MÉTAUX TRACE ET INDICATEURS BACTÉRIENS DANS LES SÉDIMENTS MARINS MEUBLES D'UNE ZONE SOUMISE AUX INFLUENCES ANTHROPOGÈNES DU LITTORAL ROUMAIN

Ioan PECHEANU et Silvia VELESCU

Institut Roumain de Recherches Marines, Constantza (Roumanie)

Abstract

29 samples of superficial sediments from an area under anthropogenic influence were analized for heavy metals and bacterian indicators. The obtained data showed no chemical or bacterian pollution.

—

L'objectif de cette étude a été de déterminer le contenu et le niveau de pollution de métaux trace et d'indicateurs bactériens des sédiments récents, d'une zone soumise à l'influence d'activités anthropiques riveraines.

Méthodologie

Durant l'été 1985, nous avons prélevé des échantillons de sédiments en 29 stations situées sur 4 profils de la côte, entre 0 m et 20 m de profondeur.

La détermination de la teneur a été effectuée par absorption atomique en utilisant un AAS-PYE UNICAM, SP_{2900}', alors que celle des indicateurs bactériens a été réalisée par la méthode de l'ensemencement dans des tubes multiples à milieux liquides et le calcul du MPN en rapportant au gramme sédiment à 105°C.

Résultats et discussions

Les Tableaux 1 et 2 présentent les paramètres calculés ayant pour base les résultats obtenus de l'analyse des sédiments meubles de la zone étudiée et respectivement les données rapportées par certains auteurs pour diverses zones méditerranéennes, trouvées dans différents stades de pollution pour les métaux lourds.

Tableau 1 - Caractéristiques des sédiments superficiels (µg/g)

Paramètres	Cu	Pb	Zn	Gd	Mn	Fe (mg/g)	Substance organique(mg/g)
n	28	29	29	29	29	29	29
minima	0,48	1,62	4,26	N.D.	54,82	0,54	4,34
maxima	9,72	23,26	44,13	N.D.	332,30	9,96	89,00
$\bar{X}$	2,59	5,91	17,25	N.D.	141,62	2,55	20,81
S.D.	2,22	4,65	13,59	N.D.	64,93	1,82	19,23

N.D. - non déterminable

En analysant les paramètres synthétisés dans le Tableau 1, nous avons constaté que les métaux trace varient dans des limites restreintes.

Ces données sont très inférieures aux valeurs communiquées par certains auteurs (Tableau 2) pour les sédiments superficiels des zones méditerranéennes fortement affectées par la pollution par les métaux lourds.

Tableau 2 - Métaux trace dans les sédiments marins

Cu	Pb	Zn	Cd	Mn	Fe(mg/g)	
0,8- 91,0	-	9,0-760	N.D-14,10	12-410	1,06-29,44	Abu-Kir Bay SAAD et al.
2,8- 37,0	5,3-84,6	1,2- 14	0,05- 5,60	-	5,40-67,00	Venice ANGELA et al.
7,9- 21,5	22,0-48,0	32,8-180	0,16- 0,37	180-630		Ebro,OBIOLS
60,7-103,0	22,7-71,0	-	<0,61-20,00	360-960		ARNO

Les résultats obtenus pour les indicateurs bactériens ont mis en évidence que :

. les sédiments contiennent tous les indicateurs bactériens d'origine entérique ;

. les concentrations moyennes des Streptocoques sont plus élevées que celles des Coliformes, aspect signalé aussi par d'autres auteurs (Tableau 3) (2) ;

Tableau 3 - Valeurs moyennes des indicateurs bactériens des sédiments

	Coliforms totaux/g			E.coli/g			Streptocoques fécaux/g		
année	1984		1985	1984		1985	1984		1985
mois	VII	VIII	VIII	VII	VIII	VIII	VII	VIII	VIII
n	8	8	20	9	7	20	9	8	20
$\bar{X}$	18,3	85,5	11,4	2,3	1,25	2,9	179,7	80,4	39,5
SD	19,34	97,73	11,52	3,52	1,37	3,73	138,17	108,74	49,79

. le niveau des accumulations des Streptocoques fécaux dans les sédiments, $\bar{X}_A$ max 179/g est inférieur à celui trouvé par VOLTERRA et al., $\bar{X}_G$ max 243450/100 ml ;

. entre les valeurs moyennes des deux années ont été enregistrées des différences qui ne peuvent pas être attribuées à une diminution de l'impact anthropique mais au phénomène d'upwelling.

Le calcul de la corrélation entre les paires des valeurs de substance organique et des Streptocoques fécaux a mis en évidence en 1984, r = 0,819, n = 9 à un niveau de signification <0,001 et en 1985, r = 0,011, n = 18 à un niveau de signification de <0,9.

Ces résultats laissent supposer que l'existence de la corrélation significative de la première année a été accidentelle, ou le phénomène est dépendant de facteurs qui pourront être élucidés à travers des études ultérieures.

Conclusions

Les recherches effectuées n'ont pas mis en évidence, dans les sédiments récents de la zone étudiée, l'existence de fortes influences liées aux activités anthropiques riveraines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) VELESCU (S) & PECHEANU (I.), 1984. - Effets anthropiques mis en évidence dans les sédiments marins de la zone Navodari-Namaia Nord (Données préliminaires). Recherches marines, IRCM, Constanta, 17, pp. 297-304.

(1) VOLTERRA (L.) & AULICINO (F.), 1980. - Indicators of faecal pollution in sediments. Ves Journées Etud. Pollutions, Cagliari, CIESM. pp. 307-312.

TISSUE DISTRIBUTION OF ORGANOPHOSPHATE AND CARBAMATE SENSITIVE ESTERASE ISOZYMES IN THE FISH TRACHURUS TRACHURUS

S.S. SALAMASTRAKIS and A.A. HARITOS

Zoological Laboratory, University of Athens, Athens (Greece)

Esterases represent a multilocus complex enzyme system. They catalyse the hydrolysis of organic ester bonds. Although their natural substrates are not known for most of them, their study presents particular interest since they are inhibited by organophosphates, carbamates and mercury compounds. The first two categories of inhibitors are widely used as insectisides and pesticides.

The method for resolving esterase isozymes by slab polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and the subsequent histochemical staining for esterase activity using α-naphthyl acetate as substrate has been reported (1). The characterization of the esterase isozymes according to their substrate and inhibitor specificities was carried out according to Haritos et al. (2). Isoelectric focusing was performed on slab polyacrylamide gels (pH 3.5-9.5) according to Veini et al. (3) and gel filtration on a Sephadex G-200 column 150x2 cm according to Haritos & Rosemeyer(4).

Several bands of esterase activity (up to 8) were revealed in all tissues examined (liver, stomach, red and white muscles, heart, brain and gills) with the exception of the intestine where only 3 bands were observed (Fig. 1). The highest overal staining intensity was shown by the liver extract. Liver is considered as the richest source of esterases in vertebrates. Some of the bands were common in most of the tissues examined while others were tissue specific. Therefore the overall esterase isozymic profile was characteristic for each tissue. Isoelectric focusing in precast slab polyacrylamide gels did not reveal a greater heterogeneity than that observed with PAGE. In liver 2 main bands with isoelectric points of 4.60 and 4.77 and 4 minor ones with isoelectric points of 5.71, 6.30, 6.72 and 6.99 were observed.

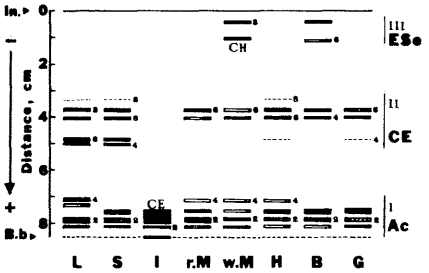

Fig. 1 Electrophoretic patterns of nonspecific soluble esterase in various tissues of Trachurus trachurus. L, liver; S, stomach; I, intestine; r.M, red muscle; w.M, white muscle; H, heart; B, brain; G, gills. In., interface between stacking and separating gels; Bb, bromophenol blue band. Numbers are assigned to the bands starting from the most anodic ones. Latin numbers stand for spatial groups of isozymes. Ac, acetylesterases; CE, carboxylesterases; Ese, esterases sensitive only to eserine and CH, cholinesterases.

In order to characterize the esterase isozymes of Trachurus Trachurus according to their substrate, inhibitor and heat lability properties, α-naphthol esters of acetate, propionate and butyrate were used as substrates; diisopropylfluorophosphate (DFP, organophosphate), eserine sulphate (carbamate) and parahydromercuribenzoate (PHMB, organic mercury compound) were used as inhibitors, and temperatures of 50 and 60°C were used for the determination of heat lability. An example of the characterization of the esterase isozymes carried out for each tissue is given in Table I.

Table I. Differential Properties of Liver Esterases of Trachurus trachurus.

Esterases	EL-1	EL-2	EL-3	EL-4	EL-5	EL-6	EL-7	EL-8	EL-9
Substrate[a] specificity									
α-naphthyl acetate	2+	4+	+	3+	+	3+	2+	3+	±
α-naphthyl propionate	2+	4+	-	-	+	3+	2+	3+	+
α-naphthyl butyrate	2+	4+	-	-	+	3+	2+	3+	±
Inhibitor[b] specificity									
DFP (10^{-4} M)	-	2+	-	-	3+	3+	3+	3+	3+
Eserine (10^{-4} M)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PHMB (10^{-3} M)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heat lability[a]									
15 min at 50°C	2+	4+	-	-	-	+	-	-	-
15 min at 60°C	-	2+	-	-	-	-	-	-	-
Classification	Ac	Ac	Ac	Ac	CE	CE	CE	CE	CE

[a]High activity (4+), low activity (+), no activity (-).
[b]Complete inhibition (3+), little inhibition (+), no inhibition (-).
[c]Ac, Acetylesterases; CE, Carboxylesterases.

In this way 4 types of esterases were indentified. Acetylesterases (Ac) and carboxylesterases (CE) in all tissues examined, eserine sensitive isozymes (ESe) in white muscle and brain and one cholinesterase (CH) only in white muscles. Acetylesterases are not inhibited by any of the above inhibitors, carboxylesterases are inhibited only by DFP, eserine sensitive esterases only by eserine, and cholinesterases by both DFP and eserine. It appears therefore that DFP and to a lesser extent eserine inhibit esterase isozymes while no inhibition was observed by PHMB at least at the concentration employed.

By gel filtration of liver and brain extracts 2 peaks of esterase activity were resolved in each case with apparent molecular weights of 340,000 and 58,000, and 313,000 and 55,000 respectively. On the other hand the intestine extract showed only one peak corresponding to 339,000 molecular weight. Electrophoresis of the pooled fractions corresponding to the high molecular weight species (313-340,000 M.wt.) for each tissue showed the presence of the DFP inhibited carboxylesterases.

In conclusion esterase isozymes sensitive to organophosphate compounds (at least to DFP) i.e. carboxylesterases are present in the digestive system, muscles, brain and gills of Trachurus trachurus. Although the in vivo effects of DFP are to examined in our laboratory, results of this investigation suggest that all tissues have the potential to share the toxic effects of DFP through esterase irreversible inhibition. On the other hand the effect of the carbamate compound eserine seems to be more restricted (i.e. in white muscles and brain).

References

1. Haritos A.A. and Salamastrakis S.S., 1982, Comp. Biochem. Physiol. 72B, 477-480.
2. Haritos A.A., Salamastrakis S.S. and Veini M., 1984, Proc. VIIth ICSEM/IOC/UNEP Workshop on Marine Pollution of the Mediterranean, Lucern, 1984.
3. Veini M., Tsitsiloni, O.E., Martini, S.M. and Haritos A.A., 1986, Comp. Biochem. Physiol. in press.
4. Haritos A.A. and Rosemeyer M.A., 1986, Biochim. Biophys. Acta 830, 113-119.