**

Il correspond à la phase de gamétogénèse intense (fin de l'été début de l'automne). On peut repérer dans la gonade mâle toutes les images cytologiques de la spermatogénèse et de la spermiogénèse (présence des différentes catégories cellulaires : spermatogonies, spermatocytes 1 et 2, spermatides et quelques rares spermatozoïdes non fonctionnels). Spermatides et

spermatozoïdes sont disposées en travées rayonnantes caractéristiques. Chez les femelles, toutes les étapes de l'ovogénèse sont présentes : ovogonies, jeunes ovocytes en prévitellogénèse au cytoplasme riche en R.N.A., ovocytes à différents degrés d'accroissement mais encore fortement enracinés sur la paroi du tubule. Il n'existe pas de cellules folliculaires. On observe également la réduction du tissu de réserve interfolliculaire (cellule adipo granuleuses et cellules vésiculeuses).

### **\*Stade III A-1 :**

Ovogénèse et spermatogénèse sont pratiquement terminées, les gonades ayant alors atteint leur état maximum de réplétion. Le poids des animaux est alors maximum ainsi que leur teneur en glucides, lipides et azote (Boucart et Lubet, 1963). Toutefois, ces animaux sont encore incapables de pondre ou d'éjaculer. Les tubules mâles renferment presque uniquement des spermatozoïdes non fonctionnels et quelques spermatogonies sur les parois ; les spermatozoïdes sont encore disposés en travées rayonnantes. Chez les femelles, à part quelques ovogonies et ovocytes en prévitellogénèse repérables sur les parois, toute la lumière du tubule est occupée par des ovocytes (50-60 micron) à contours polygonaux, fortement intriqués entre eux et bien enracinés sur la paroi.

### **\*Stade III A-2 :**

Ce stade "instable" (Lubet, 1959) est fondé sur des caractères cytologiques et physiologiques. Les animaux sont excitables et répondent par la ponte ou l'éjaculation aux stimuli externes. Cytologiquement, les tubules mâles sont caractérisés par une répartition homogène du sperme qui est actif dans l'eau de mer. Chez les femelles, les ovocytes ont perdu leur forme polygonale. Le contour de la vésicule germinative s'est estompé et le pédoncule est devenu très grêle. Tout se passe comme si la perméabilité cellulaire s'était modifiée permettant la turgescence des ovocytes.

### **\*Stade III B :**

"Spent". La ponte ou l'éjaculation peuvent être totales ou partielles. L'examen histologique montre un très grand nombre de tubules vides ne renfermant plus que des gamètes résiduels. Toutefois, les cellules germinales, les ovogonies ou spermatogonies commencent à se multiplier de façon importante. Le manteau est devenu très mince, les teneurs en glucides et lipides totaux minimales, les animaux sont alors très fragiles.

### **\*Stade III C :**

Il correspond à la restauration de la gonade après l'émission des gamètes. Les séquences de la gamétogénèse décrites pour le stade II se retrouvent avec les mêmes images cytologiques.

## Matériel et Méthodes

Toutefois ce stade diffère du stade II par la présence de tubules gonadiques de grande taille et l'absence ou l'extrême réduction des cellules de réserve intra tubulaires (cellules adipogranuleuses et cellules vésiculeuses à glycogène). Il se situe toujours après une phase de maturité, sans l'interruption due au repos sexuel. Chaque animal peut présenter au cours du cycle sexuel deux à quatre phases de restauration qui conduisent à une nouvelle maturité (stades III A-1 et A-2).

L'amplitude de la phase de restauration diminue vers le mois de mai, la quantité de gamètes produits devenant de plus en plus faible. Finalement, en juin ou juillet, le volume des tubules diminue considérablement, les espaces entre les tubules étant envahis par des amibocytes qui sont vraisemblablement à l'origine des cellules de réserve de type adipogranuleux.

Les cellules vésiculeuses se multiplient au cours du printemps et de l'été, leur cycle semblant indépendant de celui du cycle sexuel (Boucart et Lubet, 1963).

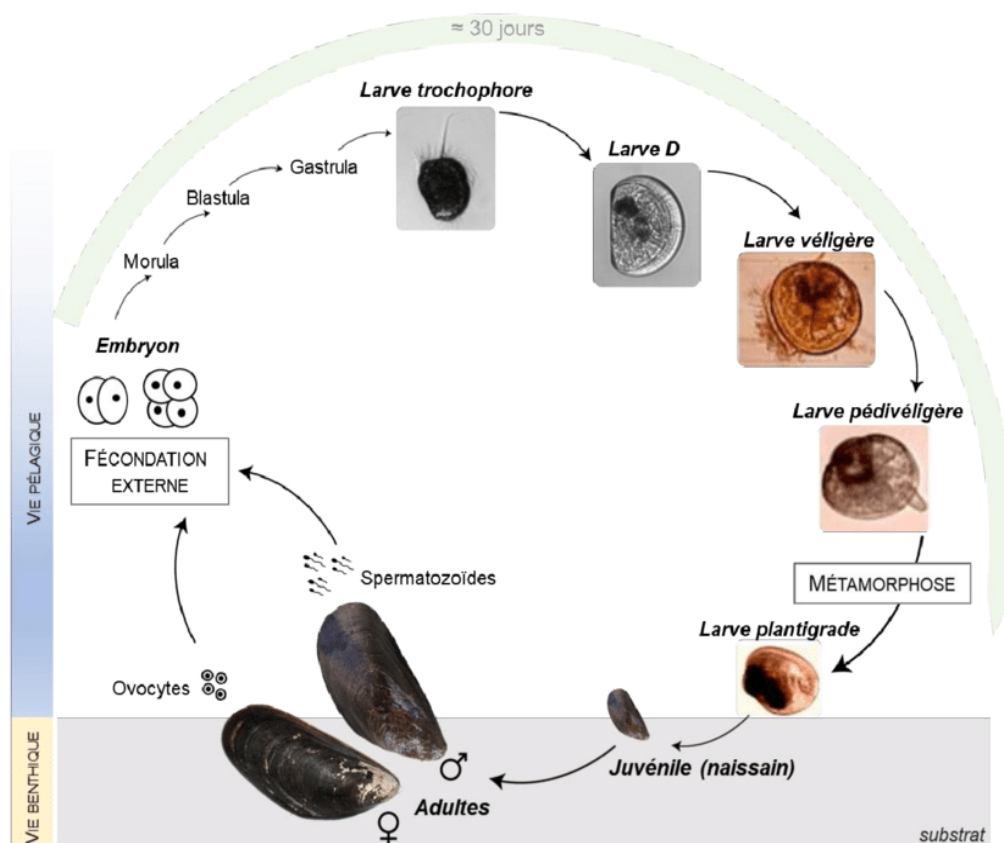


Figure 02 : Cycle biologique des moules

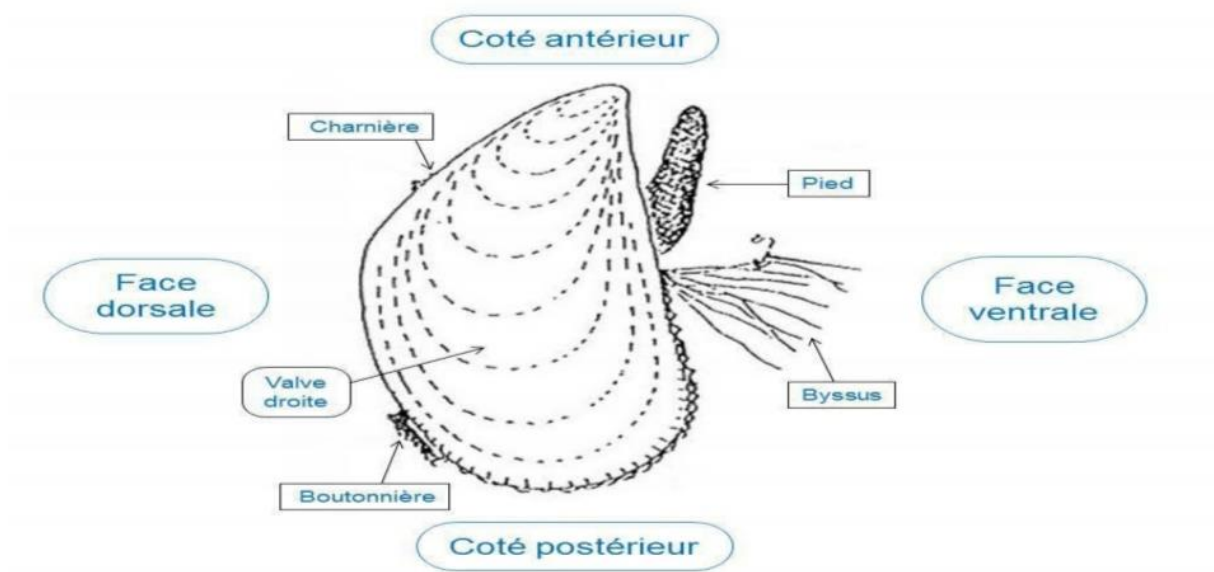
**Tableau 01** : Cycle de reproduction chez *la moule M. galloprovincias*

Stade	Phase
Stade 0	Le stade repos
Stade I	La gamétogénèse
Stade II	Les gamètes sont mures
Stade III a	Les gamètes sont mures
Stade III b	Début de ponte

### 1.2.5. Morphologie et Anatomie

#### 1.2.5. a) Morphologie

Les moules peuvent bouger grâce à leur pied. La glande abyssale sécrète les filaments du byssus qui permettent leur fixation aux substrats. Les branchies sont deux paires de grandes plaques composées par un grand nombre de filaments parallèles qui filtrent les particules de nourriture à partir de l'eau. Une moule de 5 cm de longueur peut filtrer 5 litres/heure. La digestion prend place dans la glande digestive (de couleur brun-vert) située dans le centre du corps. Les moules se nourrissent de phytoplanctons et de matière organique.



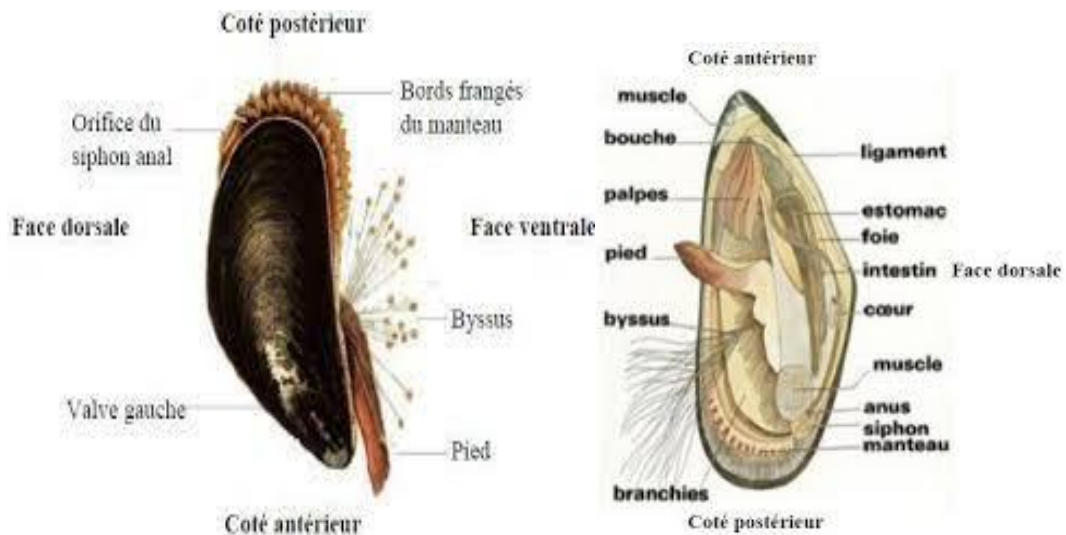
**Figure 03** : Morphologie externe d'une moule "vue du côté droit" (HIS et CANTIN, 1995)

### 1.2.5. b) Anatomie

L'anatomie et la fonction physiologique des différents organes de *Mytilus galloprovincialis* sont détaillées ci-dessous :

- **Coquille** : Les moules contiennent deux valves lisses ou coquilles extérieures protectrices (Fig.1), ces coquilles sont de couleur noire bleuâtre et sont maintenues ensemble par une petite charnière droite (Barhoumi, 2014), permettant la sauvegarde de la masse viscérale (Kamel, 2014).
- **Le pied et le byssus** : Le pied est inséré en avant de la bosse viscérale, il est comprimé latéralement et prend l'aspect d'un sac « soc de charrue ». Ces mouvements sont assurés par des muscles protracteurs et rétracteurs, pairs, antérieurs et postérieurs, qui s'insèrent symétriquement sur la face interne des valves de la coquille en avant des muscles adducteurs (Beaumont et Cassier, 2004). A sa base se trouve la glande du byssus qui synthétise des filaments (byssus) responsable de la fixation de la moule à son substrat. Une fois qu'ils sont sécrétés, les filaments se solidifient au contact de l'eau de mer (Kamel, 2014).
- **Les branchies** : Sont une caractéristique majeure des lamellibranches. Elles consistent de grands organes en feuillets opérant deux séries de phénomènes, la respiration et la filtration de la nourriture à partir de l'eau. Deux paires de branchies sont localisées sur chaque côté du corps (Kamel, 2014).
- **Le muscle** : La fermeture générale des valves est assurée par deux muscles adducteurs (antérieur et postérieur). Ces muscles sont antagonistes du ligament, qui grâce à son élasticité assure l'ouverture de la coquille (Kamel, 2014).
- **La glande digestive** : Cet organe est encore appelé hépatopancréas car il joue chez cet invertébré un rôle analogue au foie des Vertébrés, elle assure la digestion et l'absorption des aliments captés par les branchies (Pagliassoti, 1994).
- **Le manteau** : Il enveloppe tous les organes auxquels il est rattaché au niveau du muscle adducteur, de la masse viscérale et des branchies. Il est composé de deux lobes palléaux, il a plusieurs fonctions (Gagnaire, 2005) :
  - Sa fonction première est la sécrétion de la coquille.
  - Il assure également des fonctions sensorielles tactiles (terminaisons nerveuses) et visuelles (ocelles et osphradies).

- Il intervient également dans la nutrition, en participant, au premier tri des particules extérieures.
- Il participe au stockage de matériaux de réserve (lipides, glycogène), à la fonction respiratoire, à la dissémination des gamètes et à la défense par la formation de mucus.
- Il représente l'une des premières barrières à l'agression par des facteurs externes.



**Figure 04 :** Anatomie interne et externe de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Khelil, 2007).

- **L'hémolymphe :** C'est l'équivalent du plasma des Vertébrés. Chez la moule, ce compartiment correspond essentiellement du point de vue de sa composition saline à l'eau de mer environnante (Lubet, 1969). Il contient aussi quelques protéines et des lipides, circulant sous forme de globules ou de vésicules (Martin *et al.*, 1970)
- **Les hémocytes :** Ce sont les cellules circulant dans l'hémolymphe et présentant des caractéristiques de certains leucocytes des Vertébrés. Ce sont des cellules totipotentes,

### 2.1.5. c) Respiration

La respiration se fait par l'intermédiaire des branchies chez les mollusques vivant dans les eaux douces ou salées. Pour les Lamellibranches, les branchies se présentent sous la forme de deux lames placées de chaque côté du corps ; en arrière se trouve deux tubes nommés siphons, dont l'un est destiné à amener aux branchies l'eau nécessaires à la respiration et l'autre à rejeter le liquide aspiré.

Lorsque la moule est dans l'air, sa coquille reste en permanence fermée mais lorsqu'elle est dans l'eau, sa coquille reste en permanence entrouverte. Dans l'eau, les moules respirent avec deux paires de branchies qui portent de très nombreux cils. Les battements permanents de ces

cils créent constamment un courant d'eau à l'intérieur de la coquille. Ainsi, les branchies peuvent absorber le dioxygène contenu dans l'eau (Kantin et pergent-martini, 2007)

### **2.1.6 Répartition géographique**

La nutrition est un paramètre important dans la répartition des moules qui prolifèrent généralement dans les zones riches en phytoplancton, en matières organiques dissoutes ou en suspension et en bactéries (Lubet, 1973).

La moule *Mytilus galloprovincialis* est trouvée dans toute la zone méditerranéenne, avec également des populations sur le littoral de l'Afrique australe ; de la frontière namibienne à Port Alfred (Branch *et al.*, 2005). C'est une espèce très abondante qu'on trouve en Mer Noire, en mer Adriatique, en Méditerranée septentrionale et méridionale. Elle se rencontre également en Manche occidentale et en Atlantique. En Tunisie, elle occupe la façade nord du pays depuis Tabarka jusqu'à la pointe du cap - Bon qui semble marquer la limite orientale de son aire de distribution (Dellali, 2001).



**Figure 05 :** Répartition géographique de la moule *M. galloprovincialis* dans le monde

### **2.1.7. Ecologie**

La moule méditerranéenne est répandue sur les côtes espagnoles, françaises et italiennes. C'est d'ailleurs sa zone d'origine, à laquelle il convient d'ajouter les côtes adriatiques et la mer Noire.

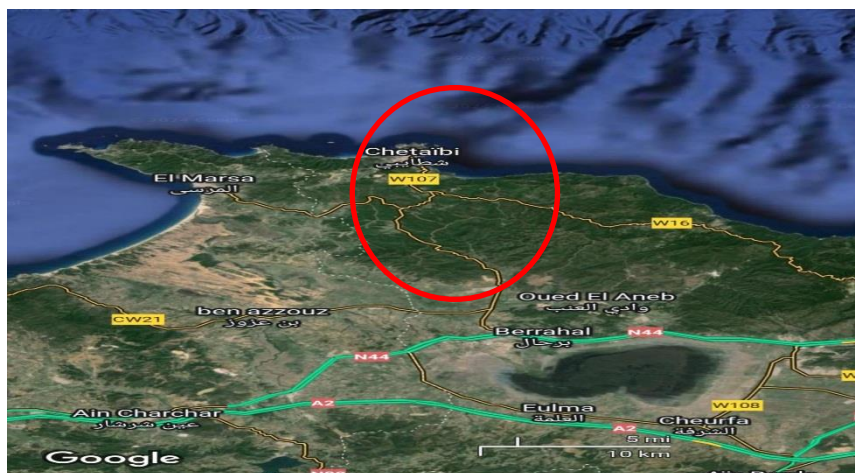
En Atlantique, on la retrouve le long du Portugal, de l'Espagne et de la France jusqu'en Bretagne, ainsi qu'autour des îles Britanniques. Elle est aussi signalée aux Pays-Bas, en Wadden See.

Elle a également colonisé, volontairement ou non (transportée par les eaux de ballast et coques des bateaux), de nombreuses autres côtes : la côte atlantique de l'Afrique du Sud (1980), les côtes pacifique et atlantique de l'Amérique du Nord. Elle est alors considérée comme une espèce invasive : elle est en effet beaucoup plus robuste que les espèces indigènes (très résistante à l'émersion).

Elle est également élevée en Chine et au Japon., ainsi elles supportent des températures de 13°C en hiver et entre 27 et 28°C en été et des salinités comprises entre 7 et 40 ‰ (Lubet et Chappuis, 1966).

### 2.1.8. Localisation et présentation du site d'échantillonnage

Le site d'échantillonnage choisi (37° 04,60 N : 07° 23,46'E) est situé en mer ouverte dans la baie de Chetaïbi, sur la côte Nord-est du cap Tekouche, le long des calanques (figure. 6). Il est également accessible par un sentier qui débouche directement sur le port du village. A Chetaïbi, la population locale est de l'ordre de 15000 habitants et se concentre dans le village Jouxant le port de pêche artisanale, le commerce et une agriculture et un élevage de subsistance. Le relief très accidenté d'origine volcanique est recouvert de maquis et massifs forestiers très denses où l'on retrouve quelques parcelles agricoles. Aucune activité industrielle n'est présente dans la commune.



**Figure 06** : Localisation du site d'échantillonnage Chetaïbi par Satellite (Google, 2024)

## 2.2. Matériel Chimique

### 2.2.1. Présentation des deux xénobiotique

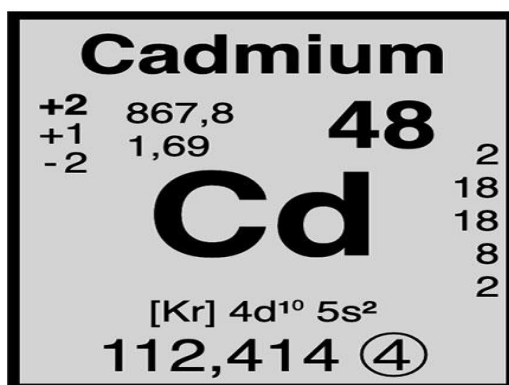
#### 2.2.1. a) Le cadmium

\* **Propriétés fondamentales** : Le cadmium a une grande résistance à la corrosion ; son point de fusion est bas ; il a une bonne conductivité de l'électricité ; ses produits dérivés ont une bonne résistance aux fortes températures ; il présente des caractéristiques chimiques proches de celles du calcium, en particulier le rayon ionique, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes (Borchardt, 1985). Le cadmium est un élément rencontré en milieu aquatique sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale, particulaire) et chimiques (minérale ou organique). Un ensemble de variables physicochimiques du milieu (salinité, pH, potentiel redox, caractéristiques sédimentologiques, nature géochimique des particules, concentration en chlorures) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement (Gonzalez *et al.*, 1999 ; Chiffolleau *et al.*, 2001). La distinction entre les trois formes dissoutes, colloïdales et particulières (Tableau 1.5) se fait par filtration et ultrafiltration, dont les seuils sont fixés arbitrairement en fonction de leur taille :

- **les formes dissoutes** : (< 1 nm) de cet élément en milieu aquatique sont des espèces libres ( $Cd^{2+}$ ) et formées par des associations (complexation) de cadmium avec des composés (ligands ou complexant) minéraux ou organiques. Contrairement au mercure, l'ion libre du cadmium se trouve majoritairement dans le milieu. Ainsi, à pH=8, la quasi-totalité du cadmium est présent sous forme  $Cd^{2+}$ . Plus la salinité augmente, plus la concentration en  $Cd^{2+}$  diminue (Campbell, 1995). Pour des pH supérieurs à 8, le cadmium précipite avec les carbonates. En zone côtière, lors du mélange des eaux douces avec l'eau de mer, le cadmium forme des complexes très stables avec les chlorures : les chlorocomplexes ( $CdCl_2$ ,  $CdCl^+$ ,  $CdCl_3^-$  et  $CdCl_4^{2-}$ ). Pour des salinités faibles, c'est l'espèce  $CdCl^+$  qui domine, alors qu'en milieu marin, c'est  $CdCl_2$  qui est majoritaire (Cossa et Lassus, 1989).

- **les formes colloïdales** : (de 450 à 1 nm) lorsqu'il se fixe à des oxydes de fer, de manganèse, des hydroxydes, des carbonates, des argiles ou de la matière organique colloïdale.

- **les formes particulières** : (> 0,45  $\mu m$ ) se font par intégration du cadmium dans la structure cristalline de minéraux détritiques (bruit de fond géochimique), par liaison à une fraction d'origine organique (carbonates, restes d'organismes, pelotes fécales), par précipitation avec différents fractions minérales (carbonates, phosphates, oxydes et hydroxydes de fer ou de manganèse, sulfures) et par adsorption sur des phases de différentes natures (argiles, matière organique, oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse)(Gonzalez *et al.*, 1999)



**Figure 07 :** La structure chimique du cadmium

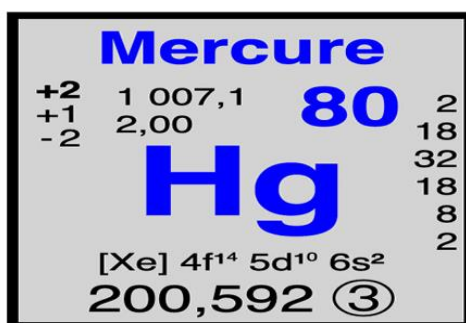
**Tableau 2 :** Distribution selon la taille de quelques espèces chimiques du cadmium dans les eaux naturelles (Cossa et Lassus, 1989).

Solution vraie	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Ions libres</li> <li>-Complexes inorganiques</li> <li>-Complexes organiques Ex : Cd<sup>2+</sup>, CdCl<sup>+</sup></li> </ul>
Colloïdes	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Complexes inorganiques</li> <li>-Complexes organiques Ex : Cd<sup>2+</sup>, CdCl<sup>+</sup></li> <li>-Métal adsorbé Ex : CdCO<sub>3</sub>, CdS, Cd-Ac. Humiques, Cd adsorbé sur des hydroxydes</li> </ul>
Particulaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Précipités inorganiques et organiques</li> <li>-Organismes vivants</li> <li>Ex : Cd adsorbé sur particules, Cd adsorbé par les organismes</li> </ul>

### 2.2.1 b) Le mercure

#### \*Propriétés fondamentales physiques, chimiques et biologiques

Le mercure est un métal dont la dynamique dans l'environnement est conditionnée par trois propriétés fondamentales : physique, par sa volatilité à température ambiante ; chimique, par la stabilité de ses liaisons avec le carbone et le soufre ; et biologique par sa très forte bioconcentration et sa toxicité. Son cycle biogéochimique fait intervenir des conversions d'espèces chimiques (Tableau 1.4) qui se traduisent par des changements de phase (liquide, solide, gaz) et, en conséquence des comportements très différents dans l'environnement. Les composés du mercure se divisent en deux classes chimiques principales : le mercure inorganique (incluant le mercure élémentaire) et le mercure organique (incluant le méthylmercure).



**Figure 08** : La structure chimique du mercure

### 2.3. Récolte et traitement des échantillons

#### 2.3.1. Technique d'échantillonnage

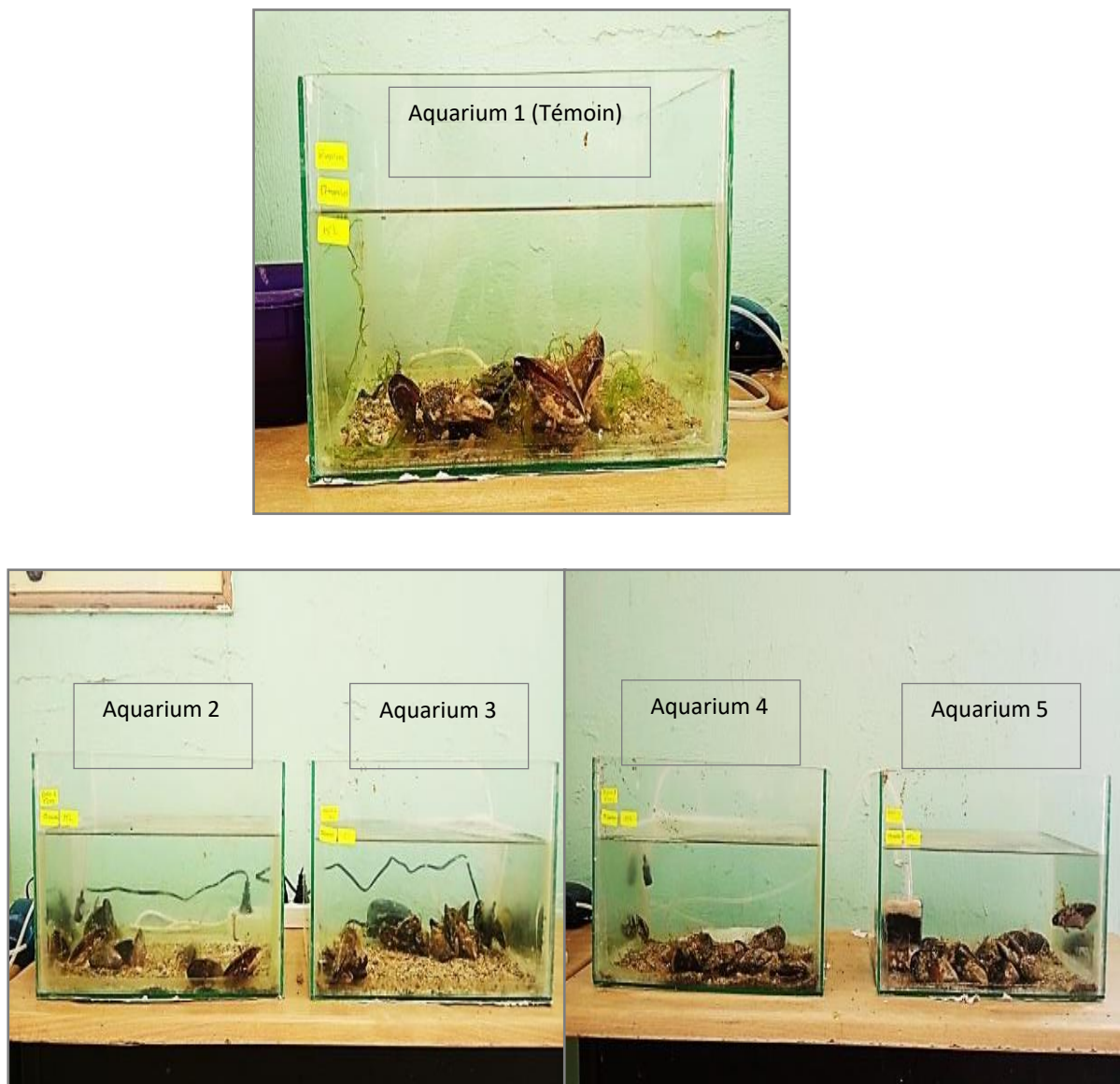
Dans le cadre de notre étude les moules récoltés proviennent d'une ferme marine au niveau de la plage de Chétiabi, spécialisée en aquaculture (concerne l'élevage des poissons, mollusque maritime crustacés, culture des algues...). Les moules utilisées sont de taille adulte variées entre 6 à 8cm, l'échantillonnage a été réalisé au Printemps (au mois de Mars 2023), la collecte est effectuée à la main par des plongeurs de 1 à 10 mètres de profondeur à partir des substrats rocheux sur lesquels les moules sont fixées, 90 moules du genre *Mytilus galloprovincialis* étaient transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire de l'université. Pour cette étude la condition pour laquelle le prélèvement des échantillons est reposé; que la zone choisie est non polluée et non contaminée par les métaux lourds ou d'autres substances

toxique, et les échantillons doivent être collectées de manière à minimiser les perturbations de cette espèce étudiée.

### **2.3.2 Protocole de contamination des moules**

Les moules *M. galloprovincialis* ont été pêchés, acclimatés dans l'eau de mer pendant 15 jours. Dans 5 aquariums (23.5 cm- 40cm -29cm<sup>3</sup>), 25 moules ont été placées dans 20L d'eau de mer à une température qui varie entre (20-22°C). Les moules sont soumises à une photopériode de 12h r/12h et une salinité de l'eau de 37 psu. L'oxygénation de l'eau est assurée par des pompes à oxygène.

Les moules ont été traitées simultanément par une solution de chlorure de cadmium et de mercure (CdCl<sub>2</sub> et HgCl<sub>2</sub>) additionnée dans l'eau d'élevage à 100 et 1000 µg/l durant 21 jours. Pour le traitement par le Cd et Hg, l'eau de mer et les polluants ont été renouvelés une fois par semaine, pour assurer l'apport nutritionnel des individus. Les témoins ont été élevés dans les mêmes conditions



**Figure 09** : Les aquariums d'élevage des moules sous des conditions contrôlées (photo personnelle 2024)

### **a) Suivis des moules**

On surveille les moules pendant la période de contamination en enregistrant le nombre de mortalité ou s'il y a un changement de comportements de ces moules.

### **2.4. Dissection et prélèvement des organes**

A l'issue de l'expérience et après la dissection trois groupes de bivalves ont été constitués : un premier groupe (n=4) (gonades femelles) ont été prélevés et vont servir aux dosages des vitéllogénines, un deuxième groupe (n=3 par organe), servira au analyses des métaux lourds (cadmium et mercure). Et un troisième groupe (n=2 par organe) destinés aux analyses histologiques.

### **2.5. Paramètres étudiés**

#### **2.5.1. Extraction et dosage des vitéllogénines**

L'extraction des vitéllogénines est réalisée selon les méthodes de Descamps, 1996 in Faber *et al.* 1990. Il en résulte trois couches distinctes, une couche de surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitéllogénines. Les échantillons sont extraits dans une solution mère de Tris -Hcl. Consistent à diluer 3,02 g de tris (0,5 M) dans 300 ml d'eau distillée. Pour réaliser le tampon complet : diluer 2,9 Na cl (0,5 M) dans 10 ml de la solution mère de Tris-Hcl compléter à 100 ml d'eau distillée. Le dosage des vitéllogénines s'effectue avec un réactif de bleu brillant de coomassie (BBC). Le dosage est réalisé comme suit: prendre 100 ml de la couche intermédiaire obtenu après centrifugation, y additionner 4ml de BBC, bien agiter puis passer à la lecture des densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme. Les résultats sont exprimés en µg/mg de tissu.

### **2.6. Analyse des métaux**

#### **2.6.1. Le séchage**

Les parties ainsi prélevées (gonades mâles et femelles) sont étalées sur des boites de Pétris et placées dans une étuve à une température de 80°C pour le séchage pendant 24h le poids de chaque échantillon est noté (précision 0.001)

#### **2.6.2. Le broyage**

Une fois séchés, les échantillons sont finement broyés à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine dans le but de l'homogénéisation.

### **2.6 3. La minéralisation**

La minéralisation est une étape importante pour la détermination elle permet une destruction de la matière organique.

L'étape de minéralisation est réalisée avec la méthode «attaque à acide chaud» en utilisant les trois acides suivants : l'acide nitrique HNO<sub>3</sub>, l'HCl et l'acide sulfurique 65%. Dans un flacon on prélève 1g de matière organique broyée, pour chaque réplique, on ajoute 4 ml d'HNO<sub>3</sub>, on laisse le mélange dans une température ambiante tout la nuit, ensuite le lendemain on les places dans une étuve à une température de 90°C pendant une durée de trois heures.

Les minéralisats sont ensuite filtré avec du papier filtre Wattman. Et on met chaque dose dans un tube à Essai jusqu'à l'analyse.

Tous les échantillons minéralisées et filtrés sont transférés dans des flacons en verre puis transportés jusqu'au laboratoire de chimie industriel GNL Sonatrach Skikda ou le dosage des métaux étudié (**Cd, Hg**) est effectué par la spectrométrie d'absorption atomique (**SAA**).

#### **2.6.4 Dosage des métaux traces**

##### **▪ La Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA)**

La spectrophotométrie d'absorption atomique est une technique d'analyse quantitative fondée sur le phénomène d'absorption de radiations lumineuses par des atomes libres. Elle est largement appliquée et recommandée pour l'analyse des métaux traces (**AIEA, 2001**). Elle permet la détection de faibles teneurs en métaux éléments et éléments minéraux en solution.

##### **▪ Principe**

Proposé par **WALCH en 1995**, la spectrophotométrie d'absorption atomique (**S.A.A.**) est une méthode d'analyse quantitative s'adressant essentiellement aux métaux lourds. Elle est basée sur la propriété des atomes de l'élément à doser, qui peuvent absorber des radiations de longueurs d'ondes déterminées. La solution de l'élément à analyser est nébulisée dans une flamme, ce qui provoque successivement, l'évaporation du solvant, la vaporisation de l'élément sous forme de combinaison chimique, et enfin, la dissociation de ces combinaisons avec production d'atomes libres à l'état fondamental.

### ▪ Etalonnage

La S.A.A est une méthode expérimentale qui exige l'étalonnage de l'appareil, avec de solutions standards de concentration connus. Pour notre cas, on a utilisé la méthode qui consiste à mesurer la concentration d'un élément dans un échantillon, et cela par comparaison directe avec des teneurs connues du même élément. L'appareil est étalonné à partir de la solution standard contenant des teneurs connues du métal.

### 2.7. Analyse histologique

Les coupes histologiques sont réalisées au niveau de service d'anapathie selon les étapes suivantes :

#### ❖ La fixation des organes

A pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Le liquide fixateur le plus utilisé est le formol.

La durée de la fixation variée selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique).pour notre fragment la fixation reste 48h.



**Figure 10 :** Fixation des organes (photo personnelle 2024).

#### ❖ L'inclusion

A pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.



**Figure 11 :** Déshydratation et Inclusion dans la paraffine (photos personnelle 2024).

❖ **Les coupes**

Des blocs de paraffine sont faits avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames en verre.



**Figure 12 :** Réalisation des coupes par le microtome (photo personnelle 2024).

❖ **Coloration :**

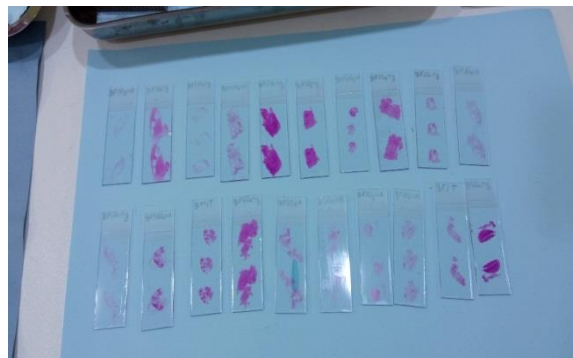
Réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée. Les colorations les plus fréquemment utilisées associent deux ou trois colorants différents : l'Hématoxyline-Eosine (H.E.) associe l'hématéine qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose.



**Figure 13 :** Coloration des coupes (photos personnelle 2024).

❖ **Le montage :**

Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une «préparation microscopique » simplement appelée lame dans le langage courant prêt à être observée au microscope.



**Figure 14 :** Les coupes colorées (photo personnelle 2024).

❖ **Observation microscopique**

L'observation des coupes histologiques des gonades mâles et femelles se fait avec un microscope optique (OPTIKA), au niveau de laboratoire de l'université de Skikda.

### **2.8. Analyse statistique**

Les moyennes et les écarts type ( $m \pm s$ ), avec un niveau significatif de  $p \leq 0,05$ , sont calculés pour chaque groupe d'expérience. Le test 't' de Student permis de mettre en évidence les différences entre les groupes étudiés au cours des tests effectués sur les l'évolution de la vitellogénine et la bioaccumulation des deux métaux (Cd et Hg) et pour les deux sexes.

Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement des données version 19 (Dagnelie, 1999).

# *Résultats*

3. Résultats :

3.1. Bioaccumulation de cadmium chez *M. galloprovincialis*

Au niveau des gonades femelles

La Figure 1 montre l'évolution des concentrations de Cd au niveau des gonades femelles de la moule *M. galloprovincialis* au cours d'un traitement de 21 jours. Chez les individus traités, les concentrations du Cd au niveau des gonades tendent à augmenter de manière dose-dépendante, Les tests statistiques de dosage de Cd montrent qu'il existe une différence significative ( $P < 0,05$ ) pour les traites par la dose 01 et hautement significative ( $P < 0,01$ ) chez la traites par la dose 02 comparativement aux Témoins.

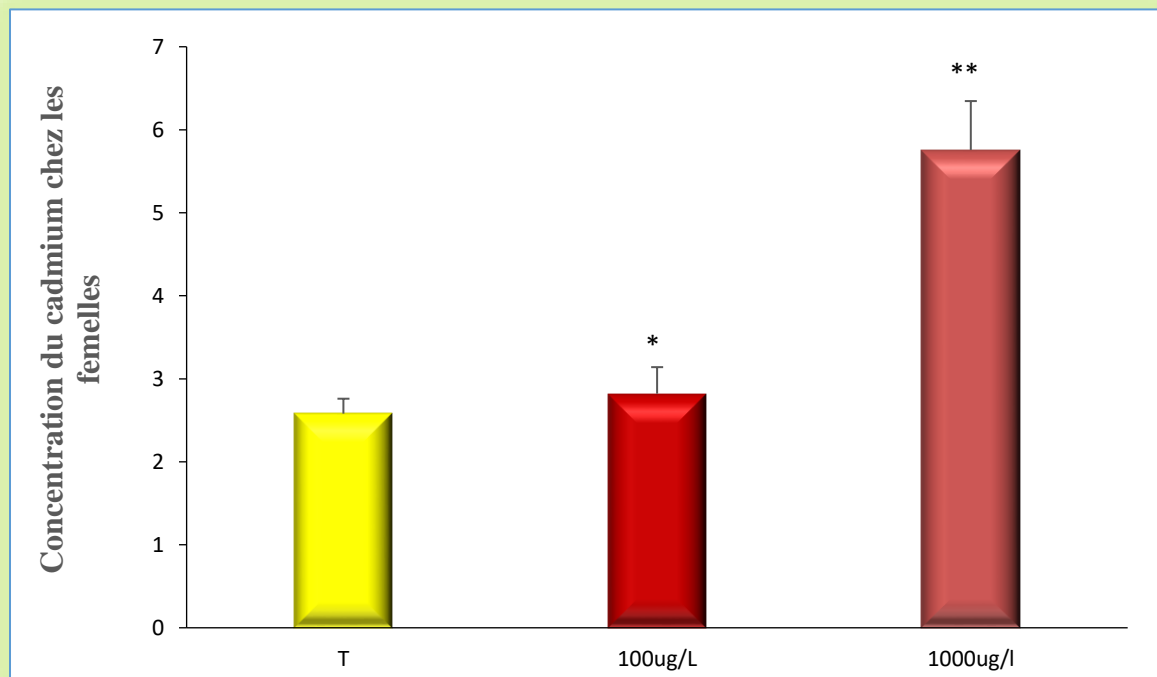
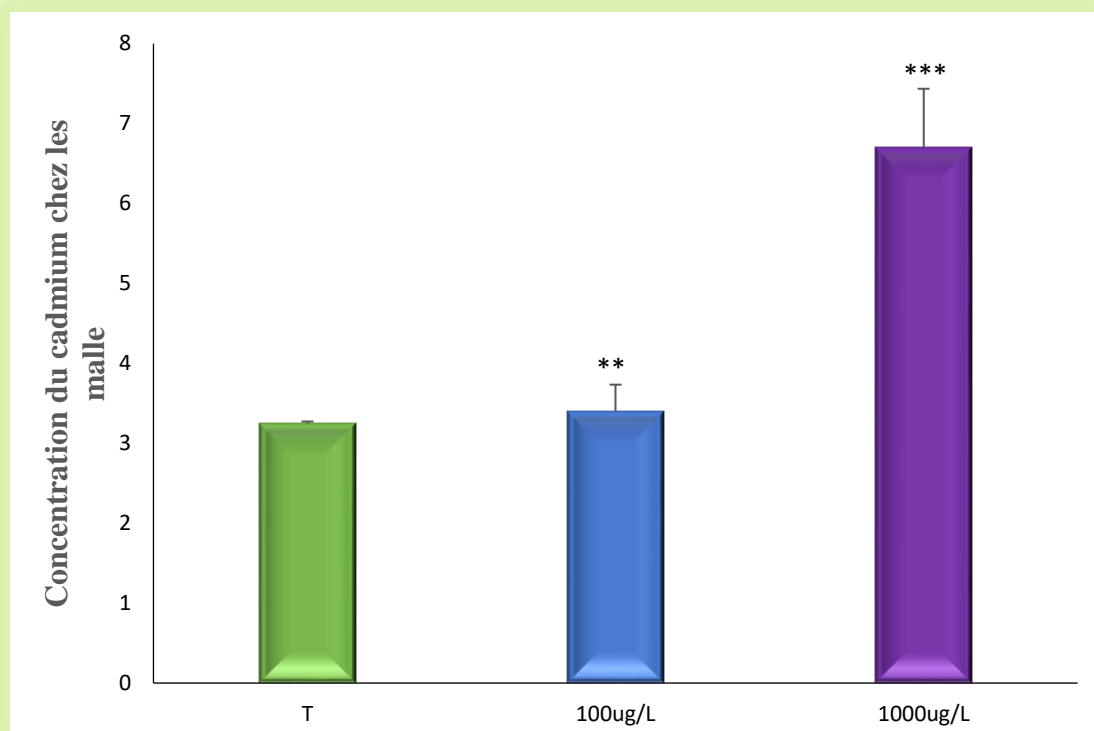


Figure 15 : Concentrations moyennes du Cd ( $\mu\text{g/g}$  de tissu sec) accumulés dans les gonades femelles de *M. galloprovincialis*

### Au niveau des gonades mâles

Les teneurs en cadmium au niveau des gonades mâles montre une augmentation hautement significative ( $P < 0,01$ ) chez les traites par la dose 1 et très hautement significative chez les traites par la dose 2 ( $P < 0,001$ ) comparativement aux moules témoins.

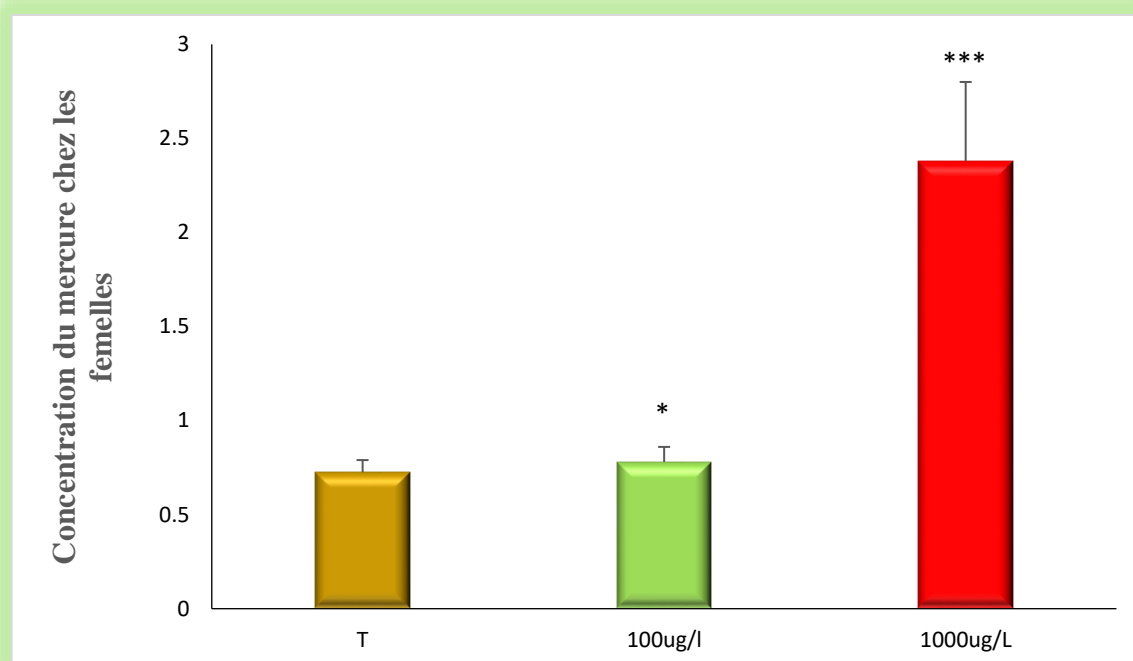


**Figure 16 :** Concentrations moyennes du Cd ( $\mu\text{g/g}$  de tissu sec) accumulés dans les gonades mâles de *M. galloprovincialis*.

### 3.2. Bioaccumulation de mercure chez *M. galloprovincialis*

#### Au niveau des gonades femelles

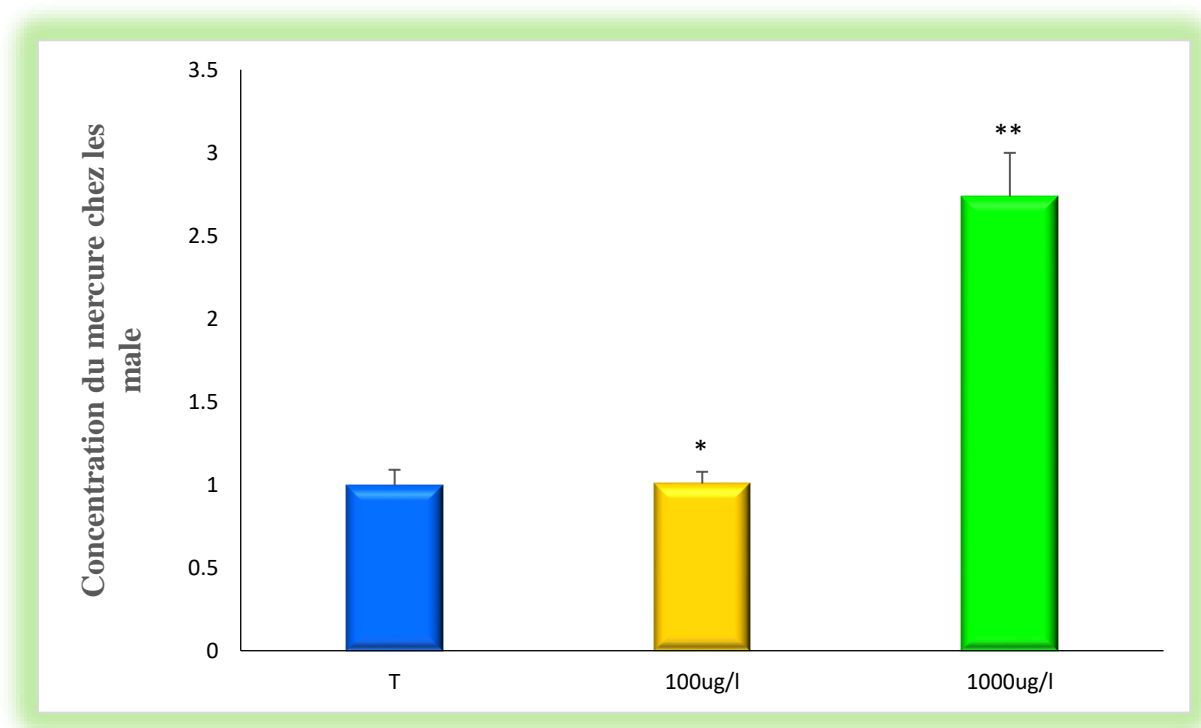
La bioaccumulation de mercure au niveau des gonades femelles de la moule *M. galloprovincialis* montrent une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) chez les traités par la dose 1 et très hautement significative chez les traités par la dose 2 comparativement aux témoins.



**Figure 17 :** Concentrations moyennes d'Hg ( $\mu\text{g/g}$  de tissu sec) accumulés dans les gonades femelles de *M. galloprovincialis*.

### Au niveau des gonades mâles

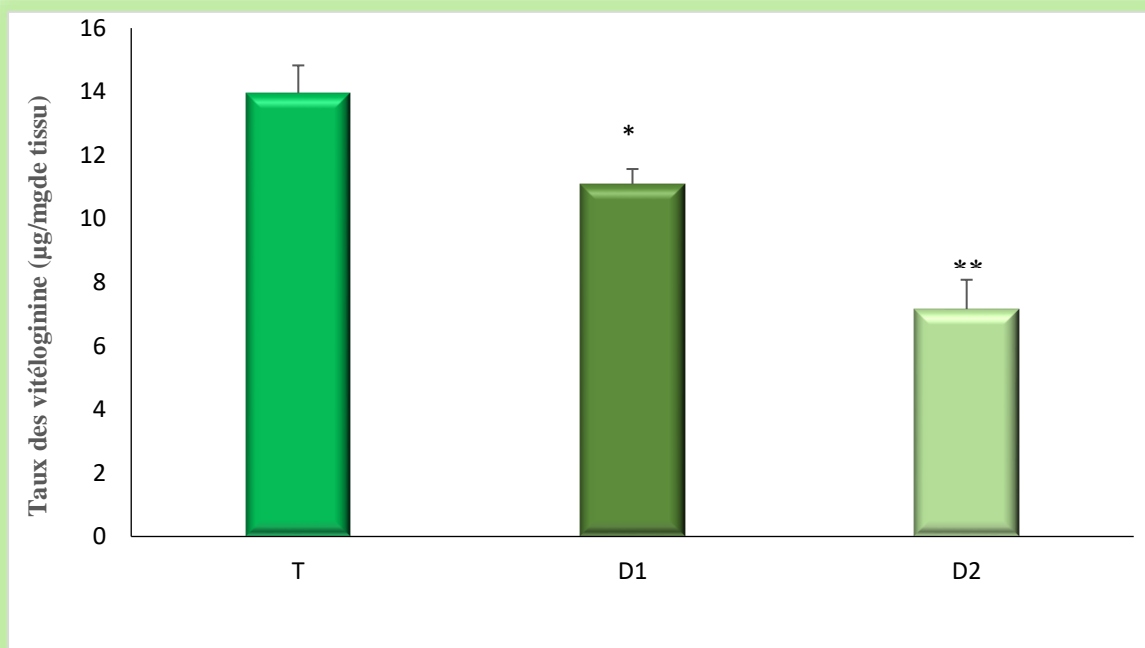
La bioaccumulation de mercure au niveau des gonades mâles montre une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) chez traites par la dose 01 et hautement significative ( $P < 0,01$ ) chez les traites par la dose 02 comparaison aux témoins.



**Figure 18 :** Concentrations moyennes d'Hg ( $\mu\text{g/g}$  de tissu sec) accumulés dans les gonades mâles de *M. galloprovincialis*.

### 3.3. Effet du cadmium sur le taux de la vitellogénine chez les femelles de *M. galloprovincialis*

Le taux de vitellogénine déterminé dans les gonades des adultes femelles de *M. galloprovincialis* témoins et traités avec le cadmium sont représentés dans la figure (19). La comparaison avec le test t de student des valeurs moyennes de la vitellogénine révéla une diminution significative ( $P < 0,05$ ) chez les traités par la dose 01 et hautement significative ( $P < 0,01$ ) chez les traités par la dose 02 comparativement aux témoins.



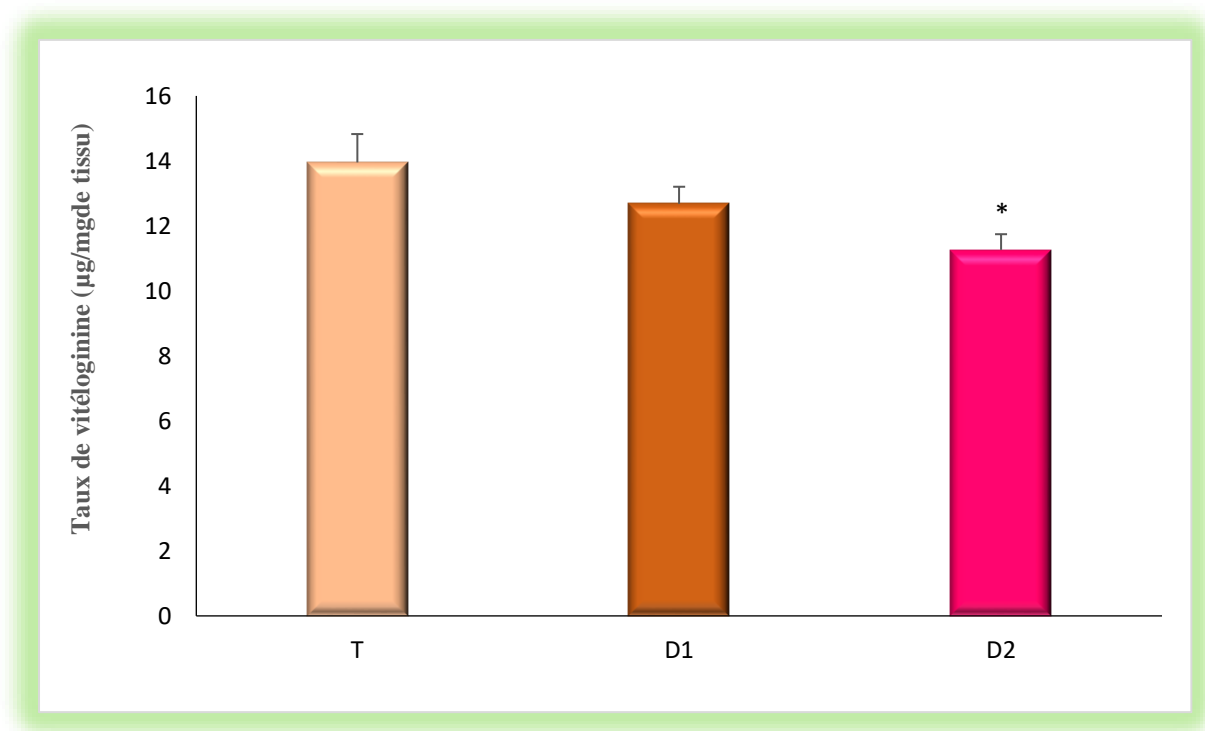
**Figure 19** : Taux des vitellogénines ( $\mu\text{g} / \text{mg}$  de tissu) dans les gonades femelles de *M. galloprovincialis* traités par le cadmium.

### 3.4. Effet du mercure sur le taux de vitellogénine chez les femelles de *M.*

#### *galloprovincialis*

Le taux de vitellogénine déterminé dans les gonades des adultes femelles de *M. galloprovincialis* témoins et traités avec le mercure sont représentés dans la figure (20).

L'évolution des teneurs en vitellogénine révèlent une diminution non significative chez les traités par la dose 01 ( $P=0,200$ ) et une diminution significative ( $P=0,033$ ) chez traités par la dose 02 comparativement aux témoins,



**Figure 20 :** Taux des vitellogénines ( $\mu\text{g} / \text{mg}$  de tissu) dans les gonades femelles de *M. galloprovincialis* traités par le mercure.

### 3.5. Etude histopathologiques des gonades

#### 3.5.1. Observation des coupes histologiques de la gonade mâle témoin

Une section histologique au niveau des gonades chez la moule *Mytilus galloprovincialis* du groupe témoin est illustrée dans la figure. Cette coupe montre que le tissu de la gonade est constitué essentiellement de tubules séminifères organisés en fiscaux. Chaque tubule est entouré par une membrane basale et composé de deux types cellulaires : les cellules germinales ont différents stades de développement et les cellules de réserves (nourricières). Les cellules germinales se retrouvent à l'intérieur des tubules spermatiques, où se déroule la spermatogenèse caractérisée par six types cellulaires : les cellules souches, les spermatogonies, les spermatocytes primaires, les spermatides et les spermatozoïdes. Autour de ces cellules on trouve le tissu conjonctif qui joue un rôle important dans le soutien structurel des organes reproducteurs, il est composé de différents types de cellules spécialisées ; telles que les fibroblastes qui sont responsables de la production des fibres de collagène et d'élastine, et les cellules immunitaires qui jouent un rôle dans la réponse inflammatoire et la protection des tissus.

#### 3.5.2. Observation des coupes histologiques de la gonade femelle témoin

La gonade femelle de la moule *Mytilus galloprovincialis* est une structure plus volumineuse que la gonade mâle. Elle est de couleur orange ou rose et est située dans la partie antérieure du corps. Elle est constituée de nombreux follicules ovariens, qui sont des structures sphériques dans lesquelles se développent les ovules. Les ovules sont les cellules reproductrices femelles des moules.

Les follicules ovariens sont entourés d'un tissu conjonctif lâche et de l'hémolymphe. Ils sont tapissés d'une couche de cellules folliculaires, dont la fonction est de nourrir et de protéger les ovules. Les ovules mûrs sont libérés dans la cavité du manteau par un processus appelé ovulation.

#### 3.5.3. Effet du cadmium sur les gonades mâles

L'examen microscopique des coupes histologiques des moules traités par le cadmium et le mercure pendant 21 jours avec deux doses (100 et 1000 µg/) révèle plusieurs altérations au niveau des tissus, par des degrés variables avec un effet dose dépendant. Les observations sont les suivantes

A La dose (100 ug/l) la figure (22) montre un discret œdème, observer dans les espaces interstitiels des tissus gonadiques (l'espace entre les tubules séminifères), caractérisé par une accumulation significative du volume de liquides dans les tissus ce qui entraine un gonflement localisé, cela présente un signe d'une réponse inflammatoire légère on a noté aussi une diminution de la taille des gonades et par conséquent la diminution des nombres des spermatozoïdes. A La dose (1000 ug/l) la figure (23) les mêmes changements ont été

Observés, accompagnés par un atrophie bien visible, une destruction du tissu conjonctif, des nécroses et quelques infiltrats inflammatoire

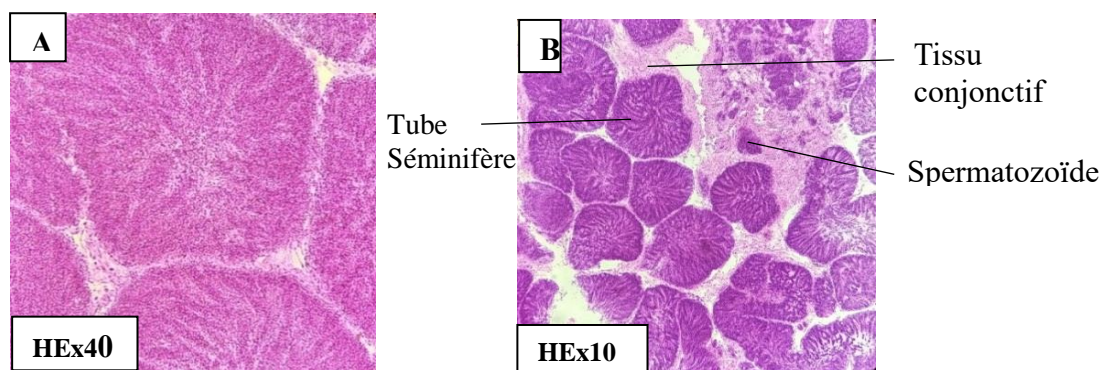


Figure 21 : Coupes histologiques de la gonade mâle des moules témoins.

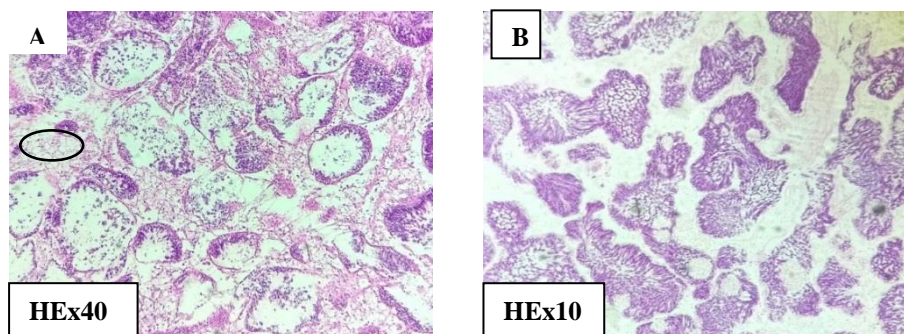
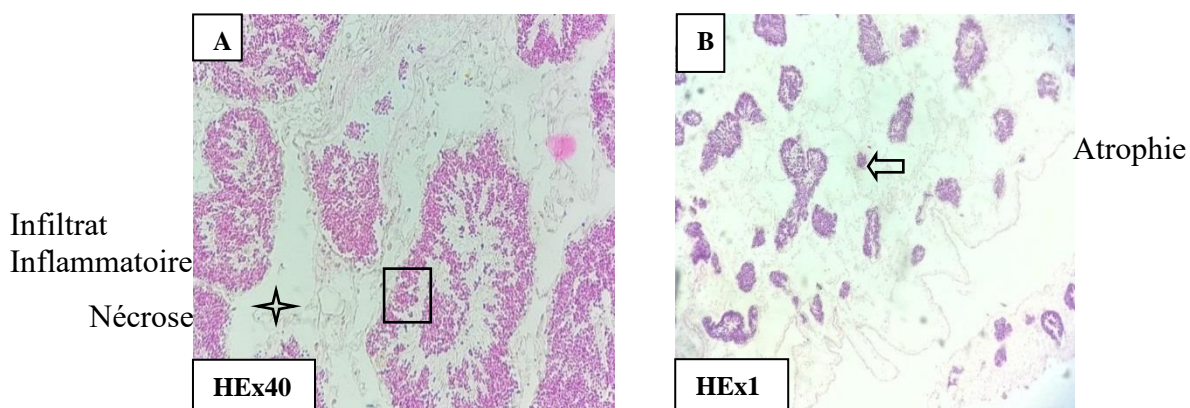


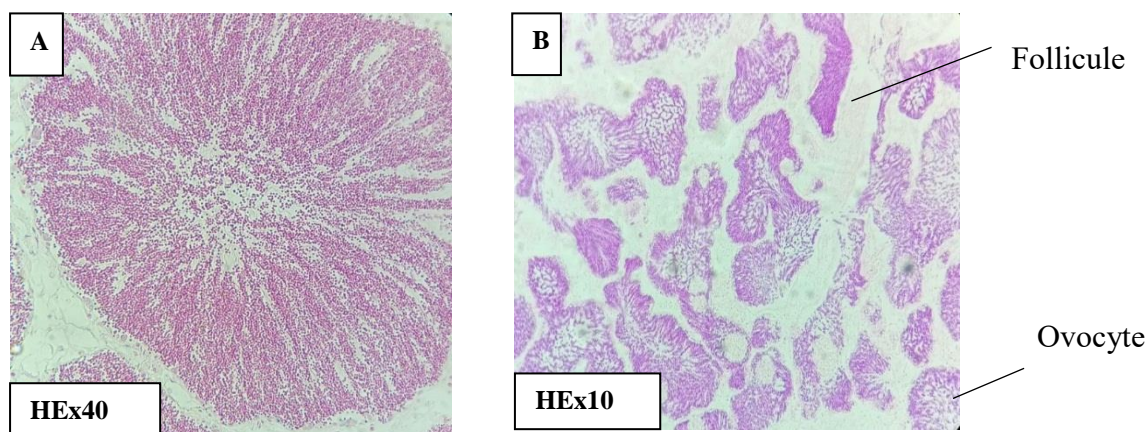
Figure 22 : Coupes histopathologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 100 µg/l de Cd.



**Figure 23** : Coupes histopathologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 1000 µg/l de Cd.

### 3.5.4. Effet du cadmium sur les gonades femelles de *M. galloprovincialis*

Les gonades femelles des moules traités par la dose 1 (100 ug /l) la figure (25) montre une pathologie de l'ovaire. Il a été noté des œdèmes inflammatoires avec apparition d'ovocytes atrophiques. A la dose 2 (1000 ug/l) la figure (26) présente une significative du nombre d'œufs produits, plus une atrophie folliculaire accompagnée par l'apparition de certains infiltrats inflammatoires, des nécroses et des débris cellulaires.



**Figure 24** : Coupes histologiques des gonades femelles des moules témoins.

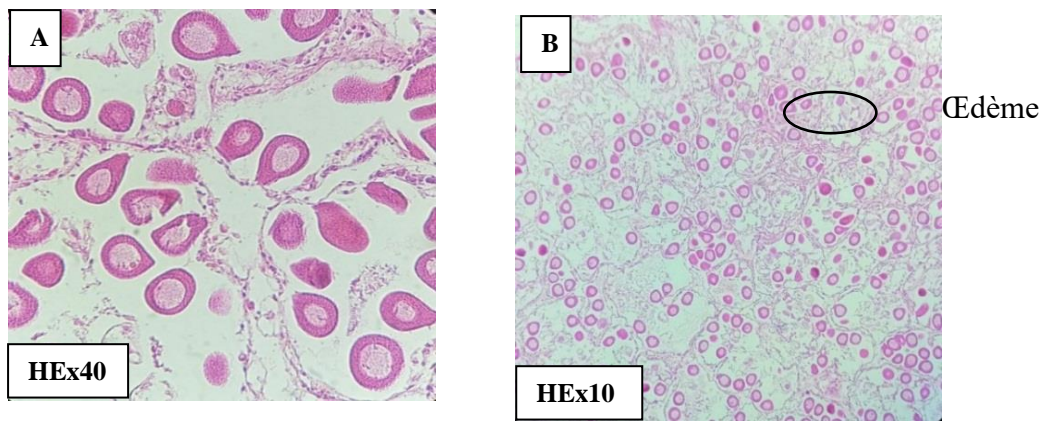


Figure 25 : Coupes histopathologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 100µg/l de Cd.

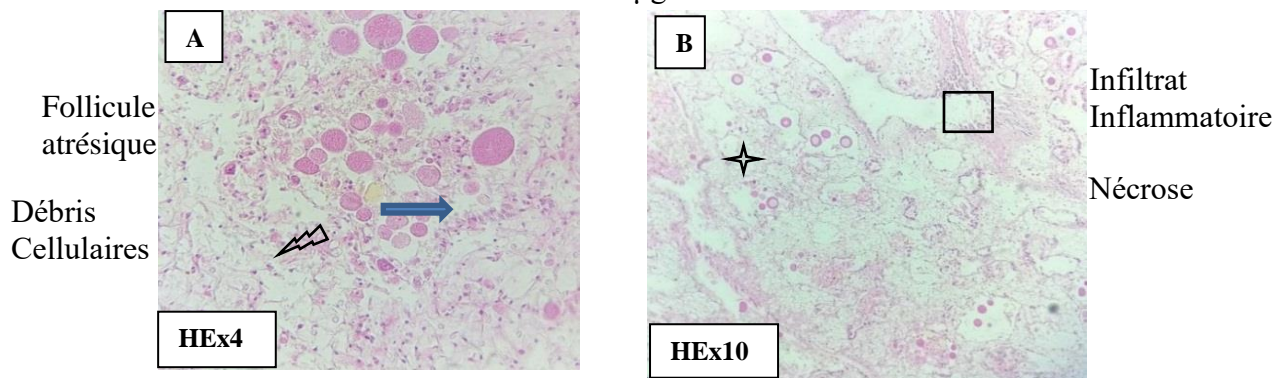
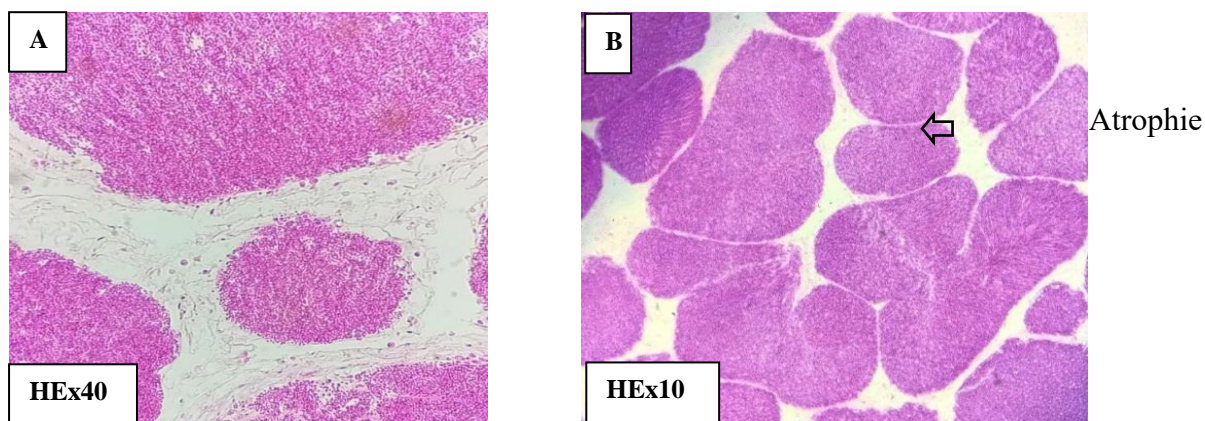


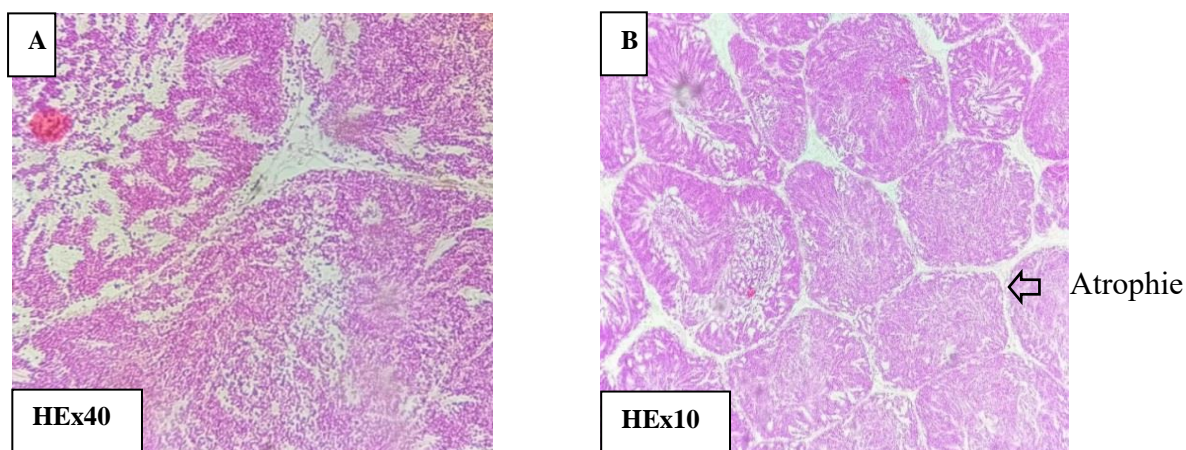
Figure 26 : Coupes histopathologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 1000 µg/g de Cd.

### 3.5.5. Effet du mercure sur les gonades mâle de *M. galloprovincialis*

L'examen microscopique des gonades mâles des moules traités par le mercure à la dose 100  $\mu\text{g/l}$ , figure (27), montre une diminution de la taille des tubes séminifère avec un contour irrégulier. La dose 2 (1000 $\mu\text{g/l}$ ) la figure (28) révèle une diminution de la taille de la gonade, un contour irrégulier des tubes séminifères accompagne par une diminution du nombre des spermatozoïdes.



**Figure 27** : Coupes histopathologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 100  $\mu\text{g/g}$  de Hg.

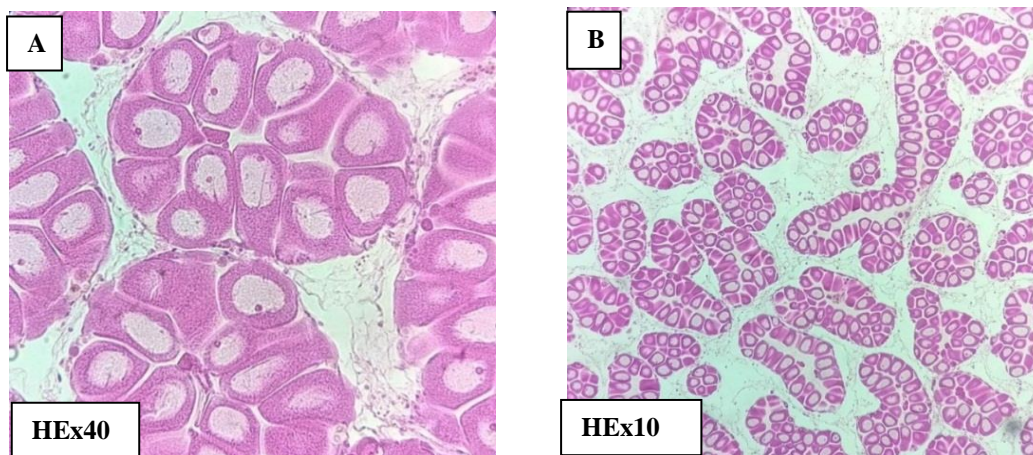


**Figure 28** : Coupes histopathologiques de la gonade mâle des moules traités avec la dose 1000  $\mu\text{g/l}$  de Hg.

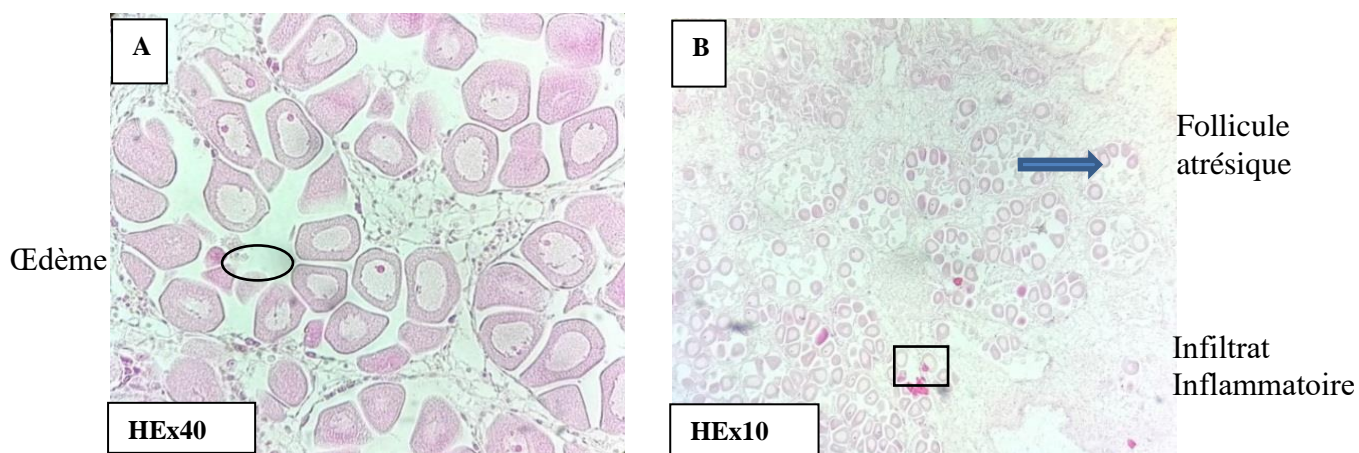
### 3. 5.6. Effet du mercure sur les gonades femelles de *M. galloprovincialis*

A la dose 100 ug//l, la figure (29) révèle un aspect normal du tissu gonadique.





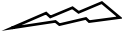

A la dose 1000 ug //l, la figure (30) révèle un atrophie partiel des follicules, apparition d'un œdème et certains infiltrats inflammatoires.



**Figure 29** : Coupes histopathologiques de la gonade femelle des moules traités avec 100 µg/l de Hg



**Figure 30** : Coupes histopathologiques de la gonade femelle des moules traités avec la dose 1000µg/l de Hg.

	<b>Œdème</b>		<b>Follicule atrésique</b>
	<b>Infiltrat Inflammatoire</b>		<b>Nécrose</b>
	<b>Débris Cellulaires</b>		<b>Atrophie</b>

# *Discussion*

### 4. Discussion :

Certains polluants environnementaux tel que les métaux (cadmium, zinc, mercure, plomb) insecticides (triazine, mélange des effluents urbain) sont capable d'altéré l'équilibre du système endocrinien chez les bivalves ainsi que le développement et la fonctionnalité de différent systèmes, et ce de maniéré parfois irréversible (Depledge et Belinger, 1990). En particulier, le système reproducteur a été identifié comme une cible particulièrement exposée.

Dans notre étude nous avons évalué l'effet de la pollution industrielle sur la reproduction d'un organisme bioindicateur et bioaccumulateur de la pollution marine. Suite à l'exposition d'une population des moules *Mytilus galloprovincialis* à deux métaux traces (cadmium et mercure) à raison de (100 et 1000 µg/l) pendant 21 jours, l'accumulation et les effets toxiques de ces deux métaux au niveau des gonades mâles et femelles ont été mis évidence.

#### 4.1. Accumulation du cadmium et du mercure

On a enregistré que les teneurs en Cd et Hg au niveau de deux organes analysés (gonade mâles et femelles) augmentent d'une manière dose –dépendante chez les moules traités dans les conditions contrôlées de laboratoire, en effet les concentrations relativement élevées en cadmium et mercure retrouvées dans les gonades des moules indiquent une accumulation dû à la prise de métal qui, chez la plupart des mollusques, est plus rapide que leur élimination d'où une accumulation qui s'effectue souvent proportionnellement à la concentration extérieure. L'accumulation du cadmium est plus importante que celle du mercure et les mâles sont plus sensibles aux deux polluants par rapport aux femelles.

Les mollusques bivalves sont d'excellents capteurs des polluants métalliques ; ces derniers se concentrent sur les organes d'assimilation (équivalents foie, reins et gonades), qui sont précisément ce que l'homme mange. Ils accumulent surtout le cadmium et dans une moindre mesure le plomb, mais peu le mercure (Paez-Osuna, 1995).

#### 4.2. Effets du cadmium et du mercure sur le taux de la vitellogénine

La vitellogénine lipoprotéine précurseur de la synthèse du vitellus, en hautement impliquée dans le processus de la reproduction. Les vitéllogénines ont été classés comme des biomarqueurs d'effets et d'exposition en raison de leur spécificités aux contaminants oestrogéniques (marthieussen *et al.*, 2018 ; khatir *et al.*, 2020). Ainsi l'introduction de la vtg chez les poissons males est largement utilisée pour détecter leur exposition à des composés oestrogéniques (Ferrairia *et al.*, 2009).

Nos résultats montrent que les deux métaux (cadmium et mercure) perturbent le taux de vitellogénine avec une diminution au niveau des gonades femelles de *M. galloprovincialis* est d'une manière significative chez les traités par la dose la plus élevée. Des troubles de la

vitellogénèse ont été constatés chez deux espèces de moules d'eau douce *philipia caplaunia* et *Dreissina polymorpha* exposées à des effluents de la station d'épuration (Quimn *et al.*, 2004).

Les travaux de Smaoui ; Damak *et al.* (2006) chez *R. decussatus* révèlent que le cadmium peut inhiber ou stimuler la gamétogénèse. Des anomalies ou des retards dans le développement embryonnaire et larvaire chez *Crassostrea virginica* et *Crassostrea gigas* sont signalées suite à une exposition à des concentrations comprises entre 20 et 50 µg /l de cadmium.

Le cadmium semble interférer avec la voie stéroïdogénique ovarienne, en effet, de faibles concentrations en cet élément stimuleraient la biosynthèse ovarienne de progestérone alors que des concentrations élevées la bloqueraient (Henson et Chedrese, 2004).

En effet, de nombreux auteurs ont montré que le cadmium interférait directement avec l'endocytose du vitellus (Bodar *et al.*, 1998) et pouvait avoir une action au niveau des hormones telles que la GSH (Gonad Stimulating Hormone) et la 5HT (5- Hydroxytryptamine), conduisant à une diminution de la production de la VTG et la production d'ovocytes atrésiques (Martin-Diaz *et al.*, 2006).

### 4. 3. Effet du cadmium et du mercure sur l'histologie des gonades

Nous avons mis en évidence chez les mâles de profondes altérations tissulaires qui se manifestent par la déformation des tubes séminifères et une desquamation de l'épithélium germinatif et la diminution du nombre de spermatozoïdes chez les traités par les doses les plus élevés notamment chez ceux qui sont traités par le cadmium. Les mêmes résultats en été signalé dans l'étude d'Agbohessi *et al.* (2015) sur les testicules males chez *Tilapia guineensis* et *Clarias gariepinus* contaminer par le pesticide Tihan et lthamétrine. Selon (Maynard *et al.*, 1953) ces effets sur les cellules testiculaires peuvent engendrer une perturbation de la production des hormones et donner un sperme immature. Un nombre relatif des effets nocifs du même toxique sur la reproduction des palourdes de *Manilla* pendant une période d'exposition de 21 jours, signale une diminution de spermatozoïdes chez les mâles, diminution de la viabilité des larves et des dommages à l'ADN des cellules gonadiques (Gao *et al.*, 2019).

Des altérations cellulaires et tissulaires ont été observées au niveau des gonades femelles de *M. galloprovincialis* traités par le cadmium et le mercure à (100 et 1000 µg/l) avec une diminution de la taille des cellules des gonades, d'atrésie folliculaire, des lésions et des nécrose cellulaires particulièrement chez les traités par les concentrations les plus élevés des deux métaux.

Une étude sur un pesticide le triazine marquée par (Janz, 2000) montre des infiltrats et des lésions cellulaires, plus une atrésie folliculaire pré- ovulatoire qui est un processus de dégénérescence par lequel l'ovocyte perd son intégrité et est éliminé avant l'ovulation, cette

altération a exclusivement été identifiée chez les poissons prélevés à Batran, ce qui peut être une cause déterminante d'une diminution de la capacité de reproduction. Aussi le suivi des nanoparticules de dioxyde de titane chez les poissons Zébre (Li *et al.*, 2016) présentait des anomalies dans la structure des tissus et une réduction significative du nombre d'œufs produits. Ainsi les travaux de Binelli *et al.* (2001), indiquent que les perturbations structurales et fonctionnelles engendrées par les polluants et leurs métabolites se traduisent par des modifications des performances physiologiques et comportementales, incluant l'ovogénèse et la spermatogénèse, outre Riba *et al.* (2005) parlent d'une relation entre les concentrations chimiques des métaux et les lésions histologiques dans les tissus des différents organes chez les bivalves.

L'ensemble des observations réalisées sur les gonades mâles et femelles révèle des anomalies suggérant que l'exposition aux particules métalliques pourrait perturber la spermatogénèse et l'ovogénèse, il semble donc évident que les métaux exercent un effet toxique sur la reproduction des bivalves.

# *Conclusion et perspectives*

## 5. Conclusion et perspectives

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la bioaccumulation de deux métaux traces cadmium et mercure et les effets toxiques induits sur la moule *Mytilus galloprovincialis* considéré comme organisme bioaccumulateur et bio indicateur de la pollution marine. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique (21 jours) par la voie d'absorption trophique. La toxicité du Cd et Hg est déterminée chez *Mytilus galloprovincialis* grâce à un biotest réalisé en laboratoire sur des animaux exposés à deux concentrations 100 et 1000 µg/l, reflétant des niveaux de pollution potentiellement rencontrés dans les environnements marins contaminés. L'objectif principal de cette étude était de déterminer les concentrations de Cd et Hg accumulées dans les gonades. D'évaluer les variations d'un biomarqueur d'exposition et d'effet la vitellogénine et d'étudier l'impact cellulaires et tissulaires de ces deux métaux au niveau des gonades mâles et femelles des moules, Les principaux résultats obtenus montrent :

L'analyse des données concernant la bioaccumulation confirment le fort potentiel bioindicateur de *Mytilus galloprovincialis* en ce qui concerne les éléments métalliques. On a enregistré des concentrations importantes des deux métaux analysés au niveau des gonades mâles et femelles et que le Cd s'est accumulé plus que l'Hg, ainsi les mâles sont plus sensibles que les femelles.

Les deux métaux ont altéré significativement le taux de vitellogénine dans les gonades femelles et la dose la plus élevée provoque des diminutions plus marquées. L'accumulation de particules métalliques est accompagnée d'atteintes histologiques particulièrement à la forte concentration testée de deux métaux :

Chez les mâles le tissu gonadique manifeste des œdèmes, des infiltrats inflammatoires, des atrophies et des ruptures de tissu conjonctif accompagnent par une diminution de la taille des tubes séminifères et le nombre des spermatozoïdes.

Chez les femelles il y a l'apparition des follicules atrésiques, des infiltrats inflammatoires et des nécroses.

Les résultats de cette étude indiquent que l'exposition au Cd et à l'Hg a des effets reprotoxiques néfastes sur *Mytilus galloprovincialis*, entraînant ainsi une diminution de la reproduction et une baisse de la fertilité.

Notre travail laisse de nombreuses perspectives d'expérimentations pour une continuité de cette étude à savoir :

- Etudier l'effet de la toxicité de certains métaux essentiels sur la reproduction des bivalves.
- Suivre les effets de polluant testés sur la réponse d'autres biomarqueurs notamment la catalase (CAT), le superoxyde dismutase (SOD), le métallothionéine, le cytochrome P450.
- Approfondir l'étude histopathologique des gonades suivi d'un dosage de la vitelline, la testostérone, l'œstradiol par un élevage de ces animaux au laboratoire et introduction de quelque perturbateur endocrinien.
- Utiliser un mélange de polluants lors d'expérimentation au laboratoire pour se rapprocher du milieu naturel.

*Références*  
*Bibliographique*

## 6. Références bibliographiques

- Amiard, J.C ., Amiard-Triquet,C ., Barka,S ., Pellerin, J., 1989.** Etude comparative du cadmium, du mercure et du plomb chez l’huitre *crassostrea gigas*: accumulation tissulaire et intérêt de la mesure de la capacité de rétention en organe de biotransformation, cahiers de biologie marine .30 ,199-218.
- Arab, N., 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l’exposition à l’effet et du laboratoire au terrain. Thèse de Doctorat. Univ . Bordeaux 1. 234p.
- Banni, M., Attig, H., Sforzini., olveri, C ., Mignonde, A., 2014.** .Transtamic responses to heat stress and nickel in the mussel *mytilus galloprovincialis*. *Aquatic toxicology* 148,104-112.
- Barhoumi., 2014.** Biosurveillance de la pollution de la langune de Bizerte (Tunisie) par l’analyse compare des niveaux de contamination et de l’écotoxicité du sédiment et du biote.
- Bayne, B., Svensson, S., Et Nellja., 1999.** The physiological basis for faster growth in the Sydney rock oyster , *Saccostrea commercialis* *BiolBull.* 197(3),: 377-387.
- Beaumont, S., Cassier, M., 2004.** Biologie animale, des protozoaires au métazoaire épithélioneuriens .*Tomel . Dunod*, 1998, Paris: 459.
- Beneli, c., Fabbri, A., Grassi, M., Lambardi, M., Rugini. 2001.** Histology of somatic embryogenesis in mature tissues of olive (*Olea europaea L.*); *J. Hort. Sci. Biotechnol;* **76(1):**112-119.
- Boening, D., 1999.** An evaluation of bivalves as biomontors of heavy metal pollution in marine waters . “Environ”. *Monitoring and assessmen, t 55* : 459-470.
- Bodar, M., Jebali J., Daubeze, M., Clerandau C., Guerbej H., Narbonne J.F., Boussetta, H., 1998.** Monitoring pollution in Tunisian coasts : application of a classification scale based on *biochemical markers*. *Biomarkers;* **10(2-3):**105-16.
- Borchardt, G., (1985).** The role of strontium in biological systems. In Handbook of Experimental Pharmacology (**Vol. 91, pp. 1-113**). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Blackmore, G., Wang, A., 2004.** The transfer of cadmium, mercury , methyl mercury and zinc in an intertidal rocky shore food chain. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*
- Branch, G.M., Griffiths., C.L., Branch, M., 2005.** Two Oceans: A Guide to the marine life of Southern Africa . *Struik publishers , le cap* , 360p.
- Burton, S., 1992.** .Sédiment toxicity assessment .*Lewis publishers*, London.211 .
- Cassa, D., Lassus, p., 1998.** Metal speciation and distribution in natural maters. In:*D . Cossa,G. Martin (Eds),metal speciation in the ocean. NATO ASI series, springer,pp. 89-104*

**Campbell, M., 1995.** Cadmium: an overview of recent advances in the understanding of its mode of action on mammals *journal of trace Elements in Experimental Medicine*, 8 (2), 119-110p.

**Chiffolleau, J.F., le GALL., A.C, Tack, K., Schafer, J., 2001.** Behaviour of cd , pb, cu and zn in the different geochemical compartments of the terminal Loire estuary . *Estuarine, coastal and shelf science*, 52 (4) , 475-486.

**Dagnelie, P., (1999).** Statistique théorique et appliquée. Tome 1 : Statistique descriptive et base de l'inférence statistique. De Boeck Université.

**Dellali, M., 2001.** Observation sur le comportement alimentaire de *chondrostoma beysehirens* (piscis , cyprinidae) (Zoogéographie de l'espèce en Tunisie s). *Journal tunisien des sciences naturelle*, 1, 36-41.

**Depledge, S., Beniniger, P ., 1995.** Effect of Zn.Cu.Pb, and Cd on Fitness in snails (*Helix aspres*a), *Ecotoxicology and Environmental safety*, 34, 59-69p.

**FAO:** Food and Agriculture Organization

**Ferrairia, M., Almeida-Portugal, J. A., Soares, F., & Monteiro, M. (2009).** Vitellogenin as a biomarker for the assessment of estrogenic contamination in fish. In *Aquaculture* (Vol. 280, pp. 1-11). Elsevier.

**Gagniaire, B., 2005.** Etude des effets de polluants sur les paramètres hemocytaires de l'huitre creuse , *crassostrea gigas*-interaction entre environnement , mécanismes de défense et maladies.

**Gavila, n., Garcia, I ., Gavilan G., Castro Diaz, J., 2004.** Organometales. In: A. Fernandez Bremauntz, M. Yarto Rmirez et J. Castro Diaz (Eds), las sustancias toxicas persistentes. *Instituto Nacional de Ecologia*, Mexico,pp. 1-64.

**Gesamp., 1987.** Group of Experts on Scientific Aspects of *Marie Environmental Protection* .

**Gonzalez, J ., Persat, H ., Pandard, P ., Bodiguel , X ., Riso, R., 1999.** Influence des espèces chimiques , de la granulométrie et de l'organo-minéralogie du sédiment dans le devenir du cadmium et du plomb dans l'estuaire de Loire . *Revue des sciences de l'eau* , 12 (2) ,179-197.

**Gosling , E., 1992.** The Bivalvia : class Bivalvia .In C . pp.356-377). Palgrave Macmillan.

**JECFA:** Joint Expert Committee for Food Additives.

**IFREMER :** Institut Français de Recherche pour l'exploitation de la mer.

**Kamel, S., (2014).** Sauvegarde de la masse viscérale. In Proceedings of the 2014 International Conference on Biomedical Engineering and Systems (**ICBES**) (pp. 1-4).

**Khatir, Z., Leitao, A., Lyon, B.P., 2020.** The biological effects of chemical cotaminants in the Arabian / Persian Gulf: A review. *Regional Studies in Marine Science*, 33: 100- 930.

- Lawson, S., Mason, G., 1998.** Accumulation of mercury in estuarine food chains . *Biogeochemistry* , 40 (2-3),235-247.
- Le Gall., 1971.** Aspects histologiques de la maturation sexuelle de la moule *mytilus edulis* (L) en rade de Brest :variation saisonnière et influence de la température .*Haliotis*,1(1971),11-17.
- Lindqvist., 1991.** Arsenic.In : Encyclopedia of chemical technology .John Wiley & sons.
- Lubet., Chappuis., 1966.** Contribution à l'étude biologique des œufs d'*Artemia salina*. Archive de zoologie Expérimentale et générale, 107,435-453.
- Mason, C.A., Cauce, A.M., Gonzales, N., Hiraga, Y., 1996.** UP take, toxicity and trophic transfer of mercury in a coastal diatom.. *Environ. Sci. Technol.* 30 :1835-1845.
- Martin, M. C., Zwingelstein, G., Jouanneteau, J., 1970.** Composition des lipides de différence tissus de *mytilus galloprovincialis*, *Ann . Inst.Michel, Pacha* (2) : 27-35.
- Matthiessen, Christian M.I.M., 2009.** Meaning in the making: meaning potential emerging from acts of meaning. In Anniversary Issue of Language Learning **59 (Supplement 1): 211-235.**
- Matthiessen, P., Wheelern J.R., Weltje., 2018.** A review of the environnement for endocrine disrupting effects of current- use chemicals on wild life population *Critical Reviives in Toxicology*, 48: 3.
- Miller, J., Brown, D.S., Honeyman, K., 2000.** Bivalve *molluscs* as bioindicators of pollution: A review. *Environnemental pollution*, 109(3).
- Miquel, G., 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques, Onzième législature, N°261, sénat-session ordinaire de 2000-2001, 104 pp.
- Naciri., 1998.** Dynamique d'une population de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) , vivant sur la côte atlantique marocaine , *Bull.Inst.Sci* ; Rabat (21) :43-50.
- Narbonne, S., 2005.** Scale of classification based on biochemical markers in mussels : application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends *Biomarkers* 10 :58-71.
- Nordberg, E., 1995.** Cadmium and health in the 21 st century-historical remarks and trends for the future. *Biometals*, 8(3), 151-162.
- OMS : Organisation mondiale de la santé.**
- Orus, E., O., Usta, D., 2007.** Evaluation of oxidative stress response and neurotoxicity potential of diazinan in different tissues of *Cyprinus caprio*. *Environ. Toxicol. Pharmacol*; **95** : 48-55.

**Pacyna, J.M., Pacyna, E.G., Fudala, J., 1995.** Atmospheric emissions of arsenic , cadmium , lead and mercury from high-temperature processes in power generation and metallurgy. *Environmental science & Technology*, **29(2)**, 298-306.

**Pagliassotti MJ., Shahrokhi , KA., and Moscarello, M., 1994.** Involvement of liver and skeletal muscle in sucrose induced insulin resistance: dose-response studies. *Am J Physiol* **266**, R1637-1644.

**Peez-azuna., 1995.** Effects of cadmium on the consumption and absorption rates of a tropical freshwater snail, *Chemosphere*, **32**, 2127-2132p.

**Portmann, T.E., 1975.** The bioaccumulation and effects of organochlorine pesticides in marine animals. *Proc, Roy. Soc. Land, B*; **189**: 291-304.

**Quinn P., Migeon B., Garric J., 1996.** Joint effects of copper sulfate and methdation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* ) EROD and Ache activites. *Environ. Cont. Toxicol.* **56**: 440-445.

**RNO : Réseau National d'observation**

**Riba, L, Caquet, T., Amiard, J C., Ramade, F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie, *Collection Ecologie*,

**Lagadic, L, Caquet T., Amiard J C ., Ramade F., 1997.** Biomarqueurs en Ecotoxicologie, *Collection Ecologie*, Masson, Paris, 419p.

**Roesijadi, 1996.** Metallothionein and its role in toxic metal regulation. *Comparative biochemistry and physiology part c: pharmacology and Endocrinology* , **113(2)**,117-123.

**Sukandar, S., Yasuda, K., Tanaka, M., Aoyama, I., 2006.** Metals leachability from medical waste incinerator fly ash: A case study on particle size comparison. *Environmental pollution*, **144(3)**: 726-735.

**Sokolova, I.M., Sokolova, I.M., Ringwood , A.H., Johnson C., .2004.** Cadmium effects on mitochondrial function are enhanced by elevated temperatures in a marine poikilotherm , *crassostrea virginica Gmelin* ( bivalvia : ostreidal ).*Journal of Experimental biology* , **207(2)**,263-271.

**Smaoui-Damak W., Rebai, T., Berthet, B., Hamza-Chaffai A., 2006.** Does cadmium pollution affect reproduction in the clam *Ruditapes decussatus* ? A one-year case study. *Comp Biochem. Physiol*; **143**: 252-261.

**Turgeon, D. D ., Quinn, J.F., Bogan, A.E., Coane, V ., Hochberg, F.G., Lyon, W.G., 1998.** Noms communs et scientifiques des invertébrés aquatiques des états unis et du Canada : Mollusque, 2<sup>ème</sup> ED. Publication spéciale 26 de société Americaine de pêche.

**Vidal, M. L., 2001.** Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez Le mollusque bivalve d'eau douce *corbicula fluminea* (müller) purification et caracterisation des Glutathion S-transferases. Thèse de doctorat en Sciences du Vivant, Geosciences, Sciences de l'Environnement, option: Ecotoxicologie, Université Bordeaux **1**. 282p.

