

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 :

**Stress oxydatif et changement histologiques induit par deux
métaux traces (Cd et Hg) chez la moule *mytilus galloprovincialis*
bioindicatrice de la pollution marine**

Présenté Par : Bouglouf abdelkader

Khalfi fatima

Laouar meriem

Meliani linda

Membre de Jury:

Mme. Benzazia.s (MCA)

Président

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Mme. Nadji.s (MCA)

Promoteur

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Mme. Mellahi. (MCB)

Examineur

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant pour nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Tout d'abord nous remercions les membres du jury Mme Benzazia et Mme mellahi qui ont accepté de juger ce travail.

Un grand Merci à Mme Nadji de nous avoir encadrés, qui a bien accepté de corriger notre travail et qu'elle n'a cessé de prodiguer ses conseils judicieux et permanents, qui nous ont été d'une aide précieuse. Nous la remercions pour ses encouragements et pour le temps précieux qu'elle nous a consacré toutes les fois que cela était nécessaire.

Egalement tous ceux qui nous ont soutenus tout au long de ce travail directement ou indirectement, par leur amitié et leur sympathie, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donnée la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie cet humble travail avec grande amour, sincérité et fierté, A la mémoire de mes parents.

Une dédicace spéciale à ma très chère femme Hassina qui m'a soutenue moralement, qui était très patiente et compréhensif pendant les moments de stress.

A mes enfants Mohamed Sofiane et Lina Aïnes et Ahmed Iyad

A mes chers frères et sœurs.

Au deuxième groupe encadré par Mme Nadji, « Guerireme Nesrine, Bouchama Naouel, Nouari Ikrame et Saad Djaballah Oudad » pour leurs aides et soutiens.

En fin, je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

Abdelkader

Dédicace :

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.

A ma très chère Maman et mon cher Papa:

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, que

Dieu te garde et te protège.

A ma très chère frère Rami

A mon très chère-mari Rabah pour m'avoir soutenu moralement et toute sa famille.

A mon Binôme Meriem et Fatima qui a partagées avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et à toute La promotion de 2ème année master Écotoxicologie Animal LMD Promotion 2024.

Linda

Dédicace :

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.

A ma très chère Maman et mon cher Papa:

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, que

Dieu te garde et te protège.

Amon mari Hamza pour m'avoir soutenu
moralement et toute sa famille.

A mon binôme Linda et Fatima qui a partagées avec moi les moments difficiles
de ce travail.

Et à toute La promotion de 2ème année master Écotoxicologie Animal
LMD Promotion 2024.

Meriem

Dédicace :

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.

A ma très chère Maman et mon cher Papa:

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, que

Dieu te garde et te protège.

A ma très chère mes enfants

A mon très chère-mari pour m'avoir soutenu moralement et toute sa famille.

A mon binôme Linda et Meriem qui a partagées avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et à toute La promotion de 2ème année master Écotoxicologie Animal
LMD Promotion 2024.

Fatima

SOMMAIRE

	Pages
Liste des figures	
1 Introduction	1
2 Matériel et méthodes	4
2.1 Matériel biologique	4
2.1.1 <i>Mytilus galloprovincialis</i>	4
2.1.2 Position systématique	5
2.1.3 morphologie et Anatomie	5
2.1.4 Reproduction et cycle de vie	7
2.1.5 Répartition géographique	9
2.1.6 Présentation du site d'échantillonnage	10
2.2 Présentation des deux xénobiotiques	10
2.2.1 Le cadmium	10
2.2.2 Le mercure	12
2.3 Récolte et traitement d'échantillons	13
2.3.1 Technique d'échantillonnages	13
2.3.2 Protocole de contamination des moules	13
2.4. Dissection et prélèvement des organes	14
2.5. Paramètre étudié	15
2.5.1 Dosage du cadmium et du mercure	15
2.5.2 Dosage des paramètres du stress oxydatif GSH	15
2.6 Etude histologique	17
2.7 Analyse statistiques	19
3 Résultats et discussion	20
3.1 Résultats	20
3.1.1 Accumulation des métaux chez <i>Mytilus galloprovincialis</i>	20
3.1.2 Effet des métaux lourds sur les taux du GSH	23
3.1.3- Examen des coupes histologiques	25
3.2 Discussions	30
4 Conclusion et perspectives	34
Références bibliographique	36

Liste des Figures

		Pages
Figure 01	L'espèce <i>Mytilus galloprovincialis</i>	4
Figure 02	Présentation schématique d'une partie de la lamelle branchiale (Le Pennec et Hily, 1984)	6
Figure 03	Anatomie interne et externe de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Khelil, 2007).	7
Figure 04	Cycle biologique des moules (Ventura <i>et al.</i> , 2016).	8
Figure 05	Moules male (m) et femelle(f) (Mikhailovet <i>al.</i> ,1995)	9
Figure 06	Répartition géographique de la moule <i>M. galloprovincialis</i> dans le monde (GUENDOUZI, 2015)	9
Figure 07	Localisation du site d'échantillonnage Chetaibi par Satellite (Google 2011)	10
Figure 08	dispositif expérimental utilisé pour le teste de toxicité	14
Figure 09	Bioaccumulation du Cd ($\mu\text{g/g}$ du tissue sec) au niveau des branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$	20
Figure 10	Bioaccumulation du Cd au niveau de la glande digestive de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$.	21
Figure 11	Bioaccumulation du Hg au niveau des branchies de la de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traités par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$.	22
Figure 12	Bioaccumulation du Hg au niveau de la glande digestive de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traités par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$.	22
Figure 13	Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau des branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traités par le Cd.	23
Figure 14	Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau de la glande digestive de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traités par le Cd.	23
Figure 15	Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau des branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traités par le Hg.	24
Figure 16	Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau de la glande digestive de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Hg.	24
Figure 17	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies témoin de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	26
Figure 18	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Cd à 100 $\mu\text{g/l}$	26
Figure 19	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Cd à 1000 $\mu\text{g/l}$	26
Figure 20	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Hg à 100 $\mu\text{g/l}$	27
Figure 21	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Hg à 1000 $\mu\text{g/l}$	27
Figure 22	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glandetémoin de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	28

Figure 23	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Cd à 100µg/l	28
Figure 24	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Cd à 1000µg/l	29
Figure 25	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Hg à 100µg/l	29
Figure 26	Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande de <i>Mytilus galloprovincialis</i> traité par le Hg à 1000µg/l	29

Résumé:

La pollution de l'environnement de toutes sortes est un problème mondial car elle affecte négativement la santé et la vie des organismes vivants. L'homme est considéré comme le principal responsable de l'émergence et de l'exacerbation de ce phénomène.

Le présent travail a pour objectif d'étudier le stress oxydatif et les changements histologiques induits par deux éléments traces métalliques (cadmium et mercure) chez la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* choisie comme espèce sentinelle, via l'évaluation des concentrations en cadmium dans la glande digestive et la branchie de cette dernière et les mesures des niveaux du GSH (biomarqueur du stress oxydatif), l'étude a été complétée par l'histopathologie des deux organes considérés, suite à un traitement d'une population de *Mytilus galloprovincialis* pendant 21 jours par deux concentrations 100 et 1000 µg/l.

Les teneurs en métaux analysés (Cd et Hg) chez *Mytilus galloprovincialis* révèlent une accumulation importante au niveau des deux organes analysés (branchie et glande digestive) et d'une manière dose-dépendante.

L'accumulation du Cd se fait préférentiellement au niveau des branchies et celle du mercure se fait au niveau de la glande digestive.

Les ETM affectent le système antioxydant par des modifications corrélées avec une diminution du taux de GSH au niveau des deux organes analysés formant des complexes SH-métal.

L'étude histopathologique des deux organes (branchies et glande digestive) vient confirmer l'accumulation du métal par des altérations qualitatives importantes dès la plus faible concentration testée. Ce qui confirme la sensibilité de l'espèce vis à vis des deux métaux.

Mots clés: *Mytilus galloprovincialis*, stress oxydatif, métaux lourds, biomarqueur, branchies, glande digestive.

Abstract

Environmental pollution of all kinds is a global problem because it negatively affects the health and life of living organisms. Man is considered the main responsible for the emergence and exacerbation of this phenomenon.

The present work aims to study oxidative stress and histological changes induced by two heavy metals (Cd and Hg) in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* chosen as a sentinel species, via the evaluation of cadmium and mercury concentrations in the digestive gland and the gill of the latter, measurements of GSH levels (biomarker of oxidative stress) and the histopathology study of the two selected organs (the gills and the digestive gland)

We studied a sample of *Mytilus galloprovincialis* mussels taken from an aquaculture farm located in Chetaibi, Annaba state and acclimated for 15 days in the laboratory then treated for 21 days with two heavy metals.

The quantitative study demonstrates a significant potential for accumulation of cadmium and mercury in the two organs analyzed (gill and digestive gland) and in a dose-dependent manner, the accumulation of cadmium occurs preferentially at the level of the gills and that of the mercury occurs in the digestive gland.

The study of the biomarker shows a state of oxidative stress in *mytilus galloprovincialis*, explained by a significant decrease in GSH levels.

The qualitative study made it possible to demonstrate different degrees of tissue alterations, particularly at the high concentrations tested of two metals. Also deformations of the gill lamellae, infections and inflammatory infiltra at the level of the gills and narrowed tubular lumens with an irregular contour, inflammatory infiltrates and some cellular debris in the digestive gland. This is linked to the ability of metallic elements to induce oxidative stress, disrupt cell membranes and trigger inflammatory responses.

Key words: mussels, oxidative stress, heavy metals, biomarker, gills, digestive gland.

ملخص

يعد التلوث البيئي بكافة أنواعه مشكلة عالمية لأنه يؤثر سلباً على صحة وحياة الكائنات الحية. ويعتبر الإنسان المسؤول الرئيسي عن ظهور هذه الظاهرة وتفاقمها .

يهدف العمل الحالي إلى دراسة الإجهاد التأكسدي والتغيرات النسيجية المحدثة بواسطة اثنين من المعادن الثقيلة (الكادميوم والزنبق) في بلح البحر الأبيض المتوسط *Mytilus galloprovincialis* الذي تم اختياره كنوع خافر، من خلال تقييم تركيزات الكادميوم والزنبق في الغدة الهضمية وخياشيم الأسماك. الأخير، قياسات مستويات هرمون GSH (المؤشر الحيوي للإجهاد التأكسدي) ودراسة التشريح المرضي للعضوين المختارين (الخياشيم والغدة الهضمية)

قمنا بدراسة عينة من بلح البحر *Mytilus galloprovincialis* مأخوذة من مزرعة تربية الأحياء المائية تقع في شطابيي ولاية عنابة وتم تأقلمها لمدة 15 يوماً في المختبر ثم معالجتها لمدة 21 يوماً مع اثنين من المعادن الثقيلة.

أظهرت الدراسة الكمية إمكانية كبيرة لتراكم الكادميوم والزنبق في العضوين اللذين تم تحليلهما (الخياشيم والغدة الهضمية) وبطريقة تعتمد على الجرعة، يحدث تراكم الكادميوم بشكل تفضيلي على مستوى الخياشيم ويحدث تراكم الزنبق في الغدة الهضمية.

أظهرت دراسة العلامة الحيوية حالة من الإجهاد التأكسدي في *Mytilus Galloprovincialis* ، موضحة بانخفاض كبير في مستويات هرمون GSH

أتاحت الدراسة النوعية إظهار درجات مختلفة من التغيرات في الأنسجة، خاصة عند التركيزات العالية التي تم اختبارها من معدنين. وكذلك تشوهات صفائح الخياشيم والالتهابات والارتشاح الالتهابي على مستوى الخياشيم وتضيق الفجوات الأنبوبية ذات الشكل غير المنتظم وارتشاحات التهابية وبعض الحطام الخلوي في الغدة الهضمية. ويرتبط هذا بقدرة العناصر المعدنية على إحداث الإجهاد التأكسدي، وتعطيل أغشية الخلايا وتحفيز الاستجابات الالتهابية .

الكلمات المفتاحية: بلح البحر، الإجهاد التأكسدي، المعادن الثقيلة، المؤشرات الحيوية، الخياشيم، الغدة الهضمية.

INTRODUCTION

1-Introduction

La pollution des écosystèmes marins et littoraux est un problème environnemental, ces milieux sont affectés d'une façon ou une d'autre par le développement technologique des villes, les rejets agricoles, urbains et industriels qui conduisent à une pollution agressive. Aujourd'hui, les milieux aquatiques drainent et recueillent la majorité de contamination à cause de ces rejets, la mer méditerranée est classée parmi les sept mers les plus menacées (Boudouresque, 1996).

La contamination du milieu naturel par les métaux lourds, représente un danger plus important que celui des rejets d'hydrocarbures, ou même d'éléments radioactifs (Grousset et Donard, 1989). Sont des polluants dont la nocivité est liée à leur rémanence et à leur spéciation. Les métaux lourds sont peu métabolisés, ils peuvent donc être transférés dans le réseau trophique et s'accumuler dans la matière vivante (Duquesne, 1994).

Les concentrations de la plupart des polluants dans l'environnement sont de l'ordre de quelques nanogrammes par litre d'eau, ce qui rend les techniques de prélèvement et de mesure complexes. Les risques de contamination au moment de l'échantillonnage et de l'analyse sont nombreux, rendant les mesures délicates. Ces problèmes ont été surmontés par l'utilisation de techniques analytiques sophistiquées, difficilement applicables en routine à un réseau de surveillance le long d'un linéaire côtier important (Andral, 1997).

Afin de connaître et de suivre l'évolution de la contamination chimique côtière, Des programmes de recherche et de surveillance ont été mis en œuvre permettant de détecter la présence des contaminants dans le milieu naturel, ainsi que de déterminer la réponse biologique des êtres vivants aquatiques aux polluants (Moore et al., 2004) tel que, le Mussel Watch Projet aux Etats-Unis (Wade et al., 1998). Ces programmes visent l'influence des polluants sur des espèces bio-indicateurs, par des modifications comportementales modifieront leurs capacités à s'alimenter, à se reproduire et certainement par une surmortalité, qui conduise à des perturbations au niveau des chaînes trophiques.

En effet, les organismes aquatiques en particulier les mollusques bivalves tels que les moules, sont des modèles d'intérêt pour étudier les effets biologiques des polluants ,ils constituent d'excellents bio-accumulateurs car ils sont capables d'accumuler et de concentrer des niveaux élevés d'éléments métalliques et de composés organiques présents dans leur environnement avec des réponses physiologiques observables. La physiologie des bivalves est relativement bien étudiée et répondent aux critères d'espèce cible pour des applications de

surveillance. Ils ont tendance à s'établir dans des régions où des espèces moins robustes ne peuvent pas survivre (Cossa, 1985 ; Lopez-Barea et Pueyo, 1998).

L'évaluation des risques environnementaux et écotoxicologiques font intervenir l'utilisation de biomarqueurs ayant pour but de mettre en évidence de façon précoce une pollution (Van der Oost et al., 2003). Un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, de l'organisme, de la population ou de l'écosystème qui peut être reliée à une exposition ou à des effets toxiques de polluants chimiques environnementaux (Lagadic et al., 1997) De nombreux biomarqueurs biochimiques et cellulaires ont été étudiés chez les organismes aquatiques, et particulièrement chez les poissons et les mollusques bivalves. Parmi ces biomarqueurs, on peut citer ceux qui sont spécifiques au stress oxydatif, recommandés par des instances internationales pour la biosurveillance de la qualité du milieu aquatique, dont le malondialdéhyde (MDA) qui est issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires lors d'un stress oxydatif important (Dewes et al., 2006 ; Oruc & Usta, 2007) ; le glutathion réduit (GSH) impliqué dans le système de défense antioxydant (Sureda et al., 2006) et la catalase (CAT) qui constitue la première ligne de défense contre le stress oxydant (McCord, 1996).

L'exposition des organismes aquatiques à une pollution par divers xénobiotiques et métaux lourds induits chez ces organismes un stress oxydatif important qui se définit comme un déséquilibre de la balance entre le système prooxydant et le système anti oxydant et faveur du système prooxydant (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Ce déséquilibre résulte d'une réaction oxydative qui conduit à la formation d'espèces oxygénées réactives (EOR), qui sont des composés toxiques pour l'organisme, provoquant des dommages cellulaires et tissulaires lorsque leur taux de synthèse dépasse leur taux des dégradation par les enzymes du système anti oxydant (Tatrais et al., 2002; Abele & Pantarulo, 2004). Ces espèces oxygénées réactives ont essentiellement le radical anion super oxyde (O₂), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et les radicaux hydroxyles (OH).

Le présent travail a pour objectif principal d'étudier la toxicité comparée de deux métaux lourds (Cadmium et mercure) dans des conditions contrôlées de laboratoire chez la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* par:

- L'évaluation des concentrations en cadmium et mercure dans la glande digestive et la branchie..

- Le dosage d'un biomarqueur du stress oxydatif le GSH au niveau des deux organes cibles branchie et glandes digestive.
- Ainsi une étude histopathologie des deux organes considérés a été réalisée pour vérifier l'impact tissulaire.

**MATERIEL
ET
METHODE**

2- Matériel et méthodes

2.1-Matériel biologique :

2.1.1- la moule *Mytilus galloprovincialis*

La moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (fig.04) est un mollusque lamelibranche à corps mou non segmenté, (à branchies lamelleuse), ou Pélécy-podes (pied en forme de hache, permet le déplacement et l'enfouissement de l'animal dans le sable, il peut se replier sous l'action de deux muscles rétracteurs), à masse viscérale aplatie transversalement (Farcy, 2006), enveloppé par le manteau formés de deux grands lobes qui entoure le corps, le manteau permet aussi de fabriquer la coquille, calcaire bivalve. Ce dernier est sensible au milieu extérieur et insère les branchies dans une cavité où circule l'eau (Boué et Chanton, 1962).

Elle est une espèce sessile et sédentaire, qui vit fixée sur les substrats durs dans la zone médiolittorale (zone intertidale), elle colonise les habitats rocheux à des fonds atteints de 60 cm jusqu'à plus de 2m. L'espèce résiste aux courants, aux chocs des vagues et à l'arrachement grâce aux solides filaments du byssus qui sont soudés aux rochers (Songy et Avezard, 1963).

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).

Ainsi, et utilisée en tant qu'un excellent bio-indicateur de pollution, elle accumule des niveaux élevés de contaminants dans leur tissu, leur utilisation a été proposée pour la première fois par Goldberg en 1975 sous le vocable de « Mussel Watch ».



Figure 01 : L'espèce *Mytilus galloprovincialis*

2.1.2- Position systématique :

Embranchement : Mollusca (Mollusques)

Classe : Lamellibranchia (Lamellibranches, Bivalves)

Sous classe : Pteriomorphia (Ptériomorphes)

Ordre : Mytilida (Mytiloïdés)

Famille : Mytilidae (Mytilidés)

Genre : *Mytilus*

Espèce : *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819)

2.1.3-Morphologie et anatomie

Coquille

Les moules contiennent deux valves lisses ou coquilles extérieures protectrices, 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).

Pied et le byssus

Le pied est inséré en avant de la masse viscérale, il est comprimé latéralement et prend l'aspect d'un sac. Ces mouvements sont assurés par des muscles pro tracteurs 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 de 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).

Branchies

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).

Chaque lame présente deux feuillets un feuillet descendant (ou interne, ou direct) en regard du pied et d'un feuillet ascendant (ou externe ou réfléchi) situé du côté du manteau (Yonge, 1926 ; Owen, 1973 ; Sunila, 1987 ; Gosling, 2003).

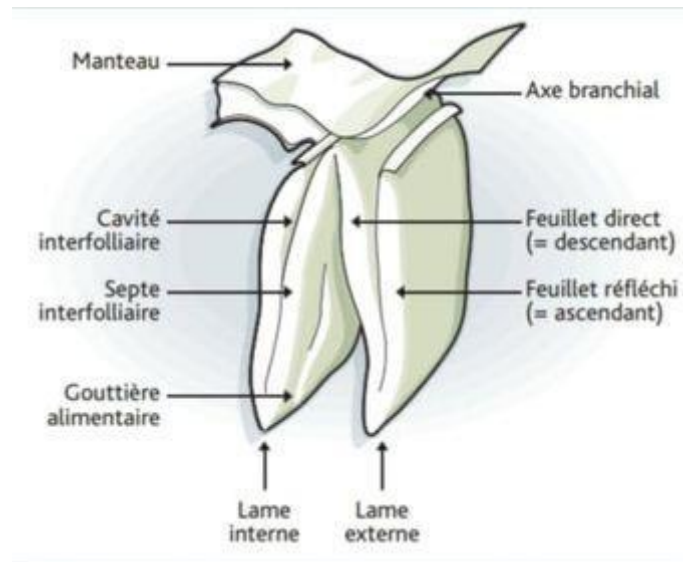


Figure 02 : Présentation schématique d'une partie de la lamelle branchiale (Le Pennec et Hily, 1984)

Muscles

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).

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 (Pagliassotti, 1994).

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.

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, elles interviennent dans les processus de régénération de la coquille et des tissus en cas de blessure et joue un rôle important dans le système immunitaire (immunité non spécifique) en phagocytant de petites particules et des microorganismes (Fisher, 1988).

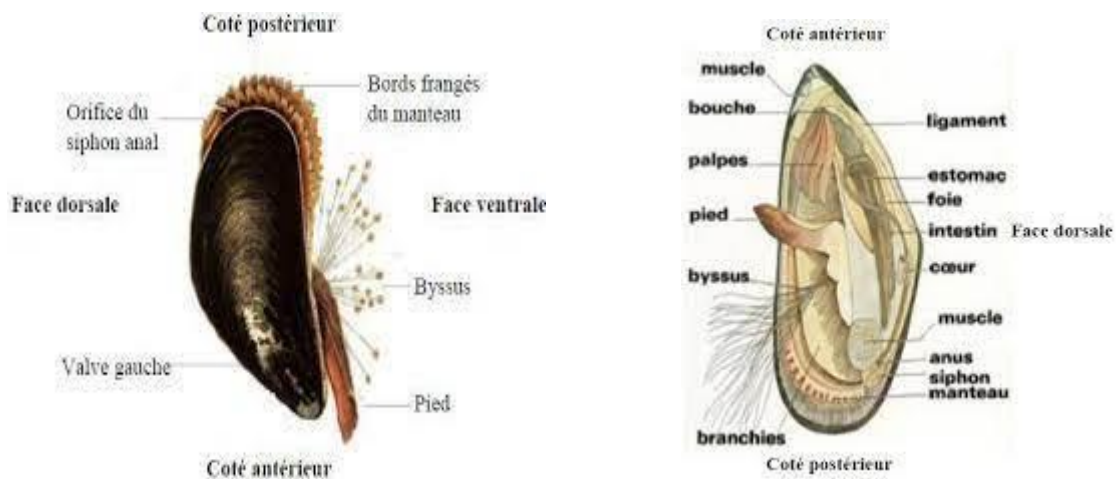


Figure 3 : Anatomie interne et externe de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Khelil, 2007).

2.1.4- La reproduction et Le cycle biologique

Les moules ne sont pas hermaphrodites : il existe des individus mâles et des individus femelles. Les moules atteignent généralement la maturité sexuelle à la fin du printemps ou au début de l'été, la formation de sperme ou d'œufs (gamétogenèse) se produisant dans de nombreux conduits situés principalement dans les lobes du manteau (Hecquet, 2006).

L'œuf développe dans l'eau. Il deviendra une larve capable de nager grâce à une couronne de cils appelée le velum. Cet organe lui sert également à se nourrir de bactéries, d'algues et

d'animaux microscopiques. Après environ un mois de vie planctonique, le jeune bivalves s'installe au fond à proximité des adultes (Duchemin, 2007).

Il faut dire que le cycle de vie des moules est assez complexe. Il comporte quatre stades de développement (Les glonchidies, Parasitaires, Juvénile, Adulte.) (Jahangard et al. 2010), Le cycle biologique des moules est annuel est dépend des conditions environnementales température et nourriture (Gosling, 2003 ; Saraiva et al., 2012) (figure6).

Il Comprend plusieurs étapes : croissance, gamétogénèse/maturation des gamètes, ponte, repos sexuel/restauration des réserves, rétablissement des gonades. Les moules sont capables de se reproduire dès leur première année de vie et en l'absence de tout élément perturbateur (prédation, conditions climatiques défavorables, ou déséquilibre trophique, parasites, maladies, etc.) une moule peut vivre entre 15 et 20 ans (Theisen, 1973 ; Seed, 1976). Le manteau des animaux se colore progressivement au cours de la gamétogénèse et en fin de maturité, Un manteau rouge orangé indique une femelle tandis qu'un manteau blanc, ou jaune pâle, indique un mâle (figure7)

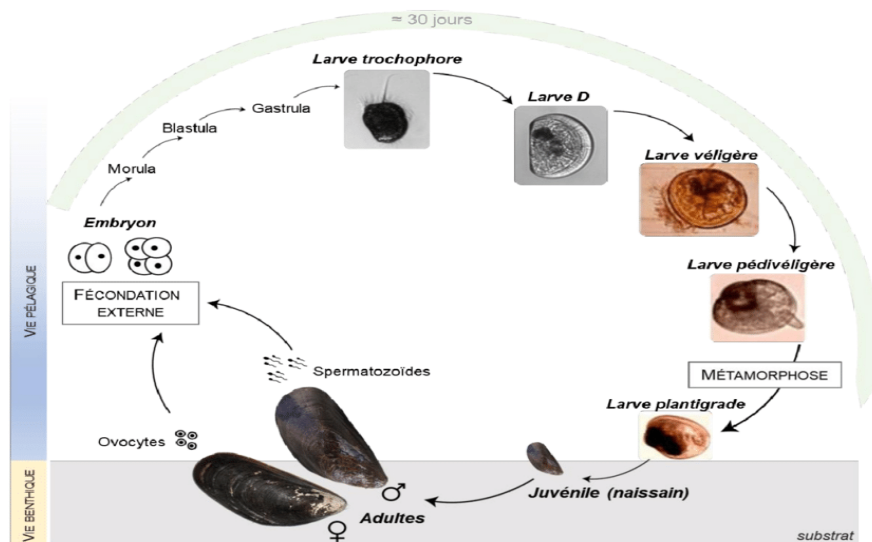


figure 4 : Cycle biologique des moules (Ventura et al., 2016).



Figure 5: Moules male (m) et femelle(f) (Mikhailov *et al.*, 1995)

2.1.5- Répartition géographique de l'espèce

La distribution de *M. galloprovincialis* se propage sur la côte atlantique depuis la baie d'Agadir (Maroc) passant par le long du Portugal et de l'Espagne jusqu'aux îles Britanniques et englobe aussi l'ensemble du bassin méditerranéen (la France jusqu'en Bretagne), la Nouvelle-Zélande et la Californie (McDonald *et al.*, 1991). Elle est aussi signalée aux Pays-Bas, en Wadden Sea. La colonisation de la côte atlantique de l'Afrique du Sud (1980), des côtes pacifique et atlantique de l'Amérique du Nord par cette espèce a été faite volontairement ou non (transportée par les eaux de ballast et coques des bateaux)

■ Répartition de la moule
M.galloprovincialis

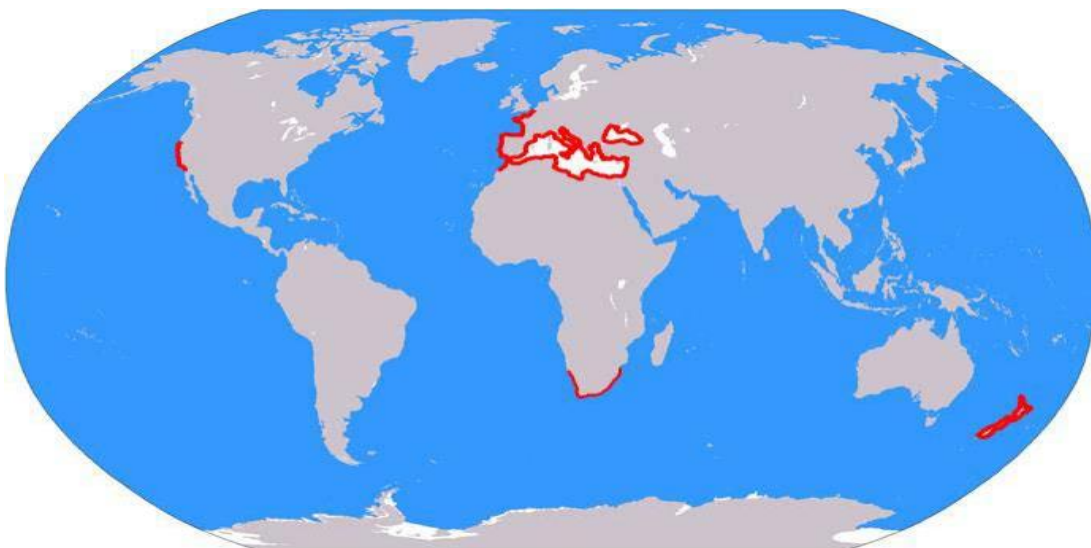


Figure 6 : Répartition géographique de la moule *M. galloprovincialis* dans le monde (GUENDOUZI, 2015)

2.1.6-Présentation du site d'échantillonnage

La moule *Mytilus africanus* (Chemnitz, 1785) a toujours été signalée par les auteurs comme rare ou peu abondante sur le littoral africain des côtes de la Méditerranée occidentale. Selon Pérès et Picard (1964), cette espèce ne dépasserait pas, vers l'est, la région de Skikda (Philippe ville) en Algérie (Jeanne Zaouali, 1973), Le site choisie pour la conduite de notre étude expérimentale est situé en mer ouverte dans la baie de la zone de Chetaibi ($37^{\circ} 04,60'$ N ; $07^{\circ}23, 46$ E) entre Skikda et Annaba, sur le côté Nord-Est du Cap Tekouche, le long de calanques. Il est également accessible par un sentier qui débouche directement sur le port du village.



Figure 7 : Localisation du site d'échantillonnage Chetaibi par Satellite (Google 2011)

2.2 Présentation des deux xénobiotique :

2.2.1 Le cadmium

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).

Utilisation

Les usages de cadmium se situent principalement en électricité (accumulateurs), en électronique, en métallurgie (traitement des surfaces par cadmiage) et dans l'industrie des matières plastiques (stabilisateur de polymères) (Ramade, 1992).

Le cadmium secondaire est produit par recyclage (accumulateurs Ni/Cd, alliages Cu/Cd, poussières d'aciéries, incinération d'ordures ménagères) représentant des causes de pollution de l'environnement. A l'image du mercure, les combustions des dérivés fossiles du carbone introduisent également ce métal dans l'atmosphère (combustion produits pétroliers et charbon). Aussi, le transport de ce polluant peut couvrir de grandes distances.

Cycle et sources naturelles et anthropiques

Le cadmium rejeté dans l'atmosphère provient de sources naturelles et anthropiques. Le cadmium présent dans l'eau, provient de l'érosion naturelle, du lessivage des sols (engrais phosphatés) ainsi que des décharges industrielles et du traitement des effluents industriels et des mines.

Propriétés biologiques et toxicité Contrairement à de nombreux métaux, le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants. Il remplace parfois le Zn dans des systèmes enzymatiques carencés en Zn chez le plancton (Price et Morel, 1990; Lane et Morel, 2000).

Le cadmium présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées. Cependant, il ne présente pas de toxicité aiguë pour les organismes marins à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans le milieu. Au niveau sublétal, des concentrations de 0,05 à 1,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ peuvent provoquer des effets physiologiques (anomalies dans le développement embryonnaire et larvaire chez mollusques bivalves) et des inhibitions de croissance (Chiffolleau et al., 2001).

2.2.2- Mercure

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. C'est le seul métal liquide à température ambiante. Aussi, en raison de ses propriétés de partage et de gradients de concentration à l'interface air - eau, cette forme élémentaire est stable dans les conditions naturelles et préférentiellement transférée dans l'atmosphère (Miquel, 2001).

Utilisation

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, dans les équipements électroniques et électriques, les lampes, les explosifs, les batteries et les instruments de mesures (Boudou, 1982; Fitzgerald et Clarkson, 1991; Lindqvist, 1991).

Cycle et sources naturelles et anthropiques

Actuellement, Les sources ponctuelles anthropiques sont par ordre d'importance : la combustion des hydrocarbures fossiles, en particulier le charbon, l'incinération d'ordures ménagères et hospitalières, et les procédés industriels (fabrication de la soude caustique, métallurgie nonferreuse, etc.). Les sources diffuses du mercure sont nombreuses : tubes fluorescents, piles, thermomètres, peintures, gaz d'échappement des véhicules, décharges d'ordures, certains dépôts d'armes, sols contaminés et certaines exploitations de gaz naturel (Cossa et Ficht, 1999).

Propriétés biologiques et toxicité

La toxicité aiguë du mercure (introduit sous forme inorganique) pour les mollusques varie de 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ à plus de 5000 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Elle varie en outre avec la température et la salinité du milieu: elle augmente généralement avec la température et à faible salinité (Marchand et Kantin, 1997). Le mercure est donc considéré comme un élément extrêmement toxique pour la vie aquatique puisque les doses létales les plus basses sont inférieures à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ à certains stades du développement d'espèces déjà constatées comme très sensibles (Gesamp, 1997).

2.3- Récolte et traitement des échantillons

2.3.1-Technique d'échantillonnage

Dans le cadre de notre étude les moules récoltés présentent 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 0 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 toxiques, et les échantillons doivent être collectés de manière à minimiser les perturbations de cette espèce étudiée.

2.3.2- Protocole de contamination des moules

Les moules *M. galloprovincialis* ont été pêchées, acclimatées dans l'eau de mer pendant 15 jours. Dans 5 aquariums (23.5 cm x 40cm x 29cm³), 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 du mercure (CdCl₂ et HgCl₂) 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.

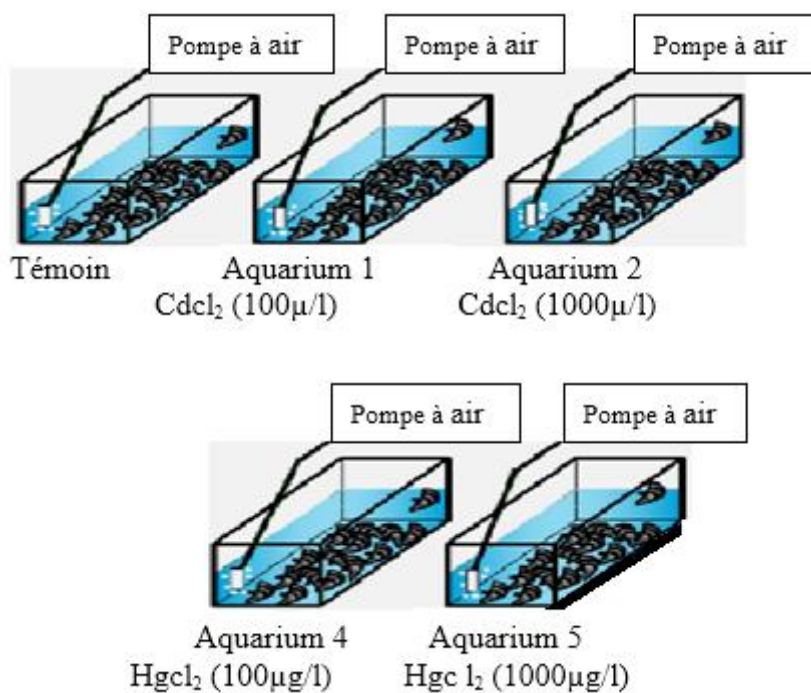


Figure 8 : dispositif expérimental utilisé pour le teste de toxicité

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) (Branchies et glande digestives) ont été prélevés et vont servir aux dosages du GSH, un deuxième groupe (n=3 par organe), servira au analyses des métaux lourds (cadmium et mercure) et un troisième groupe n=2 par organe) servira aux analyses histologiques.

2.5- Paramètres étudiés

2.5.1 Dosage du cadmium et du mercure

Tous les échantillons minéralisés et filtrés sont transférés dans des flacons en verre puis transportés jusqu'au Laboratoire de Chimie industriel du GNL (SONTRACH - SKIKDA) où le dosage du métal étudiés (Cd) est effectués par le Spectromètre d'Absorption Atomique (SAA).

- Spectrométrie d'Absorption Atomique

La Spectrophotométrie d'Absorption Atomique est une méthode d'analyse quantitative s'adressant essentiellement aux métaux, basée sur la propriété des atomes de l'élément à doser, qui peuvent absorber des radiations de longueurs d'ondes déterminées.

L'élément à doser doit être en solution diluée, la lampe à utiliser doit émettre des photons dont l'énergie correspond à l'excitation d'un atome (lampe à cathode creuse mono-élément), la chaleur nécessaire pour faire passer l'échantillon à l'état gazeux et placer l'élément à doser dans un état « fondamental » est généré par une flamme ou un four de graphite. Les atomes excités par la source absorbent son énergie, la disparition du signal est répercutée via des systèmes optiques puis détectée et amplifiée. Nous avons mesuré une absorbance, l'intensité de l'absorption atomique qui est proportionnelle au nombre d'éléments atomisés et excités.

Le spectromètre doit être préalablement étalonné : l'absorption est convertie par l'appareil en absorbance (ABS) qui est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser. Nous avons tracé une droite d'étalonnage ABS obtenue pour la solution étudiée, ce qui permet d'en déterminer la concentration.

2.5.2 Dosage des paramètres du stress oxydatif

. Préparation de l'homogénat de tissus

Un gramme de branchie et de glande digestive (n=3) ont été broyés. Après homogénéisation des tissus dans 2 ml de solution (TBS : Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) à 1 :2 (P/V), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservé -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydant.

. Dosage des protéines

Le réactif de Bradford développe en présence de protéines une coloration bleue quantifiable à 595 nm, et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon.

Principe :

Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide ortho phosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon, elle est mesurée à 595nm (à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible Jenway 6305).

Mode opératoire:

- Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
 - Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
 - Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
 - Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc (H₂O à la place de l'homogénat).
 - La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- Calcule de la concentration des protéines :
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions .

Dosage du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion (GSH) est réalisé selon la méthode de Jollow et *al* (1974).

Principe :

Ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-marcapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque par les groupements (-SH) du glutathion.

Principe de dosage du glutathion.**Mode opératoire :**

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- Prélever 0.8 ml de l'homogénat
- Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide salicylique (0.25%)

- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace
- Centrifuger à 9000g pendant 5min
- Prélever 0.5 ml du surnageant
- Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA (contenant 0,02 M d'EDTA, pH 9.6)
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

Calcul de la concentration :

La concentration du GSH est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/mg proteines}) = (\text{DO} \times 1 \times 1.52513) / (100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg proteines}).$$

- DO: Densité optique
- 1 : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8ml homogénat, 0.2ml SSA).
- 1.525 : volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1ml tris + 0.025 ml DNTB).
- 13.100 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement –SH à 412 nm).
- 0.8 : Volume de l'homogénat après déprotéinisation.
- 0.5 : Volume de surnageant trouvé dans 1.525 ml.

2.6 -Etudes histologique:

- Principe:

Les coupes histologiques de la glande digestive et des branchies des moules *Mytilus galloprovincialis* a été effectuée au niveau de l'hôpital de Skikda au sein du service Anapath. Afin, de confirmer les altérations tissulaire ont utilisant un microscope optique pour la lecture des lames. La technique nécessite la conservation des tissus frais de la glande digestive et des branchies dans des tubes contenant du formol dilué à 10%. Ainsi suivre les étapes succédées de la technique: fixation, inclusion, coupe, coloration et montage.

- Fixation:

La fixation permet la conservation des structures et le durcissement des pièces, par immersion de l'échantillon dans un grand volume de liquide fixateur, les échantillons séjournent un jour dans un appareillage (automate). D'abord, une déshydratation par immersion successives dans des bains d'alcool à degré croissant (30 minutes dans un bain d'alcool à 70°, deux bains successifs de 15 minutes dans de l'alcool à 95° puis trois bains de 30 minutes dans de l'alcool à 100°). Ensuite, l'alcool est remplacé par du toluène (trois bains de 15 minutes chacun).

- Inclusion (Enrobage):

Une seconde étape, dont les échantillons sont placés dans une l'étuve portés dans un moulage de paraffine liquide. Après refroidissement, des blocs de paraffine durs ont été obtenus, à l'intérieur desquels se trouvent les échantillons inclus et orientés selon un plan de coupe choisi.

- Coupe:

Les coupes des blocs de paraffine, ont été réalisées à l'aide d'un microtome, avec une épaisseur de 6µm. Ensuite, elles sont collées sur des lames de verre grâce à de l'eau albumineuse.

- Coloration:

Les lames doivent être déparaffinées avant de les réhydratées (coloration à l'hématoxyline-éosine). Le déparaffinage consiste à chauffer les lames, jusqu'à fusion de la paraffine, avant de les immerger dans trois bains successifs de toluène en suite les colorées selon les étapes suivant:

-Montage:

Après avoir subi une nouvelle déshydratation (deux bains d'alcool à 95° et 100°, trois bains de toluène), les lames colorées sont montées entre lames et lamelles avec une résine synthétique pour une bonne conservation des échantillons à long terme. Les lames sont alors prêtes pour être observées au microscope.

-Observation:

L'observation des coupes histologiques a été réalisée avec un microscope optique avec le grossissement (×10 et ×40). La prise de l'image au niveau du champ microscopique a été assurée à l'aide de l'appareil photo du portable.

2.7 -Analyse statistique:

Les moyennes et les écarts type ($\mathbf{m} \pm \mathbf{s}$), 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 du GSH et la bioaccumulation des deux métaux (Cd et Hg). Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement des données version 17 '(Dagnelie, 1999).

**RESULTATS
&
DISCUSSION**

3- RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1- RESULTATS

Les expériences *in vivo* permettent d'obtenir des effets précis en conditions contrôlées. Nous avons donc contaminé en laboratoire les moules *Mytilus galloprovincialis* par le cadmium ou le mercure. Dans ce travail, les concentrations en polluants choisies et ajoutées au milieu sont bien supérieures à celle du milieu naturel, ce qui nous permet d'avoir des effets plus marquants

3.1.1- Accumulation des métaux chez *Mytilus galloprovincialis*

Accumulation du cadmium au niveau des branchies

La bioaccumulation du Cd au niveau des branchies de *Mytilus galloprovincialis* montre une augmentation hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les traités par 100 $\mu\text{g/l}$ et très significative ($P \leq 0.001$) chez les traités par 1000 $\mu\text{g/l}$ par rapport aux témoins.

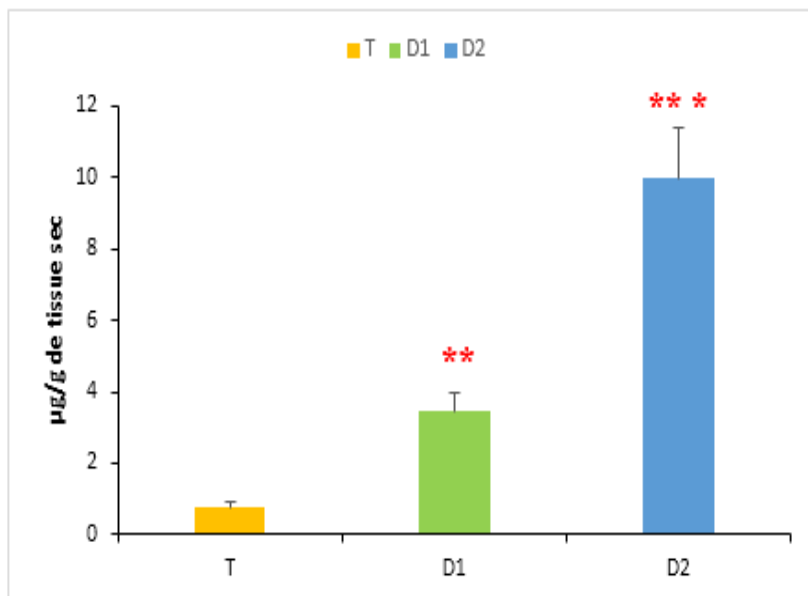


Figure 09: Bioaccumulation du Cd ($\mu\text{g/g}$ du tissu sec) au niveau des branchies de *Mytilus galloprovincialis* traité par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$

Accumulation du Cadmium au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*

La concentration du cadmium au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* montre une augmentation non significative chez les traités par 100 $\mu\text{g/l}$ et une augmentation hautement significative chez les traités par 1000 $\mu\text{g/l}$ et comparativement aux témoins.

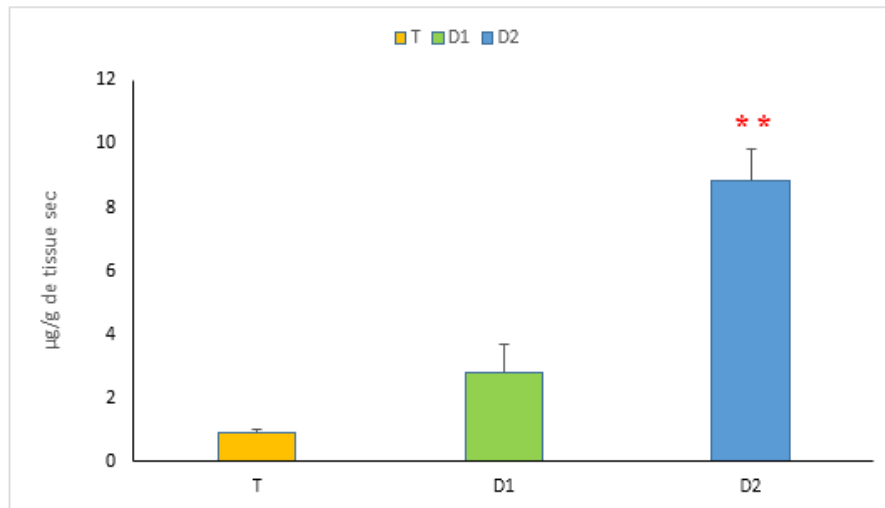


Figure 10 : Bioaccumulation du Cd au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$.

Accumulation du mercure au niveau des branchies de *Mytilus galloprovincialis*

La bioaccumulation du Hg au niveau de la branchies de *Mytilus galloprovincialis* montre une augmentation non significative ($P \geq 0.05$) chez les traités par 100 $\mu\text{g/l}$ et hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les traités par 1000 $\mu\text{g/l}$ comparativement aux témoins.

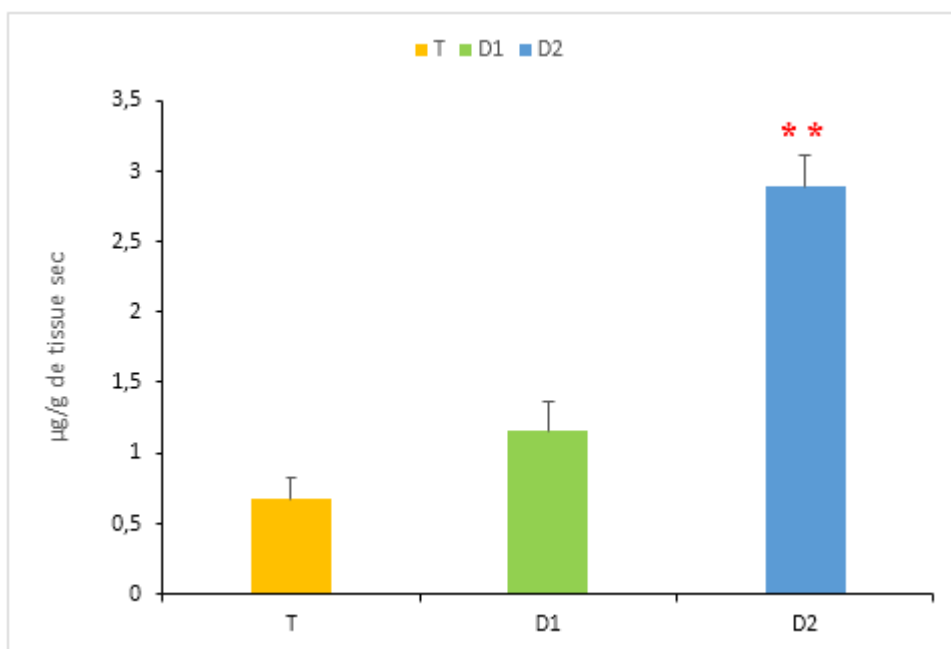


Figure 11 : Bioaccumulation du Hg au niveau des branchies de la de *Mytilus galloprovincialis* traités par 100 et 1000µg/l.

Accumulation du mercure au niveau des de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*

La bioaccumulation du Hg au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* montre une augmentation significative ($P \leq 0.05$) chez les traités par 100 µg/l et hautement significative ($P \leq 0.01$) chez les traités par 1000 µg/l par rapport aux témoins.

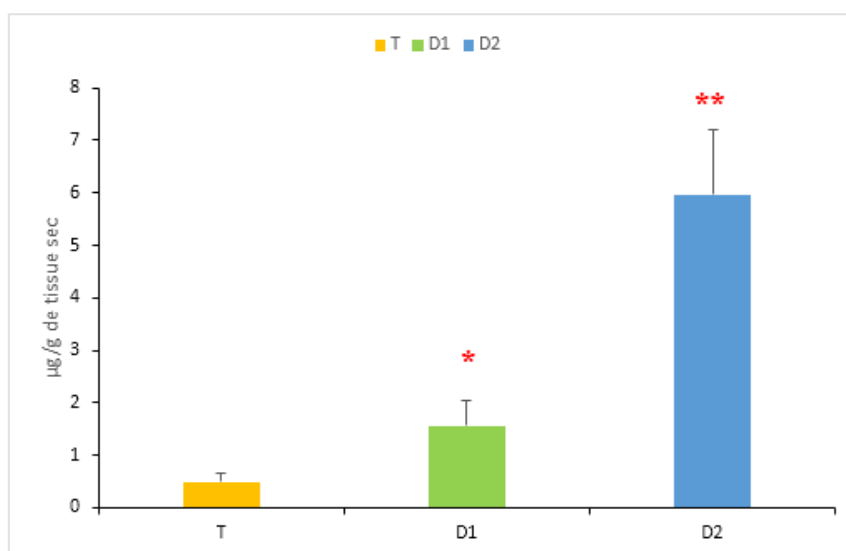


Figure 12 : Bioaccumulation du Hg au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traités par 100 et 1000µg/l.

3.1.2- Effet des métaux lourds sur les taux du GSH

Effet du cadmium sur les taux du GSH

L'effet du cadmium sur le taux de Glutathion (GSH) au niveau des branchies entraîne une diminution significative ($P \leq 0.05$) chez les traités par 100 $\mu\text{g/l}$ et une diminution très significative ($P \leq 0.001$) chez les traités par 1000 $\mu\text{g/l}$ par rapport au témoins

Le traitement au Cadmium entraîne une niveau de la glande digestive une réduction non significative ($P \geq 0.05$) chez les traités par 100 $\mu\text{g/l}$ et une réduction significative ($P \leq 0.05$) chez les traités par 1000 $\mu\text{g/l}$ par rapport aux témoins..

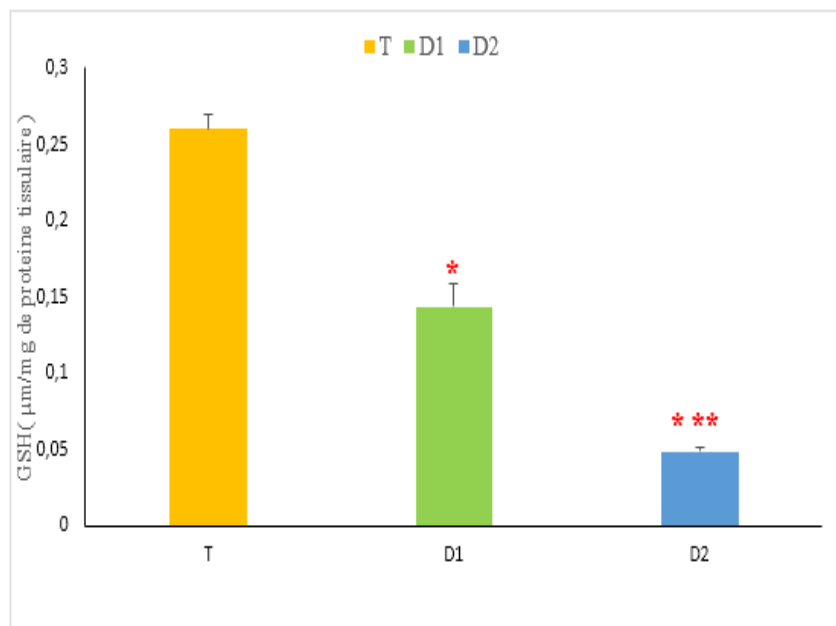


Figure 13 : Taux du GSH ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines tissulaires) au niveau des branchies de *Mytilus galloprovincialis* traités par le Cd.

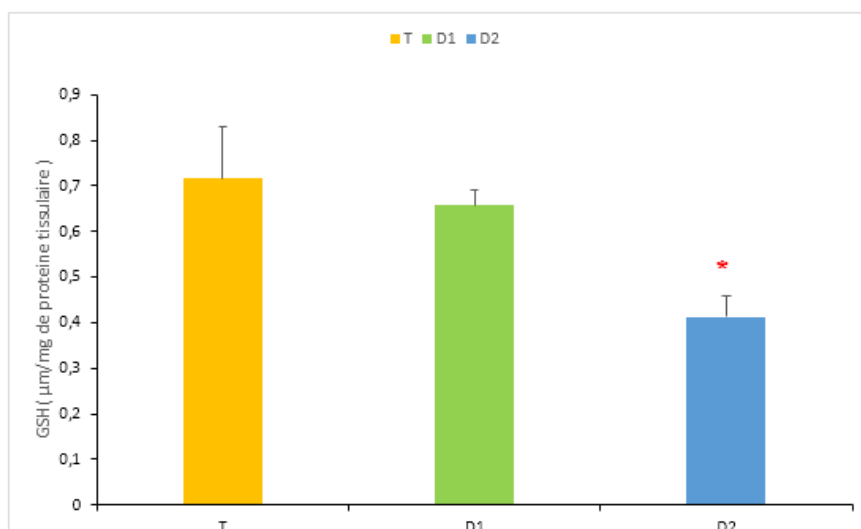


Figure 14: Taux du GSH ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines tissulaires) au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traités par le Cd.

Effet du mercure sur les taux du GSH

Le traitement par le mercure entraîne une diminution significative ($P \leq 0.05$) du taux du GSH au niveau des branchies et la glande digestive chez les traités par les deux doses 100 et 1000 $\mu\text{g/l}$ comparativement aux témoins.

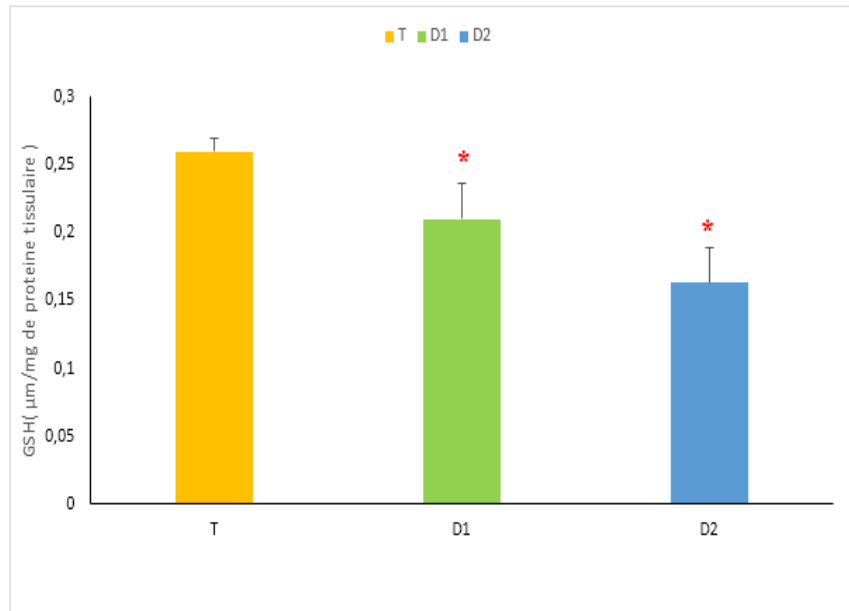


Figure 15 : Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau des branchies de *Mytilus galloprovincialis* traités par le Hg.

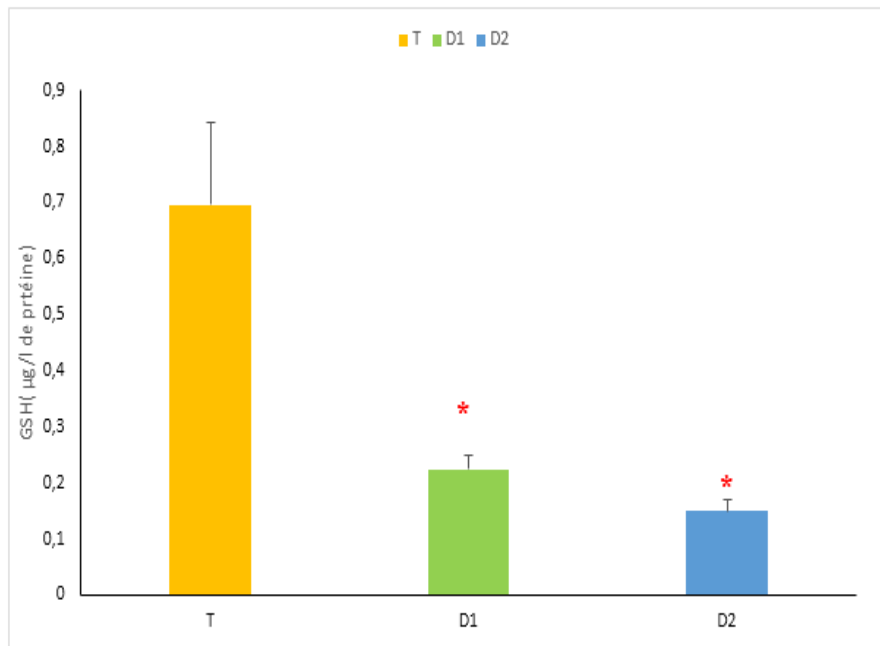


Figure 16 : Taux du GSH ($\mu\text{g/mg}$ de protéines tissulaires) au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Hg.

3.1.3- Examen des coupes histologiques des branchies et de la glande digestive chez les traités par le cadmium et le mercure

Observation des coupes histologique des branchies

LA figure (17) présente des coupes histologiques effectuées au niveau des branchies témoin chez la moule *Mytilus galloprovincialis* normale.

L'organe branchial est recouvert d'un épithélium, constitué de deux lames, externe et interne, qui figurent classiquement un W en section transversale. Ces lames sont soutenues par un tissu conjonctif et sont composées de multiples filaments repliés, Chaque filament branchial est recouvert de cils frontaux (Morad *et al.*, 2023) qui sont associés par des brosses ciliaires et forment des feuillets ; un feuillet descendant (ou interne) en regard du pied et d'un feuillet ascendant (ou externe) situé du côté du manteau (Yonge, 1926 ; Owen, 1973; Sunila, 1987 ; Gosling, 2003). Les deux feuillets de chaque lame sont séparés l'un de l'autre par une étroite cavité inter foliaire qui s'étend sur la moitié environ de la hauteur des feuillets. Un septum inter foliaire occupe la région terminale. Sur le bord marginal des lames, existe une gouttière alimentaire qui parcourt toute la longueur de la branchie. A la base, un profond sillon alimentaire parcourt aussi toute la longueur des lames branchiales. Selon la figure on peut voir que tous les filaments sont disposés en séries, parallèles entre eux. Ils sont tous bâtis sur le même type.

L'examen microscopique des coupes histologiques au niveau des branchies des moules traités par le cadmium et le mercure, pendant 21 jours a révèlé une destruction des cils labiaux chez les traités par le cadmium à 100 µg/L (dose 1) , figures (9). et l'apparition d'infiltra inflammatoire chez les traités par la même dose de mercure, figures (11).

A la dose 2 (1000 µg/L) , figures (10 et 12), des altérations bien marqués ont été observées, avec apparition d'infiltra inflammatoire fait référence à une réponse des stimuler inflammatoire et des infections marquées par la présence de cellules immunitaire (comme les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes qui migrent vers les tissus branchiaux accompagner par la présence des plasmocytes qui permet de secréter de grande quantité d'anticorps, c'est un signe d'une sévère info plasmocytes) les infiltrats inflammatoire sont plus marquées chez les traités par le mercure.

Une dégénérescence et déformation de lamelle branchiales, associés à des infections et des inflammations tissulaires, aussi une nécroses membranaire sévère a été observé au niveau des tissus conjonctif, indiquant une mort cellulaire accompagne par la présence des débris cellulaires (les cellules mortes se désintègre et se dégradent, laissant des débris cellulaires résiduels.

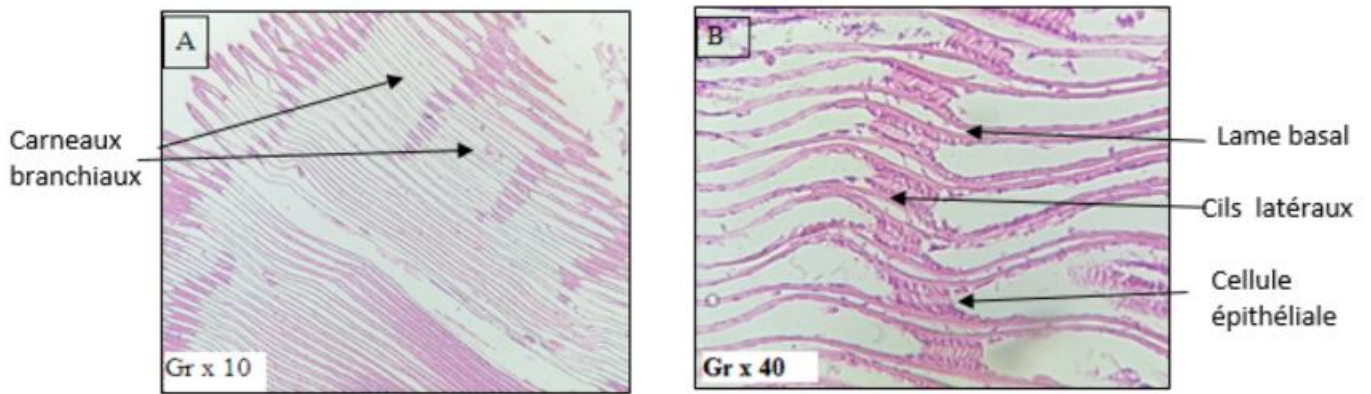


Figure 17 (A et B) : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies témoin de *Mytilus galloprovincialis*

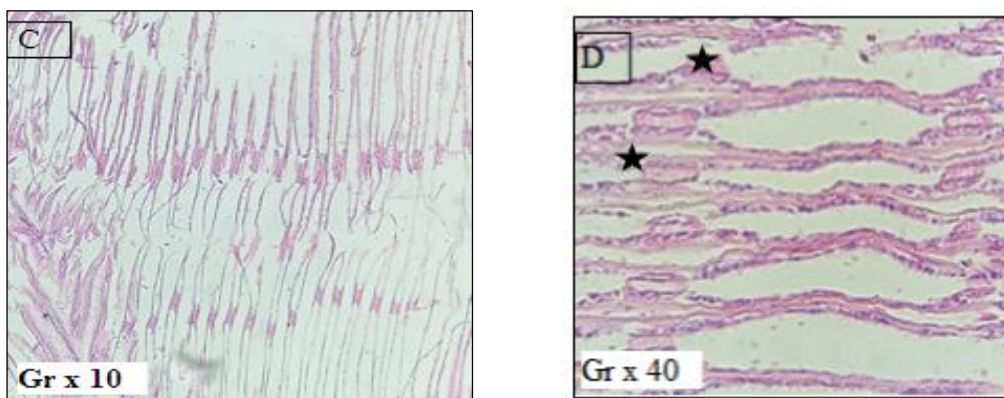


Figure 18 C et D : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Cd à 100mg/

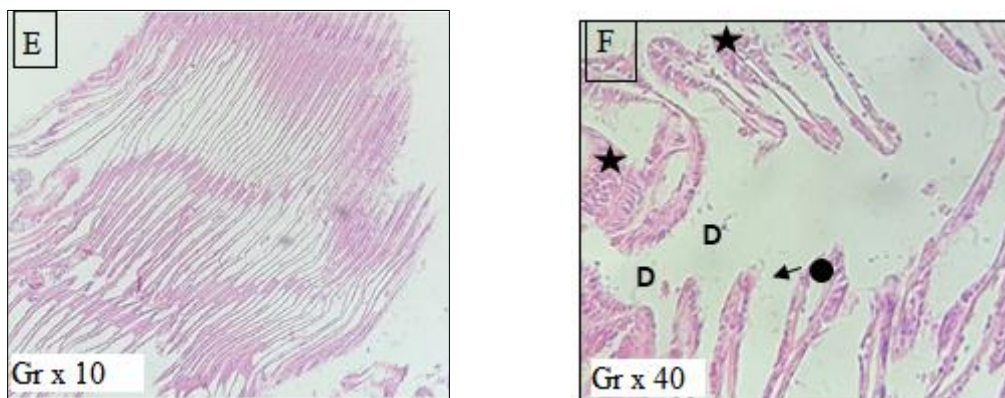


Figure 19 E et F : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Cd à 1000 µg/l

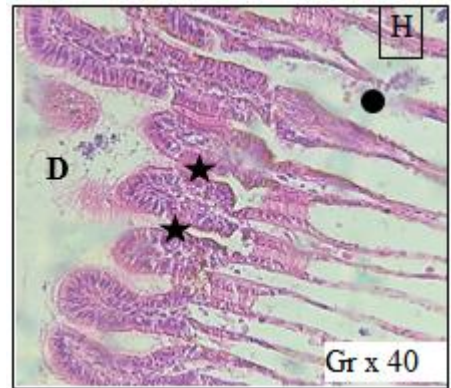
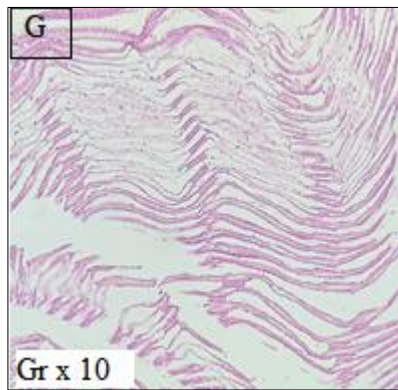


Figure 20(G et H) : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Hg à 100µg/l

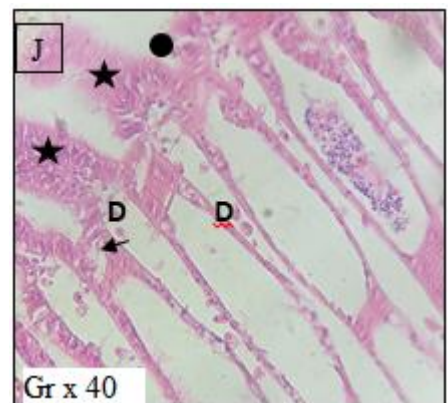
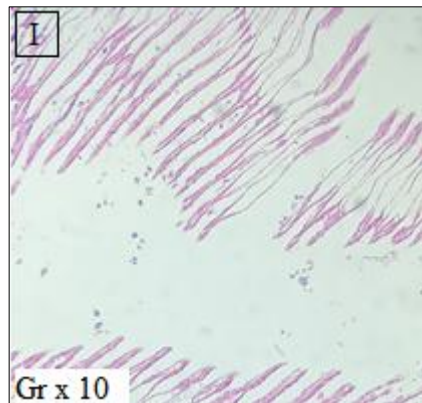


Figure 21 (I et J) : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de branchies de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Hg à 1000µg/l

- ★ Infiltra inflammatoire
- D Débris cellulaires
- Nécroses cellulaires
- ← Destruction des cils

Observations des coupes histologiques de la glande digestive

La figure (22), montre des coupes histologiques effectuées au niveau de la glande digestive, témoin.

La glande digestive des moules témoin, est constitué d'un épithélium digestif constitué des lobules formant un ensemble d'acini maintenus cohérents par un tissu conjonctif.

Cependant chez les lots traités cette structure cellulaire présente des altérations visibles se manifestant par une Rétrécissement cellulaire, des acini présentant une lumière rétrécis et un contour irrégulier chez les traités par la dose 1. A la dose 2 (Fig 23), le tissu conjonctif, les tubules digestifs et leurs membranes sont sévèrement endommagées, avec des structures cellulaires nécrosées (Fig 24.) et ceux pour les deux métaux étudié.

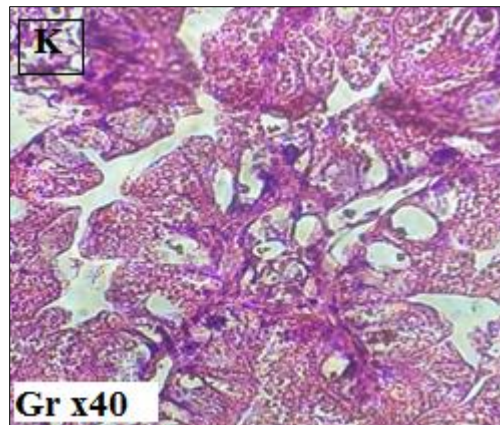


Figure 22 (K) : Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande digestive témoin de *Mytilus galloprovincialis*

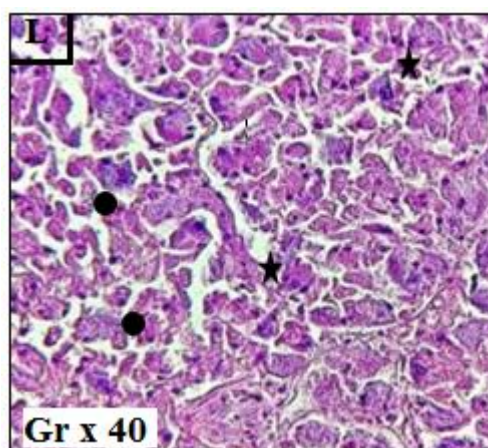


Figure 23 (L) Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Cd à 100µg/l

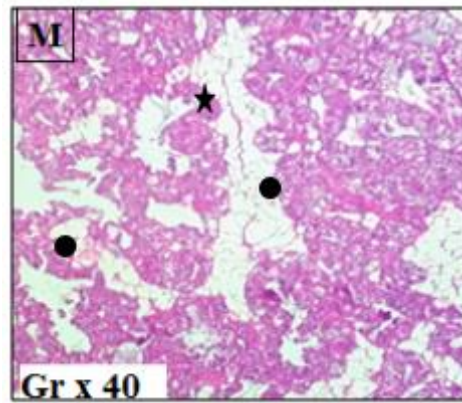


Figure 24 (M) Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Cd à 1000µg/l

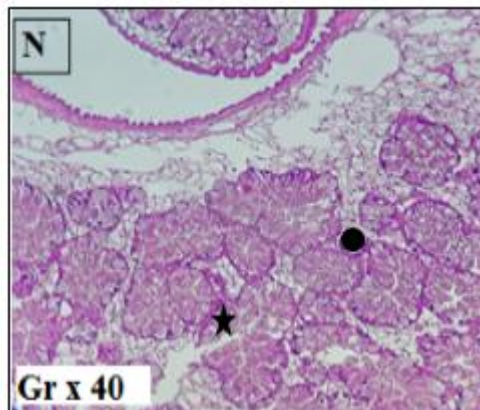


Figure 25 (N) Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Hg à 100µg/l

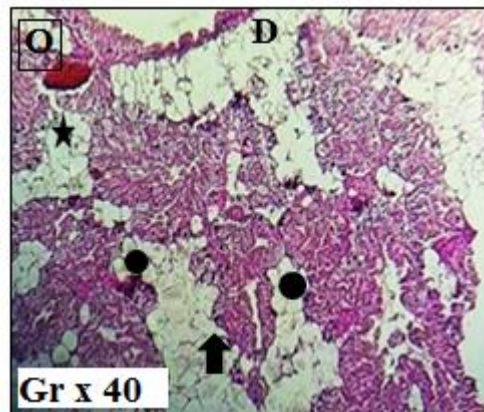


Figure 26 (O) Observation au microscope photonique d'une coupe histologique de glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité par le Hg à 1000µg/l

★	Infltra inflammatoire
D	Débris cellulaires
●	Nécroses cellulaires
↑	Rétrécissement cellulaire

3.2- Discussion

Les métaux lourds sont considérés comme de véritables agents toxiques, perturbant certains systèmes enzymatiques et également les activités métaboliques et physiologiques chez l'homme et l'animal (Grara *et al.*, 2012.) . Ces composés engendrent des radicaux oxygénés (tels que le puissant radical hydroxyle OH) toxiques au niveau cellulaire qui sont à l'origine du phénomène connu sous le terme plus général de « stress oxydatif ». Chez les mollusques, les métaux lourds peuvent induire un état de stress général, entraînant la réduction de leurs capacités d'adaptation à l'anoxie (Grara *et al.*, 2015).

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

Accumulation du cadmium et du mercure

Au cours de cette étude, une augmentation de la bioaccumulation de cadmium et du mercure avec les concentrations de métaux testés a été observée chez les moules contaminés, ce qui reflète la capacité de *M. galloprovincialis* à bioaccumuler ces métaux aux niveaux des branchies et de la glande digestive.

La capacité bioaccumulatrice des bivalves exposé a une contamination métallique soit au laboratoire soit dans leur milieu naturel a été mise en évidence chez plusieurs espèces telles que *R. decussatus*, *C. fluminea* et *Perna viridis* (Bazouche, 2008 ; Mouabad, 1991 ; Essedaoui, 2001).

Chez les bivalves, l'accumulation des polluants en particulier les métaux est élevée dans les branchies et les glandes digestives qu'au niveau d'autre organes (Vasanthi *et al.*, 2012). Dû aux différences de surface de contact des tissus mous avec l'eau de mer et aux différences d'affinité entre les sites de liaison des métaux et de la métallothionéine dans différents tissus mous (Viarengo *et al.*, 1985). Ainsi aux différents taux d'accumulation et d'excrétion des polluants dans différents tissus mous. La glande digestive de la moule est considérée comme un organe vital pour la détoxification des xénobiotiques dans le milieu marin. Comme dans beaucoup d'autres mollusques, la glande digestive s'est révélée être le principal organe d'accumulation de métaux (Marigomez et Ireland l'année 1989), Les branchies et le glande des bivalves sont sensibles aux polluants environnementaux et couramment utilisées comme organes cibles dans les études éco toxicologiques (Gornati *et al.*, 2016)..

Effet de cadmium et du mercure sur Le taux de GSH

L'organisme possède des potentiels mécanismes de défense cellulaire non enzymatique contre ce stress oxydatif, parmi eux le glutathion réduit (GSH).

Ce tripeptide (L - γ -glutamyl-L-Cysteinyl glycine) joue un rôle crucial dans les processus de défense antioxydant (Arrigo, 1999), c'est le composé thiol intracellulaire majeur. Il assure la protection des structures cellulaires et tissulaires (Yo *et al.*, 1993 ; Michelet *et al.*, 1995).

De plus, le glutathion réduit est un cofacteur de plusieurs enzymes, qui catalysent la détoxification et l'excrétion de divers composés toxiques. Il agit en tant que donneur d'électrons et permet ainsi la désactivation des ROS (Deneke et Fanburg, 1989 ; Winterbourn et Munday, 1990 ; De Leve et Kaplowitz, 1991).

Cependant, les résultats obtenus révèlent une diminution significative du taux de GSH dans les branchies et la glande digestif des moules traité par le Cd pour les deux doses (100 μ g/g et 1000 μ g/g) par rapport au témoin. Egalement, des observations presque semblables ont été signalées dans les deux organes des individus traités par le Hg pour les deux doses par rapport aux témoins.

Des auteurs suggèrent que cette diminution du GSH serait due à l'augmentation des activités de l'enzyme phospholipide hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) au cours de la qu'elle le GSH jouerait le rôle de donneur d'électrons (Freed-Man *et al.*, 1989).

Effet de cadmium et du mercure sur l'histologie de la glande digestive et de la branchie

Après avoir mis en évidence la bioaccumulation importante des deux métaux au niveau des deux organes de la moule, il s'est avéré nécessaire de mettre en évidence les impacts tissulaires potentiels au niveau de la glande digestive et des branchies.

La branchie de la moule représente à l'instar de nombreux organismes aquatiques un organe cible pour plusieurs contaminant qui s'accumulent dans leur tissu, en raison de son contact directe et permanent aux xénobiotiques vitaux présents dans l'eau. Cette sensibilité est liée à leur multiples fonctions et à leur position anatomique. Agissant comme première barrière face aux polluants. (Giamberini *et al.*, 1993)

Nos résultats suggèrent que l'exposition à deux doses de (100 et 1000 μ g/L) de cadmium et mercure pendant 21 jours, montrent des altérations sévères et importantes caractérisé par une infiltration hémocytaires, associées à la présence d'hémocytes atypiques, dans le tissu conjonctif des branchies. Ceci pourrait être une première réponse biologique due à la présence et la diffusion des xénobiotiques. Selon l'explication de Fabienne Le Grand en (2014), l'infiltrat se traduit par le rassemblement des cellules immunitaires dans la zone altérée, ces cellules (macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, plasmocytes et

hemocytes) libèrent des médiateurs chimiques tels que les cytokines et les prostaglandines, qui signalent et amplifient la réponse inflammatoire, ces médiateurs chimiques provoquent une vasodilatation, conduisant à une augmentation du flux sanguin vers la zone affectée. Cela entraîne une accumulation de liquide et de cellules immunitaires dans les branchies, associée généralement par des lésions cellulaires entravant la fonction respiratoire normale de la moule.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés chez les huîtres exposées à un environnement contaminé, par des métaux lourds tels que le plomb et le cuivre (Li *et al.*, 2020), ses résultats montrent une infiltration inflammatoire au niveau des tissus branchiales, accompagnée par des dommages cellulaires, des lésions au niveau des cellules épithéliales, des accumulations de mucus et des modifications de l'architecture des branchies. L'étude de Asharani *et al.* (2011) a comparé l'effet de deux types de nanoparticule, les AgNPs et les ZnONPs sur la moule verte *Perna Viridis*, cette recherche suggère que la toxicité des NPs variait en fonction de leur état de valence, ils ont constaté des altérations au niveau des filaments labiaux des branchies et des tissus hépatiques. Une augmentation du stress oxydatif ce qui indique un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense anti-oxydants, cette perturbation de l'équilibre redox peut contribuer aux dommages cellulaires et tissulaires observés.

La mort cellulaire observée dans notre étude s'agit de l'ensemble des lésions dégénératives et de la nécrose, leur aspect est les modifications morphologiques irréversibles des cellules branchiales et des dommages sur le noyau et le cytoplasme. La nécrose n'est manifeste que plusieurs heures après la mort cellulaire, elle apparaît sous forme de réaction inflammatoire autour des cellules nécrosées (Francois *et al.*, 2012). L'étude de Sunila *et al.* (1988) a montré des réactions inflammatoires plus sévères au niveau de la branchie de *Mytilus edulis* confrontée à des contaminants métalliques tels que $CdCl_2$, $CuCl_2$, PbO_2 , $AgNO_3$. Par ailleurs chez la même espèce exposée à des composés organiques du type PCB, l'auteur rapporte des phénomènes de dilatation, des espaces intercellulaires et la perte des cils latéraux.

La glande digestive joue un rôle important dans la digestion des aliments et représente le principal site d'accumulation et de détoxification de plusieurs types de contaminants (métaux, lourds...) (Arockia Vasanthi *et al.*, 2012).

L'observation des coupes histologiques des glandes digestives et de *Mytilus galloprovincialis* traités par le Cd et le Hg aux doses 100 µg/l et 1000 µg/l a montré des architectures tissulaires altérées.

Ces altérations révèlent des tubules présentant une lumière dilatée contenant généralement des débris cellulaires, un rétrécissement épithélial, des nécroses cellulaires (NC) et présence d'infiltration hémocytaire dans le tissu interstitiel des glandes. ces résultats converge avec les dommages tissulaires marquées par (Neff *et al.*, 1987) chez *Perna viridis* et les moules exposées aux métaux lourds *Mytilus edulis* (Wedderburn *et al.*, 2000).

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

4- Conclusion et perspectives

La contamination métallique des milieux aquatiques peut augmenter significativement. Au-delà d'une certaine concentration (parfois très faible) dans le milieu, les métaux ont des effets néfastes. Une telle contamination par les métaux lourds peut causer des accumulations le long de la chaîne alimentaire.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la bioaccumulation de deux métaux traces (Cd et Hg) et les effets toxiques qu'ils induisent sur le taux de GSH au niveau de deux organes cibles la glande digestive et les branchies 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 organes considérés pour vérifier l'impact tissulaires..

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

- Un potentiel d'accumulation important de Cd et Hg dans les deux organes analysés (branchie et glande digestive) et d'une manière dose-dépendante, l'accumulation du Cd se fait préférentiellement au niveau des branchies et celle du mercure se fait au niveau de la glande digestive.

- Chez les traités par les deux métaux on a noté une déplétion des taux de GSH responsables de la métabolisation de nombreux xénobiotiques, est considéré comme un bon biomarqueur de défense.

- L'analyse histologique des glandes digestives et des branchies montre des altérations bien marquées particulièrement aux fortes concentrations testées de deux métaux.

Le tissu branchiale de la moule révèle des déformations des lamelles branchiales, des infections et des infiltrats inflammatoires. Ce qui confirme la sensibilité de l'espèce vis à vis les deux métaux.

La glande digestive présente des lumières tubulaires rétrécies avec un contour irrégulier, des infiltrats inflammatoires et quelques débris cellulaires. Cela est lié à la capacité des éléments métalliques à induire des stress oxydatifs, à perturber les membranes cellulaires et déclencher des réponses inflammatoires.

En perspectives

il serait intéressant de :

- Connaitre l'impact d'autres métaux lourds sur cette moules afin de déterminer son éventuelle aptitude à dépolluer les milieux pollués par ces mêmes métaux.
- Étudier la réponse antioxydant par la mesure d'autres bio marqueurs comme le catalase .GST.MDA.
- Compléter ce travail par une étude comparative entre les résultats observé chez *M.galloprovincialis* et d'autre espèce aquatiques utilisé comme bio indicateur de contamination métalliques .

REFERENCES

Références Bibliographiques

A

Abele, D., Pantarulo, S., 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp, Biochem. Physiol.*, 138A: 405- 415.

Andral, B., 1997. Réseau intégrateurs biologiques. Etude de contamination chimique du milieu littoral méditerranéen. *Rapp. IFREMER/DEL/TL* pour le compte de l'Agence de l'Eau Méditerranée Corse. 52 p. + annexes.

Asharani, P. V., Serina, N. G., Hande, M. P., 2011. Valence state-dependent toxicity of nanoparticles in the mussel, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), 415-424.

Arrigo, A.P., 1999. Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad. Biol. Med.* 27: 936-944 p.

B

Beaumont, A., Cassier, P., 2004. *Biologie Animale, Des Protozoaires aux Métazoaires épithélienneuriens, Tome I*, Dunod, 1998, Paris : 459.

Boudou, A., 1982. Recherches en écotoxicologie expérimentale sur les processus de bioaccumulation et de transfert des dérivés du mercure. Thèse de doctorat d'Etat, Université de Bordeaux 1, pp. 297.

Boudouresque, C.F., 1996. Impact de l'homme et conservation du milieu marin en Méditerranée. 2^e édition. GIS Posidonie publ. Fr. 1-243 p.

Boué, H., Chanton, R., 1962. Biologie Animale. Zoologie I.

Borchardt, T., 1985. "Relationship between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* 85, pp. 233-244.

Brhoumi, B., 2014. Biosurveillance de la pollution de la lagune de Bizerte (Tunisie) par l'analyse compare des niveaux de contamination et de l'écotoxicité des sédiments et du biote. *Ecologie, environnement*. Université de Bordeaux. Français: 350.

C

Chiffolleau, J.F., Claisse, D., Cossa, D., Ficht, A., Gonzalez, G., Guyot, T., Michel, P., Miramand, P., Oger, C., Petit, F., 2001. La contamination métallique, Programme scientifique Seine-Aval, pp. 39.

Cossa, D., 1985. Le cadmium et le mercure en milieu côtier : biogéochimie et utilisation du genre *Mytilus galloprovincialis* comme indicateur quantitatif. Thèse de Doctorat d'état, Université de

Cossa, D., Ficht, A., 1999. La dynamique du mercure. Programme scientifique Seine-Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France, pp. 26.

D

De Leve, L.D., Kaplowitz, N., 1991. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol & Therap.* 52: 287-305 p.

Deneke, S.M., Fanburg, B.L., 1989. Regulation of cellular glutathione. *Am J. Physiol.* 257: 163-73 p.

Duchemin, M., 2007. Validations des outils immunotoxicologiques pour l'étude des effets biologiques des contaminants du milieu marin. [en ligne] Thèse de doctorat en océanologie biologique. Université de Bretagne occidentale-Brest, 293p. Format PDF. Disponible sur : <[https://tel.archives.ouvertes.fr / tel .00256657](https://tel.archives.ouvertes.fr/tel-00256657)> (consulté le 2/04/2020) –

Duquesne, S., 1994 - Bioaccumulation métallique et biomarqueurs : les métallothioneines. *Analisis Magazine.* Volume 22, n°1. France. 20-23 p.

Dewes, L.J., Sandrine, J.Z., Monserrat, J.M., Yunes, J.S., 2006. Biochemical and Physiological responses after exposure to microcystins in the crab *Chasmagnathus granulatus* (decapods, Brachyura). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 65: 201-208.

F

Fabianne, L. G., 2010. Etude des relations entre compositions membranaires lipidiques et fonctions cellulaires: cas des hémocytes de bivalves atteints de néoplasie disséminée. Université européenne de Bretagne occidentale, spécialité chimie analytique, 20-95.

Farcy, E., 2006. Study of the impact of radio nuclides discharges from nuclear industry in the northern Cotentin area on the oyster *Crassostrea gigas*: expression of cellular stress molecular markers; Etude de l'impact des radionucléides rejetés par les installations nucléaires du Nord Cotentin sur l'huitre creuse *Crassostrea gigas*: analyse de l'expression de marqueurs moléculaires de stress.

Fisher, W. S., 1988. Environmental influence on bivalve hemocyte function. In: Fisher, W.S. (Ed.), Disease processes in marine bivalve molluscs. Am. Fish. Soc. Special Publication, pp, 225-237.

Fitzgerald, W.F., Clarkson, T.W., 1991. "Mercury and monomethylmercury: Present and future concerns." *Environ. Health Perspectives* 96, pp. 159-166.

Francois, J.E., Emmanuelle, L., Guyétant, S., 2011. Cours de L2-L3 Médecine pathologie générale, enseignement thématique Biopathologie tissulaire, 21-30

Freedman, J.H., Ciriolo, M.R., Peisach, J., 1989. The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J. Biol. Chem.* 264: 5598-5605 p.

G

Gagniaire, B., 2005. Etude des effets de polluants sur les paramètres hématologiques de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*-interaction entre environnement, mécanismes de défense et maladies infectieuses. Thèse de doctorat option : Océanologie Biologique et Environnement Marin, pp : 377.

Gesamp., 1997. IMO/FAO/Unesco/WMO/WHO/IAEA/UN/Unep. Joint Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution. Report of the Thirty-third session, Working group on the evaluation of the hazards of harmful substances carried by ships, EHS/Feb 97, International Maritime Organization, London.

Giamberini, L., Guerold, F., Noëlle, M. B., Claud, J. P., 1993. Histopathological study of gill of *Dreissena polymorpha pallas* exposed to a new organic molluscicide, 2, 61-70.

Gonzalez, J.L., Chiffolleau, J.F., Miramand, P., Thouvenin, B., 1999. Le cadmium. comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France, pp. 31.

Gosling, E., 2003. Bivalve molluscs –Biology, Ecology and Culture. Blackwell, United Kingdom.

Gosling, E., 2003. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture. Fishing News Books. E. Gosling, Oxford, 443 p.

Grara, N., Atilia, A., Boucenna, M., Berrebbah, H., Djebbar, M. R., Environnement Risque et Santé 11 (2012) 221-229.

Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., Abdemadjid, S., J. Mater., Environ. Sci. 6 (9) (2015) 2596-2603

Guendouzi, Y., 2015. Etude de la qualité de l'eau de mer de la région littorale de Mostaganem à travers deux bioindicateurs *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Paracentrotus lividus* (Lmk). Mémoire de magister en science de la mer. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 71 p.

H

Halliwell, D. B., Gutteridge, J. M., 1999. Free Radicals in Biology and medicine . Oxford University. Press., 936 p

Hecquet, C., 2006. Génotypage moléculaire pour le développement de la carte génétique de la moule bleue: *Mytilus edulis*.

J

Jahangard, S., Williams, M., Mercer, J., Ab Rahim, E., Ingram, B., 2010. A technical report on hatchery production of blue mussel *Mytilus galloprovincialis* at the Victoria Shellfish Hatchery (VSH), Queenscliff - 2008. Department of primary industries

K

Kamel, B., 2014. Laboratory of Natural Products Chemistry and Biomolecules (LNPCB), Department of Industrial Chemistry, Faculty of Technology University of Saad Dahlab at Blida., *P.O. Box 270, 09000 Blida, Algeria.*

Khelil, F. Z., 2007. Evaluation de la contamination de l'eau de mer et d'un mollusque la moule, *Mytilus galloprovincialis* (Lmck, 1819) Pêché du port d'Oran. Magister en Sciences de l'Environnement, Université d'Oran, Al, pp : 182.

L

Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J-C., 1997. . Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In : Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C. et Ramade, F.(eds) Masson, Paris

Lane, T.W., Morel, F.M.M., 2000. "A biological function for cadmium in marine diatoms. Proceedings of the National Academy of Sciences **97**(9), pp. 4627-4631.

Le Pennec, M., Hily, A., 1984. Anatomie, structure et ultrastructure de la branchie d'un *Mytilidae* des sites hydrothermaux du Pacifique oriental. *Oceanol. Acta.* **7** : 517- 523 p.

Lindqvist, O., 1991. "Mercury in the Swedish environment. recent research on causes, consequences and corrective methods." *Water Air Soil Pollut* **55**, pp.261.

Lopez-Barea, J., Pueyo, C., 1998. Mutagen content and metabolic activation of promutagens by molluscs as biomarkers of marine pollution. *Mutat. Res-Fund. Mol. M.* **399** : 3-15 p.

Lubet, P., 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmck.,1819)., *Synop.F.A.O. Pêche* **88**.

Lubet, P., Delongcamp, D., 1969. Etude des variations annuelles des constituants Lipidiques chez *Mytilus Edulis* L. à Luc sur Mer., *C.r. Soc. Biol* (163) : 1110-1112.

M

Marchand, M., Kantin, R., 1997. "Les métaux traces en milieu aquatique." *Océanis* **23**(4), pp.595- 629.

Marigomez, J.A., Ireland, M.P., 1989. Accumulation, distribution and loss of cadmium in the marine prosobranch littorinalittoreal. *Sci. Total Environ.* **78**:1-12.

Martin, M. C., Zwingelstein, G., Jouanneteau, J., 1970. Composition des lipides de différents tissus de *Mytilus galloprovincialis*., *Ann. Inst. Michel Pacha* (2): 27-35.

McDoneld, J. H., Seed, R., Koehn, R. K., 1991. . Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres., *Mar. Biol* (111): 323-333.

MC Cord, J., 1996. Biomarkers of environmental contamination. *Boca Raton Floride, Lewis (Eds)*.

Mikhailov, A.T., Torrado, M., Mendez, J., 1995. Sexual differentiation of reproductive tissue in bivalve molluscs: identification of male associated polypeptide in the mantle of *Mytilus galloprovincialis* k. *Int. J. Dev. Biol.*, 39 (0): 545-548

Michelet, F., gueguen, R., Leroy, P., Wellman, M., Nicolas, A., Sies ,G., 1995. Blood and plasma glutathione measured in healthy subjects by HLPC: Relation to sex, again, biological variables and life habits. *Cein. Chem.* 41(10): 1509-1517 p.

Moore, M. N., Depledge, M. H., Readman, J. W., Leonard, P. D. R., 2004. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutat. Res.* 18 : 247-268.

Miquel, M., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261, p. 360.

O

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.

Owen, G., 1973. The fine structure and histochemistry of the digestive diverticula of the protobranchiate bivalve *Nucula sulcata*. *Proc. R. Soc. Lond.* 183 B : 249–264 p.

P

Pagliassotti, M. J., Davis, S. N., Cherrington, A. D., 1994. The role of the liver in maintaining glucose homeostasis : Austin R.G. Landes Company.

Price, N.M., Morel, F.M.M., 1990. "Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom." *Nature* **344**(6267), pp. 658-660.

R

Ramade, F., 1992. Précis d'écotoxicologie. *Collection d'Ecologie*, **22**, Masson, Paris, pp. 170-171.

S

Saraiva, S., van der Meer, J., Kooijman, S.A.L.M., Witbaard, R., Philippart, C.J.M., Hippler, D., Parker, R., 2012. Validation of a Dynamic Energy Budget (DEB) model for the blue mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 463141-158, doi: 10.3354/meps09801

Seed, R., 1976. Ecology. In: *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge, 13-65

Songy, P., Avezard, J., 1963. Documents pour l'étude des invertébrés (non Arthropodes). Cours de sciences naturelles. Classique Hachette, p : 84.

Sunila, I., 1987. Histopathology of mussels (*Mytilus edulis* L.) from the Tvärminne area, the Gulf of Finland (Baltic Sea). *Ann. Zool. Fenn.* **24** : 55-69 p.

Sureda, A., Box, A., Ensenat, M., Alou, E., Tauler, P., Deudero, S., Pons, A., 2006. Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpenyne. *Comp. Biochem. Physiol.*, **144C**: 191- 196

T

Titrais, E., Kovašikova, Z., Admis, Z., Ungvary, G., 2002. Comparative *in vitro* toxicity of cadmium and lead on redox cycling in type II pneumocytes. *J. Appl. Toxicol.*, **21**: 479- 483.

Theisen, B.F., 1973. The growth of *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) from Disko and Thule district, Greenland. *Ophelia*, **12** (1-2): 59-77, doi: 10.1080/00785326.1973.10430120 URL : <http://www.ineris.fr/hml>, consulté le 10/04/2012. Thèse de doctorat de l'INSA Lyon, France, (1996).

V

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology* 13, 57–149.

Vasanthi, L.A., Revathi, P., Arulvasu, C., Munuswamy, N., 2012. Biomarkers of metaltoxicity and histology of *Perna viridis* from Ennoreestuary, Chennai, southeastcoast of India. *Ecotoxicology and environmental safety*.84 :92-98p

Viarengo, A., Palmero, S., Zanicchi, G., Capelli, R., Vaissiere, R., Orunesu, M., 1985. Role of metallothioneins in Cu and Cd accumulation and elimination in the gilland digestive gland cells of *Mytilusgalloprovincialis*(Lam.). *Mar. Environ. Res.*16 :23-36p.

W

Wade, T.L ; Sericano, J.L ; Gardinali, P.R ; Wolff, G. et Chambers, L., 1998. NOAA's 'Mussel Watch' project : current use organic compounds in bivalves. *Marine Pollution Bulletin.* 37 : 20-26 p.

Winterbourn, C.C., Munday, R., 1990. Concerted action of reduced glutathione and superoxide dismutase in preventing redox cycling of dihydroxypyrimidines, and their role in antioxidant defense. *Free Radic Res Commun.* 8(4-6): 287-93p.

Wedderburn, K., Wohlleben , W., Hisgen, V., Radke, K., Salinas, E., Zok, S., Landsiedel, R., 2000., Acute and chronic effects of nano-and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the *freshwater invertebrate Daphnia magna*. *Chemosphere*, 76, 1356–1365.

Y

Young, Yo, C.L., Liu, C.L., Tsai, C.Y., Sun, K.H., Liao, T.S., W.M. Chen, H.L., Y o, H.S. 1993., Prostaglandin E₂ suppresses phytohemagglutinin -induced immune responses of normal human monoculatr cells by decreasing intracellular glutathione generation, but not due to increased DNA strand breaks or apoptosis. *Aegent Action.* 40: 191-199p.

Yonge, C.M., (1926). The digestive diverticula in the lamellibranchs. *Trans. R. Soc. Edinb.* 54 : 703–718 p.