Bioaccumulation des métaux chez le mytilidae hydrothermal *Bathymodiolus* sp. de la ride médio-atlantique

Nathalie ROUSSE^a, Jacques BOULEGUE^a, Richard P. COSSON^b, Aline FIALA-MEDIONI^c

^a Laboratoire de Géochimie et Métallogénie, Université Pierre et Marie Curie, 4, place Jussieu, 75252 Paris cedex 05, France

^b EP 61-CNRS-ISOMER, 1, rue Gaston-Veil, 44035 Nantes, France

^c Laboratoire Arago, Université Pierre et Marie Curie, B.P. 44, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

(Received 11/06/97, revised 28/04/98, accepted 04/05/98)

Abstract – Bioaccumulation of metals within the hydrothermal mytilidae *Bathymodiolus* sp. from the Mid-Atlantic Ridge. The hydrothermal environment is characterised, among other things, by a high metal concentration, related to the convective sea-water circulation inside the oceanic crust and its interaction with basaltic rocks. The biological communities associated with the hydrothermal system can survive in this toxic environment owing to their ability to regulate their intracellular metal levels by excretion or accumulation of metal ions in non-toxic forms. Various detoxification processes have been previously studied within an hydrothermal organism: immobilisation and precipitation of the metal in lysosomal systems, or binding to specific and soluble ligands such as metallothioneins. The later are heat stable and characterised by a high content of cysteine. The quantification of Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Ag, Ba and Sr in the tissues of the vent mussel *Bathymodiolus* sp. indicates a high accumulation of these metals in two target organs, the gill and the digestive gland. This accumulation is in relation with high concentrations of metallothioneins, but the subcellular distribution of metals indicates a higher contribution of the insoluble compartment for detoxification processes. These results are compared with the literature data about metal bioaccumulation in *Bathymodiolus thermophilus* collected at the Galapagos Rift. © Elsevier, Paris

bioaccumulation / metallothioneins / lysosomes / toxicity / hydrothermal

Résumé – L'environnement hydrothermal est caractérisé, entre autres, par une concentration élevée en métaux, due à la circulation convective de l'eau de mer dans la croûte océanique et à son interaction avec les roches volcaniques. Les organismes vivant à proximité des sources chaudes s'adaptent à cette richesse en métaux sous forme d'ions ou de sels en suspension, soit en maintenant constante leur teneur interne par des processus d'excrétion, soit en les accumulant sous des formes non toxiques. Différents procédés de détoxification ont été mis en évidence chez certaines espèces hydrothermales : immobilisation et précipitation du métal sous forme insoluble, dans les systèmes lysosomiaux, ou fixation à des ligands spécifiques et solubles dont les plus importants sont les métallothionéines, riches en cystéine et stables à la chaleur. Les teneurs en Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Ag, Ba et Sr dans les tissus de *Bathymodiolus* sp., espèce dont la physiologie est encore mal connue, montrent une accumulation importante dans les deux organes cibles, la branchie et la glande digestive. Cette accumulation est associée à des teneurs élevées en métallothionéines, mais la répartition des métaux montre une contribution plus importante du compartiment insoluble, dans les mécanismes de détoxification. Ces résultats sont comparés avec les données de la littérature concernant la bioaccumulation des métaux chez *Bathymodiolus thermophilus* des Galapagos. © Elsevier, Paris

bio-accumulation / métallothionéines / lysosomes / toxicité / hydrothermal

1. INTRODUCTION

Depuis leur découverte en 1977, sur la dorsale des Galapagos [8, 22], les peuplements d'invertébrés associés aux sources hydrothermales ont suscité un intérêt particulier, notamment en raison de la toxicité de ce milieu. L'exploration des dorsales océaniques dans tout le Pacifique, et plus récemment dans l'Atlantique, a montré la généralité de ces peuplements dans tous les sites hydrothermaux. Les mollusques bivalves, mytilidae et vesicomidae, y forment un groupe bien représenté [20, 23]. Des observations en microscopie électronique ont mis en évidence, chez ces organismes, une association symbiotique, révélée par la présence de bactéries autotrophes à l'intérieur des cellules branchiales [3, 16, 21].

Les organismes vivant autour des sources chaudes sont soumis à un environnement caractérisé par une combinaison de facteurs inhabituels, tels que des températures élevées et une richesse exceptionnelle en métaux, sous des formes biologiquement assimilables [9]. La survie des individus, en particulier les sédentaires tels que le mollusque bivalve *Bathymodiolus*, dépend de leur capacité à limiter leurs teneurs internes en éléments ou à accumuler ces éléments sous des formes non toxiques. Il y a peu de données sur l'accumulation des métaux chez les mollusques bivalves hydrothermaux. La toxicité du métal peut être liée à sa teneur ou à sa forme chimique [13] ; Fe, Zn, Cu et Mn sont connus comme biologiquement actifs à faibles concentrations et ils sont essentiels pour la croissance et le métabolisme de ces organismes ; en excès, ces métaux peuvent devenir toxiques. Cd, Ag, Ba et Sr sont connus pour être très toxiques et ne semblent pas impliqués dans le métabolisme de base de ces organismes.

Les mollusques bivalves hydrothermaux développent plusieurs mécanismes de détoxification des métaux :

- 1) immobilisation et précipitation (sous forme insoluble) dans des inclusions paracrystallines et dans des granules inertes, souvent concentrés à l'intérieur des systèmes lysosomiaux [31] ; de tels mécanismes ont été mis en évidence chez *Bathymodiolus* et *Calyptogena*, lors de travaux préliminaires [4-6, 17] ;
- 2) fixation à des ligands spécifiques et solubles, dont les plus importants sont les métallothionéines (MT). Ces molécules font partie d'une classe de protéines, aux caractéristiques bien particulières : elles sont solubles, stables à la chaleur, de faible poids moléculaire (6000-7000 Da chez les mammifères), riches en cystéine (un tiers des 61 acides aminés totaux) et en groupements sulfhydryles, et ne possèdent ni acide aminé aromatique, ni

histidine, ni méthionine [11, 28]. La structure primaire de la protéine est caractérisée par une distribution très déterminée des résidus cystéiques, comme le groupement métal-thiolate : Cys-X-Cys. Ces protéines ont donc une grande capacité de liaison avec certains métaux, comme Zn, Cu, Cd, Ag et Hg. Toutes les métalloprotéines ainsi caractérisées sont appelées des métallothionéines [1, 31].

Les résultats présentés dans ce travail sont des données originales sur la bioaccumulation d'éléments (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Ag, Ba et Sr) chez le bivalve *Bathymodiolus sp.* de la ride médio-Atlantique (site Menez-Gwen 800 m et site Lucky-Strike 1700 m). Ils sont comparés aux résultats de Smith et Flegal [29], obtenus sur un site hydrothermal de la Dorsale des Galapagos. Les protéines de type métallothionéines ont également été quantifiées dans différents tissus de cette espèce en précisant la répartition de certains métaux (Cu, Zn et Cd) entre les ligands intracellulaires insolubles et solubles.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons analysés ont été prélevés dans la zone des Açores (dorsale Atlantique), lors de la mission DIVA 1994, sur deux sites hydrothermaux de profondeurs différentes : Menez-Gwen (37° 0' 30" N) à 800 m et Lucky-Strike (37° 17' 30" N) à 1700 m. Sur les deux sites, les échantillons proviennent d'une même plongée, Di 15 pour Menez-Gwen et Di 18 pour Lucky-Strike.

Les peuplements de ces deux sites sont dominés par une espèce nouvelle de moule (genre *Bathymodiolus*), actuellement en cours de description. Les échantillons ont été disséqués à bord, congelés dans l'azote liquide, puis trois types de tissus (le manteau, la branchie et la glande digestive) lyophilisés et conservés au congélateur jusqu'à l'analyse au laboratoire.

Les résultats obtenus sur une série de moules littorales (type *Mytilus*) prélevées en milieu sain (Méditerranée) ont été utilisés comme référence.

2.1. Dosages globaux des métaux dans les tissus des organismes

Les tissus biologiques, dissous par une attaque à l'acide nitrique concentré et une évaporation à 150 °C, sont analysés en spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (SAAE) pour le Cd et Ag et en spectrométrie d'émission plasma (ICP-AES) pour Fe, Zn, Cu, Mn, Ba et Sr.

Des blancs d'attaque, analysés avec les échantillons, permettent de détecter d'éventuelles contaminations. Les résultats sont donnés en poids de métal par poids de tissu sec.

2.2. Dosage des métallothionéines et compartimentation des métaux Zn, Cu et Cd

Les échantillons sont pesés, puis homogénéisés par broyage mécanique dans du tampon TRIS-HCl (20 mM, pH 8,6), auquel ont été ajoutés différents inhibiteurs de protéases (aprotinine, leupeptine, benzamidine) et du β -mercaptoéthanol. Les protéines ainsi mises en solution dans les échantillons sont centrifugées pendant une heure (10 000 g) ; les composés solubles du surnageant (S1) sont récoltés, dénaturés à la chaleur (75 °C pendant 15 min), puis recentrifugés (10 000 g pendant 10 min) (figure 1). Cette manipulation permet d'isoler les composés thermorésistants, dont les métallothionéines (surnageant S2).

Dans les culots (C1) issus de la première centrifugation, les métaux présents dans les tissus sous des formes inso-

lubles sont analysés en spectrométrie d'absorption atomique en flamme (SAAF) ou électrothermique (SAAE), après attaque par l'acide nitrique 65 %.

Les surnageants S2 permettent, d'une part, la quantification des métallothionéines par polarographie à impulsions différentielles (DPP) [30], en utilisant la technique des ajouts dosés et, d'autre part, l'analyse par SAAF et SAAE des métaux liés aux composés thermostables (Zn, Cu et Cd).

3. RÉSULTATS

3.1. Bioaccumulation des métaux dans les tissus des organismes

Les manteaux présentent des teneurs en métaux souvent plus faibles que celles observées dans les branchies et les glandes digestives (tableau I, figures 2 et 3). Le plus souvent, les teneurs sont plus importantes dans les branchies.

Les métaux les plus abondants sont Fe dans les glandes digestives et Zn et Cu dans les branchies. La teneur en

Figure 1. Méthodologie de l'étude de la bioaccumulation des métaux dans les tissus de *Bathymodiolus* sp.

Figure 1. Methodology used for the study of elemental bioaccumulation within the mollusc *Bathymodiolus* sp.

Tableau I. Concentrations en métaux dans les tissus de *Bathymodiolus* sp. sur les deux sites Açores (Dorsale Atlantique).**Table I.** Metal within *Bathymodiolus* sp. tissues from two Açores sites (Atlantic Rise).

		Fe	Zn	Cu	Mn	Cd	Ag	Ba	Sr
Menez-Gwen	B	144 ± 23	136 ± 34	136 ± 15	4 ± 0,4	4,2 ± 1,4	3,5 ± 0,4	34 ± 30,8	28,2 ± 2,7
	GD	176 ± 40	81 ± 10	65 ± 10	4,6 ± 0,4	10,6 ± 2,3	1,3 ± 0,3	51,4 ± 40,5	23,2 ± 9,4
	M	41 ± 4	49 ± 7	13 ± 3	3,6 ± 0,7	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,3	20,3 ± 6,9	15 ± 2,8
Lucky-Strike	B	347 ± 87	653 ± 281	129 ± 71	4 ± 0,8	5,8 ± 2	1,1 ± 0,3	7 ± 1,4	27,8 ± 4,1
	GD	1161 ± 270	288 ± 40	52 ± 28	4,2 ± 0,3	2,8 ± 1,6	0,7 ± 0,5	10,6 ± 4,3	18 ± 2,4
	M	180 ± 72	79 ± 9	21 ± 10	5,5 ± 1	0,2 ± 0,08	0,1 ± 0,1	27 ± 7,9	27,6 ± 6,9

Les teneurs en métal du tissu sec sont exprimées en $\mu\text{g g}^{-1}$. m : moyenne ; σ_{n-1} : écart type ; B : branchies ; GD : glandes digestives ; M : manteaux.

Concentrations in dry weight are given as $\mu\text{g g}^{-1}$. m: mean; σ_{n-1} : standard deviation. B: gills; GD: digestive gland; M: mantle.

Figure 2. *Bathymodiolus* sp. Teneurs en métaux dans le tissu sec ($\mu\text{g g}^{-1}$) des moules du site Menez-Gwen.**Figure 2.** *Bathymodiolus* sp. Heavy metal concentrations in dry weight ($\mu\text{g g}^{-1}$) within mussels from Menez-Gwen.

Mn est quasiment constante (entre 3 et 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec), quel que soit le tissu. Les teneurs en Cd sont en général supérieures à celles de Ag. Les teneurs en Ba sont très variables d'un site à l'autre. Sr présente la même constance que Mn, avec des valeurs plus élevées.

Les teneurs en Fe et Zn sont beaucoup plus importantes dans les tissus des organismes du site Lucky-Strike, avec en particulier des valeurs très élevées pour Fe dans les glandes digestives (1500 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec). Cd et Ag

s'accumulent davantage dans les branchies ou les glandes digestives, selon le site considéré. Les teneurs en Ba sont du même ordre dans les tissus des organismes du site Lucky-Strike, avec une moyenne un peu plus élevée dans les manteaux. Elles sont globalement plus élevées dans les organismes du site Menez-Gwen, avec des teneurs importantes dans les glandes digestives et faibles dans les manteaux. Pour ce site, la variabilité entre individus est assez grande pour un tissu donné, en particulier dans les

Figure 3. *Bathymodiolus* sp. Teneurs en métaux dans le tissu sec ($\mu\text{g g}^{-1}$) des moules du site Lucky-Strike.

Figure 3. *Bathymodiolus* sp. Heavy metal concentrations in dry weight ($\mu\text{g g}^{-1}$) within mussels from Lucky-Strike.

glandes digestives. Les valeurs moyennes (*tableau I*) ont été calculées en retirant ces valeurs singulières que l'on peut attribuer à l'hétérogénéité du tissu. Les teneurs extrêmes non prises en compte dans ces calculs concernent en particulier Fe ($2884 \mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($170 \mu\text{g g}^{-1}$) et Ag ($10,7 \mu\text{g g}^{-1}$) dans la glande digestive d'un seul individu.

Certains coefficients de variation peuvent rester élevés dans le cas de Cd et Ag, en raison de teneurs très faibles pour l'ensemble des individus analysés.

3.2. Analyse des métallothionéines

De grandes quantités de métallothionéines sont observées dans tous les organes étudiés (branchies et manteaux) de tous les individus des deux sites (*tableau II*). Les teneurs en métallothionéines sont, d'une manière générale, trois fois plus élevées dans les branchies (environ $3500 \mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec) que dans les manteaux (environ $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec) et du même ordre dans les organismes des deux sites.

3.3. Répartition des éléments métalliques Zn, Cu et Cd

La répartition dans un tissu, entre fraction insoluble et fraction soluble, des métaux susceptibles d'être liés à des protéines, varie en fonction du site (*tableau III*). Pour les

Tableau II. Teneurs en métallothionéines dans les tissus de *Bathymodiolus* sp. sur les deux sites "Açores".

Table II. Metallothioneins within *Bathymodiolus* sp. tissues from two Açores sites.

		Branchies	Manteaux
n = 5			
Menez-Gwen	m $\pm$ σ_{n-1}	3824 $\pm$ 794	842 $\pm$ 143
800 m			
Lucky-Strike	m $\pm$ σ_{n-1}	3418 $\pm$ 342	1490 $\pm$ 209
1700 m			

Les teneurs du tissu sec sont exprimées en $\mu\text{g g}^{-1}$. m : moyenne ; σ_{n-1} : écart type.

Concentrations in dry weight are given as $\mu\text{g g}^{-1}$. m: mean; σ_{n-1} : standard deviation.

organismes du site Menez-Gwen, les métaux se retrouvent en majorité dans la fraction soluble, sauf dans le cas du Cu accumulé dans les branchies. Inversement, dans les organismes du site Lucky-Strike les métaux sont plus localisés dans les composés insolubles, avec en particulier la totalité du Cu analysé dans les tissus.

La répartition des métaux au sein de la fraction soluble, entre les composés thermostables (dont les métallothionéines) et les composés thermolabiles, diffère là aussi entre les organismes des deux sites (*tableau III*). Au site Menez-Gwen, Cd est majoritairement associé aux composés thermolabiles dans les deux organes. Zn est fixé par

Tableau III. Résultats de l'étude de la répartition des métaux Zn, Cu et Cd entre les différentes fractions.**Table III.** Distribution of metals Zn, Cu and Cd between the different fractions.

		Zn				Cu				Cd			
		FI	FS	CTS	CTL	FI	FS	CTS	CTL	FI	FS	CTS	CTL
MG	Branchies	32 %	68 %	60 %	40 %	70,5 %	29,5 %	50 %	50 %	43 %	57 %	29 %	71 %
	Manteaux	35 %	65 %	34 %	66 %	31 %	69 %	< 50 %	> 50 %	25 %	75 %	13 %	87 %
LS	Branchies	72 %	28 %	31 %	69 %	100 %	0 %	0 %	0 %	74 %	26 %	53 %	47 %
	Manteaux	82 %	18 %	100 %	0 %	100 %	0 %	0 %	0 %	100 %	0 %	0 %	0 %

MG : site Menez-Gwen; LK: site Lucky-Strike. FI et FS: pourcentage de métaux associés respectivement à la fraction insoluble (granules ou sphérocristaux) et à la fraction fraction soluble, après la première centrifugation. CTS et CTL: pourcentage de métaux de la fraction soluble (FS) associés respectivement aux composés thermo-stables et aux composés thermo-labiles.

MG: Menez-Gwen; LK: Lucky-Strike. FI and FS: percentage of metals respectively associated with the insoluble fraction and the soluble fraction, resulting from the first centrifugation. CTS and CTL: percentage of soluble fraction metals respectively associated with heat-stable compounds and heat-denaturable proteins.

les composés solubles thermostables dans les branchies, et Cu se répartit de manière assez équivalente entre les deux types de composés, quel que soit l'organe considéré. Pour les organismes du site Lucky-Strike, Zn, dans les manteaux, semble lié en totalité aux composés solubles thermostables, mais dans les branchies, il est en majorité dans les composés thermolabiles. Enfin, Cd se retrouve en proportion quasiment égale entre les deux types de composés.

4. DISCUSSION

4.1. Bioaccumulation des métaux

La principale interface entre les organismes bivalves des sources hydrothermales et leur environnement se situe dans les branchies où les métaux, sous forme dissoute, peuvent pénétrer par des phénomènes diffusifs [9]. De plus, contrairement aux vesicomidae, les mytilidés profonds possèdent un tube digestif fonctionnel [18, 19] et la filtration des particules par voie digestive constitue un moyen supplémentaire pour l'entrée des métaux dans l'organisme.

D'une manière générale, les teneurs en métaux sont faibles dans les manteaux, par rapport aux autres tissus. Cette accumulation réduite peut s'expliquer par le rôle plutôt passif du manteau vis-à-vis de l'environnement, puisqu'il sert essentiellement à l'accumulation de réserves et à la sécrétion de la coquille [13, 27]. Seul Ba fait exception et il semble être un métal plus lié au manteau, dans le cas des organismes du site Lucky-Strike. Bien qu'entrant dans la composition de la coquille de ces bivalves, Ba n'est pas connu comme biologiquement

actif. Chimiquement, il est très proche de Sr or, dans ces organismes, les comportements respectifs des deux éléments semblent bien différents ; les teneurs en Ba sont très variables, alors que les concentrations en Sr sont quasiment constantes. Il semblerait que Ba ait une fonction particulière dans ces organismes. L'inclusion de baryum dans le carbonate des coquilles leur donne une meilleure stabilité chimique à des profondeurs où les carbonates peuvent devenir solubles.

Les teneurs en métaux dans les branchies, où siège l'activité symbiotique [16, 21], sont souvent les plus élevées. Fe (et pour partie Ba) est toujours plus concentré dans les glandes digestives. Cette accumulation préférentielle pourrait être en relation avec des procédés de détoxification [4–7, 9]. L'accumulation de Fe dans les glandes digestives des organismes pourrait être expliquée par la présence de particules minérales dans le milieu environnant, probablement de la pyrite, sur lesquelles les métaux peuvent s'adsorber. En effet, des particules minérales ont été observées dans la glande digestive chez *Bathymodiolus* de l'EPR (East Pacific Rise) à 13° N [5, 6].

Dans le cas d'accumulation relative de Ba dans la glande digestive, la formation de BaSO₄ pourrait jouer un rôle de détoxification vis à vis du soufre, ou représenter une accumulation particulière, due au milieu hydrothermal. La variabilité de certaines teneurs en métaux déjà citée est probablement à mettre en relation avec ce phénomène qui introduit une hétérogénéité dans les glandes digestives.

Comme pour les espèces littorales [9, 13], la phase dissoute, dans les branchies, et la phase particulaire dans les glandes digestives, sont les deux sources potentielles de métaux pour les moules hydrothermales. De plus, l'accumulation sélective de métal dans un tissu semble liée à la

forme chimique du métal et aux mécanismes de détoxification associés au tissu. La figure 4 résume les mécanismes d'accumulation et de détoxification des métaux chez *Bathymodiolus* sp. Ces métaux peuvent être également impliqués dans des processus biologiques liés à la symbiose et au fonctionnement particulier de ces organismes profonds.

La comparaison entre les sites hydrothermaux montre dans chaque tissu un rapport entre la concentration à 1700 m et la concentration à 800 m toujours supérieur à l'unité pour Fe et Zn, avec une valeur de 2 à 5 pour les branchies, de 3 à 7 pour les glandes digestives et de 2 à 4 pour les manteaux. La plus forte accumulation de ces métaux dans les organismes du site Lucky-Strike pourrait être due soit à leurs concentrations plus importantes dans le milieu environnant, soit à leur présence sous des formes chimiques plus facilement assimilables par les organismes.

Les teneurs en Cu, Mn et Sr sont assez semblables dans les organismes des deux sites, soit parce qu'elles sont

identiques dans le fluide, soit parce que les organismes régulent leurs teneurs par des phénomènes d'excrétion, en rapport avec leur fonction biologique connue. Les faibles teneurs en Cd et Ag, par rapport aux autres métaux peuvent s'expliquer par des concentrations relatives également plus faibles dans le fluide.

Les concentrations en métaux ont été mesurées chez *Bathymodiolus thermophilus* de la rive des Galapagos (tableau IV). Les métaux n'ont pas été analysés dans le manteau, qui n'est pas considéré comme un organe cible pour la bioaccumulation [29]. De même, Cd et Ba n'apparaissent pas dans cette étude ; dans le fluide émis sur le site des Galapagos les concentrations en Cd sont presque nulles et, dans les organismes, les teneurs sont proches de celles de l'eau de mer. Ba semble être un métal plus lié au manteau (d'après les teneurs dans les moules de Lucky-Strike), ce qui expliquerait pourquoi il n'a pas été analysé. Les teneurs en Fe chez les organismes des Galapagos sont proches de celles trouvées chez les organismes du site Lucky-Strike avec, là aussi, des teneurs dans les glandes

Figure 4. Bilan de l'accumulation et la détoxification des métaux chez *Bathymodiolus* sp. MT: métallothionéines; AA: acides aminés.

Figure 4. Mechanisms of metal accumulation and detoxification within *Bathymodiolus* sp. MT: metallothioneins; AA: amino acid.

Tableau IV. Teneurs en éléments traces des mollusques hydrothermaux *Bathymodiolus thermophilus* [29] et *Calyptogena magnifica* [26] et du vestimentifère *Riftia pachyptila* [10].**Table IV.** Concentrations of selected metals in hydrothermal molluscs *Bathymodiolus thermophilus* [29] and *Calyptogena magnifica* [26] and in the vestimentiferan *Riftia pachyptila* [10].

	Fe	Zn	Cu	Mn	Cd	Ag	Ba	Sr	As
Galapagos (n = 4)									
<i>Bathymodiolus thermophilus</i>									
Branchies	310 ± 38,1	217 ± 279	41,3 ± 34,2	111 ± 131	NA	51,8 ± 49,6	NA	118 ± 98,8	36,5 ± 49,1
Glandes digestives	948 ± 281	60,9 ± 40,4	30 ± 25,9	25,8 ± 17,2	NA	21,4 ± 8,49	NA	NA	23,2 ± 5,34
13°N									
<i>Riftia pachyptila</i>									
Branchies	389	369	25	7,9	0,6	1	NA	NA	15
21°N (n = 3)									
<i>Calyptogena magnifica</i>									
Branchies	1931 ± 626	1560 ± 540	219 ± 102	< 7	46 ± 12	46,5 ± 28	< 12	32,7 ± 12,5	33,2 ± 16
Manteaux	302 ± 274	1772 ± 1088	150 ± 7,2	13,3 ± 2,4	1,2 ± 0,4	50,7 ± 7	85	75,2 ± 15	28,2 ± 1,8

Les teneurs en métal dans le tissu sec sont exprimées en $\mu\text{g g}^{-1}$ (moyenne $\pm$ écart type). B: branchies; GD: glandes digestives. NA: non analysé.

Concentrations in dry weight are given as $\mu\text{g g}^{-1}$ (mean $\pm$ standard deviation). B: gills; GD: digestive gland. NA: not analysed.

des digestives bien supérieures à celles des branchies. Les moules de ces deux sites sont donc marquées par une accumulation importante de particules riches en métaux, par voie digestive. Les teneurs en Zn sont du même ordre que dans le site Menez-Gwen ; elles sont globalement plus importantes dans les glandes digestives des organismes des sites Açores, probablement à cause d'une richesse moindre de ce métal sous forme particulière dans l'environnement hydrothermal des Galapagos. Les teneurs en métaux essentiels (Cu, Zn) dans les tissus, et plus particulièrement dans un organe comme la glande digestive (très impliquée dans le métabolisme du bivalve), varient beaucoup en fonction des besoins physiologiques, eux-mêmes liés aux fonctions essentielles (croissance, reproduction...). Les concentrations en Mn, Ag et Sr sont beaucoup plus élevées dans les moules des Galapagos. Les eaux des Galapagos étant assez froides et contenant peu de métaux, mis à part Mn (de l'ordre de $32000 \mu\text{g L}^{-1}$), les organismes filtrent peut-être des quantités d'eau plus importantes pour leurs besoins physiologiques, entraînant

ainsi une accumulation relative de Mn et de fortes concentrations en Mn dans les tissus.

Des dosages de métaux ont également été réalisés chez d'autres espèces hydrothermales, telles *Riftia pachyptila* [10] et *Calyptogena magnifica* [26] (tableau IV) prélevés au niveau de l'EPR. Les teneurs sont très différentes entre ces deux organismes et les moules, *Bathymodiolus thermophilus* des Galapagos et *Bathymodiolus* de la dorsale atlantique. Les variations sont observées aussi bien entre des organismes du même type vivant dans des sites différents qu'entre des organismes différents vivant dans une même région.

La comparaison des teneurs en métaux des espèces hydrothermales et de l'espèce littorale *Mytilus edulis* (tableau V) met en évidence une plus forte accumulation en Fe, Zn, Cu, Cd et Ba chez les moules symbiotiques (à l'exception de Fe au site Menez-Gwen). Cette différence avec le milieu côtier peut être en relation directe avec les concentrations en éléments traces dans les fluides

Tableau V. Concentrations en métaux dans les tissus de la moule *Mytilus edulis* (d'après Ferreiro, données non publiées).**Table V.** Metals within coastal *Mytilus edulis* tissues (according Ferreiro, unpublished data).

n = 3		Fe	Zn	Cu	Mn	Cd	Ag	Ba
<i>Mytilus edulis</i>	Branchies	203,5 ± 87,5	97 ± 26	10 ± 2	5,4 ± 1,2	1,1 ± 0,3	0,6 ± 0,2	4,1 ± 1,6
Méditerranée	Manteaux	121 ± 74	61 ± 13	8 ± 2	5 ± 3,1	0,1 ± 0,2	0,6 ± 0,5	1,7 ± 0,7

Les valeurs de métal dans le tissu sec sont exprimées en $\mu\text{g g}^{-1}$ (moyenne $\pm$ écart type).

Concentrations in dry weight are given as $\mu\text{g g}^{-1}$ (mean $\pm$ standard deviation).

des hydrothermaux, plus élevées que celles généralement observées dans l'eau de mer [14, 15]. Néanmoins, Fe semble être accumulé en grande quantité dans les organismes du site Menez-Gwen comme chez les moules littorales ; il ne correspond sans doute pas à une propriété particulière des mytilidés profonds.

Les teneurs en métaux dans les tissus de moules (*Mytilus galloprovincialis*) situées dans des zones côtières polluées, telles que la région de Scarlino au Nord de la mer Tyrrhénienne, montrent une accumulation importante en Fe, Mn et Pb [25]. Les teneurs sont notamment très élevées dans les glandes digestives, 4000 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec pour Fe, 138 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec pour Mn et 92 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tissu sec pour Pb. Mais les teneurs en Zn et Cu restent du même ordre que celles généralement trouvées dans les moules de milieu sain. Des expériences de transplantation en milieu sain montrent une excrétion rapide du Mn et Fe, un stockage du Pb, et une régulation des teneurs en métaux essentiels, Cu et Zn [24] traduisant différents temps d'intégration (bilan entrées/excrétion) pour chaque élément, en fonction du mécanisme de détoxification et/ou d'excrétion employé par les organismes. Les teneurs en Fe, Zn, Cu et Cd ont également été analysées chez ce type de moule dans la baie d'Augusta en Sicile, caractérisée par des rejets industriels et urbains [2]. Les valeurs observées dans les organismes entiers restent très inférieures à celles des moules hydrothermales. En ce qui concerne les métaux, la principale différence avec les milieux côtiers les plus pollués vient donc du large spectre des apports en éléments toxiques, unique pour les sources hydrothermales.

4.2. Teneurs en métallothionéines

Les teneurs en métallothionéines sont plus importantes dans les branchies que dans les manteaux, plutôt passifs vis-à-vis de l'accumulation des métaux [13, 27]. L'accumulation des métaux étant la plus importante dans les branchies (excepté pour Fe), on en déduit qu'une exposition permanente à de forts taux de Zn, Cu, Cd et Ag (métaux pouvant être liés aux métallothionéines) pourrait induire la synthèse de ces protéines, comme dans le cas des organismes côtiers [28]. Les branchies sont également des tissus à fortes concentrations bactériennes, dont la participation aux mécanismes de détoxification, bien qu'hypothétique, a été envisagée [9]. Les mêmes types de bactéries, méthanotrophes et sulfo-oxydantes, observées dans les moules des deux sites Açores, pourraient expliquer les teneurs semblables en métallothionéines dans les

organismes de ces sites. Le rôle des bactéries dans les processus de détoxification est encore mal connu et doit être précisé. D'importantes quantités de métallothionéines ont également été déterminées dans la branchie du vestimentifère *Riftia pachyptila* de la dorsale Est-Pacifique, autre espèce majeure des communautés hydrothermales qui présente un même type d'association symbiotique avec des bactéries chimiotrophes [12].

4.3. Répartition des éléments métalliques Zn, Cu et Cd

Les organismes du site Lucky-Strike semblent utiliser préférentiellement l'immobilisation dans les systèmes lysosomiaux, comme procédé de détoxification de Zn, Cu et Cd. Dans le cas des organismes du site Menez-Gwen, la quantité de métaux associés aux composés thermostables (dont les métallothionéines) représente une proportion assez faible des métaux présents dans le cytosol (S1), sauf pour Zn contenu dans les branchies. Les composés thermolabiles, constitués de protéines et de composés plus ou moins complexes, semblent capables de fixer de grandes quantités de métaux, en particulier Cd. Les métallothionéines, bien que présentes en grandes quantités dans ces organismes, ne semblent pas avoir un rôle dominant dans la détoxification. Les différences de proportions entre les métaux sont également à mettre en relation avec les phénomènes d'affinité relative de ces protéines pour un métal ou de compétition entre les différents métaux pour le site de fixation [11, 28].

A titre de comparaison, notons que la répartition subcellulaire des métaux chez les moules de Scarlino est différente selon l'élément, mais qu'elle est semblable entre les organismes : on retrouve l'importance de la fraction insoluble pour le stockage du Pb, alors que Zn et Cu sont liés à des protéines de type métallothionéines, qui régulent leur métabolisme intracellulaire [24].

5. CONCLUSION

Les moules hydrothermales du genre *Bathymodiolus* présentent une capacité importante d'accumulation des métaux, tels que Fe, Zn, Cu, Cd, Ag, Ba et Sr, comparable ou supérieure à celle des milieux littoraux les plus pollués. L'analyse des teneurs des tissus a mis en évidence différents organes bioaccumulant ces métaux : les branchies pour les éléments dissous et les glandes digestives pour les éléments sous forme particulaire. De plus,

Bathymodiolus provenant des deux sites Açores présente une grande singularité par rapport aux organismes de même type vivant dans des environnements différents et par rapport aux autres organismes hydrothermaux. Les teneurs en métaux dans les organismes varient d'un site hydrothermal à l'autre, sans doute en fonction de leur concentration dans le fluide, de leur forme chimique et de l'importance relative des mécanismes d'accumulation et d'excrétion au sein des organismes.

L'activité hydrothermale est une source importante de métaux pour l'océan mondial et la bioaccumulation de ces éléments par les organismes profonds joue un rôle non négligeable dans le cycle global des métaux dans l'océan.

Les conditions extrêmes des milieux hydrothermaux obligent les organismes à intensifier les mécanismes de détoxification des métaux. Ainsi, des teneurs élevées en métallothionéines ont été trouvées dans les moules des deux sites, surtout dans les branchies. Elles semblent associées principalement au Zn, mais chez les moules

Bathymodiolus sp., Zn, Cu et Cd pourraient se retrouver majoritairement sous des formes insolubles dans les systèmes lysosomiaux ou être associés à des composés thermolabiles, car la fixation des métaux par les métallothionéines ne représente pas un mécanisme de détoxification à long terme.

Remerciements

Les auteurs remercient les équipages du navire océanographique Nadir et du submersible Nautille (Genavir/Ifremer), pour la récolte du matériel durant la campagne Diva (1994), financée en partie par le programme Amores (MAST3-CT95-0040), ainsi que A.M. Alayse, chef de mission, et l'ensemble des participants à cette campagne. Contrat Otan n° CRG 931052, Ura CNRS 2071. Les auteurs remercient également A.M. de Kersabiec pour l'aide apportée dans l'analyse des échantillons. Ce manuscrit a bénéficié de la lecture attentive de J. Boutler.

RÉFÉRENCES

- [1] Bordin G., Cordeiro Raposo F., McCourt J., Rodriguez A.R., Identification de métalloprotéines du type métallothionéine chez un mollusque marin bivalve, C. R. Acad. Sci. Paris (1994) 1057–1064.
- [2] Castagna A., Sinatra F., Castagna G., Stoli A., Zafarana S., Trace element evaluations in marine organisms, Mar. Poll. Bull. 16 (1985) 416–419.
- [3] Cavanaugh C.M., Symbiotic chemoautotrophic bacteria in marine invertebrate from sulfide-rich habitats, Nature 302 (1983) 58–61.
- [4] Chassard-Bouchaud C., Fiala-Médioni A., Galle P., Étude microanalytique de *Bathymodiolus* sp. (mollusque Lamellibranchie Mytilidae) provenant des sources de la Ride du Pacifique oriental, Données préliminaires, C. R. Acad. Sci. Paris, 302 (1986) 117–124.
- [5] Chassard-Bouchaud C., Fiala-Médioni A., Boumati P., Escaig F., Kleinbauer F., Brissard J., Galle P., *Calymene phaseoliformis* (mollusque bivalve) indicateur biologique des phénomènes géochimiques, associés aux zones de subduction situées au large du Japon, C. R. Acad. Sci. Paris 306 (1988a) 237–244.
- [6] Chassard-Bouchaud C., Boumati P., Escaig F., Laubier L., Desbruyères D., Fiala-Médioni A., Outrequin M., Inglebert R.N., Galle P., Microanalyse et hydrothermalisme océanique. Premiers résultats et perspectives dans le domaine de la biologie, Oceanol. Acta (1988b) 203–218.
- [7] Childress J.J., Fisher C.R., The biology of hydrothermal vent animals: physiology, biochemistry and autotrophic symbioses, Oceanol. Mar. Biol. Ann. Rev. 30 (1992) 337–441.
- [8] Corliss J.B., Dymond J., Gordon L.I., Edmond J.M., Herzen R.P.V., Ballard R.D., Green K., Williams D., Bainbridge A., Crane K., Van Andel T.H., Submarine thermal springs on the Galapagos Rift, Science 203 (1979) 1073–1083.
- [9] Cosson-Mannevy M.-A., Cosson R.P., Gaill F., Laubier L., Transfert, accumulation et régulation des éléments minéraux chez les organismes des sources hydrothermales, Oceanol. Acta N. Sp. 8 (1988) 219–226.
- [10] Cosson-Mannevy M.A., Cosson R.P., Amiard-Triquet C., Amiard J.-C., Métayer C., Elemental bioaccumulation in hydrothermal vent biota on the EPR : organotropism and potential influence of bacteria in: Heavy metals in the environment, (Ed.) by Vernet J.P., CEP Consultants Ltd. Publishers, Edinburgh U.K., 1 (1989) 73–76.
- [11] Cosson R., Les métallothionéines, Anal. Mag. 20 (1992) 50–53.
- [12] Cosson R., La bioaccumulation des éléments minéraux chez le Vestimentifère *Riftia pachyptila*, Oceanol. Acta 19 (1996) 163–176.
- [13] Dallinger R., Rainbow P.S., Ecotoxicology of metals in invertebrates, Lewis publishers (1992) 461 p.
- [14] Edmond J.M., Von Damm K.L., McDuff R.E., Measures C.I., Chemistry of hot springs on the East Pacific Rise and their effluent dispersal, Nature 297 (1982) 187–191.

-
- [15] Edmond J.M., Von Damm K.L., Chemistry of ridge crest hot springs, *Bull. Biol. Soc. Whas.* 6 (1985) 43–47.
- [16] Fiala-Médioni A., Mise en évidence par microscopie électronique à transmission de l'abondance de bactéries symbiotiques dans la branchie de mollusques bivalves de sources hydrothermales profondes, *C. R. Acad. Sci. Paris* 298 (1984) 487–492.
- [17] Fiala-Médioni A., Michalsky J.C., Jollès J., Alonso C., Montreuil J., Lysosomal and lysozyme activities in the gill bivalves from deep hydrothermal vents, *C. R. Acad. Sci. Paris* 317 (1994) 239–244.
- [18] Hily A., Le Pennec M., Prieur D., Fiala-Médioni A., Anatomie et structure du tractus digestif d'un Mytilidae des sources hydrothermales profondes de la ride du Pacifique oriental, *Cah. Biol. Mar.* 27 (1986) 235–241.
- [19] Kenk K.C., Wilson B.R., A new mussel (*bivalvia*, *Mytilidae*) from hydrothermal vents in the Galápagos Rift zone, *Malacologica* 26 (1985) 253–271.
- [20] Laubier L., Desbruyères D., Les oasis du fond des océans, *La Recherche* 61 (1984) 1508–1517.
- [21] Le Pennec M., Hily A., Anatomie, structure et ultrastructure de la branchie d'un Mytilidae des sites hydrothermaux du Pacifique oriental, *Oceanol. Acta* 8 (1984) 181–190.
- [22] Lonsdale P.F., Clustering of suspending-feeding macrobenthos near abyssal hydrothermal vents at oceanic spreading centers, *Deep-Sea Res.* 24 (1977) 857–863.
- [23] Lutz R.A., Kennish M.J., Ecology of deep-sea hydrothermal vent communities: a review, *Rev. Geophys.* 31 (1993) 211–237.
- [24] Regoli F., Orlando E., Accumulation and subcellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in the Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment, *Mar. Poll. Bull.* 28 (1994) 592–600.
- [25] Regoli F., Principato G., Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for use of biochemical biomarkers, *Aquat. Toxicol.* 31 (1995) 143–164.
- [26] Roesijadi G., Crecelius E.A., Elemental composition of the hydrothermal vent *Calyptogena magnifica* from the East Pacific Rise, *Mar. Biol.* 83 (1984) 155–161.
- [27] Roesijadi G., Young J.S., Crecelius E.A., Thomas L.E., Distribution of trace metals in the hydrothermal vent clam, *Calyptogena magnifica*, *Biol. Soc. Wash. Bull.* 6 (1985) 311–324.
- [28] Roesijadi G., Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals, *Aquat. Toxicol.* 22 (1992) 81–114.
- [29] Smith D.R., Flegal A.R., Elemental concentrations of hydrothermal vent organisms from the Galápagos Rift, *Mar. Biol.* 102 (1989) 127–133.
- [30] Thompson J.A.J., Cosson R., An improved electrochemical method for the quantification of metallothioneins in marine organisms, *Mar. Env. Res.* 11 (1984) 137–152.
- [31] Viarengo A., Nott A., Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates, *Comp. Biochem. Physiol.* 104c (1993) 355–372.
-