

X-II2

Lead compartmentation in Kidney Cell of *Murex trunculus* (Mollusca: Prosobranchia)

M. NIGRO, F. REGOLI and E. ORLANDO

Dipartimento di Biomedicina Sperimentale, Sezione di Biologia e Genetica, Università di Pisa, Via A. Volta 4 - 56100 Pisa (Italia)

The intracellular compartmentation of essential and xenobiotic metals is of great interest for improving our understanding of the normal metabolism of metals and of their mechanisms of cell injury (FOWLER, 1987). The role of a given compartment in the regulation of metal cations bioavailability depends on various factors such as cell type and species (FOWLER, 1987). The kidney of molluscs is a suitable material for studying the cellular mechanisms of metal homeostasis in non mammalian animals, due to its high capacity to concentrate metals (CARMICHAEL et al., 1980; GOLDBERG, 1986).

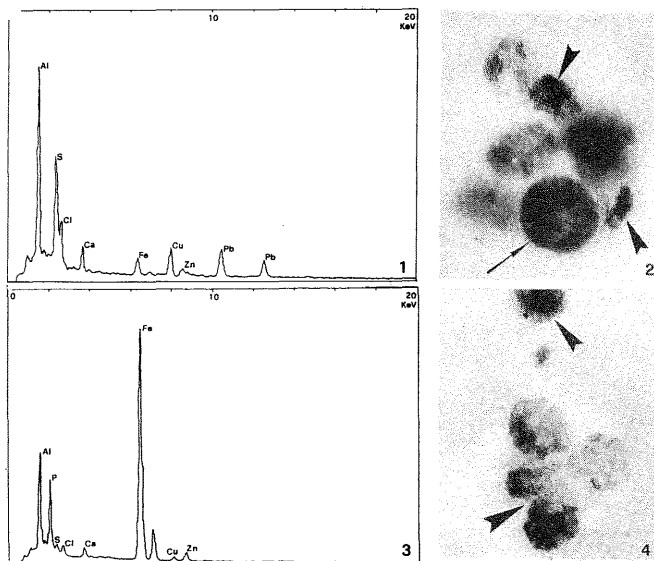
This paper reports preliminary data on Pb concentration and its intracellular localization in the kidney of *Murex trunculus*, a common predatory gastropod mollusc. The animals were collected in a heavily polluted marine area of the gulf of Follonica (North Tyrrhenian Sea). This area receives effluents from both industrial (production of TiO_2 and H_2SO_4) and domestic activities. Specimens of *Murex*, sampled in unpolluted waters of Sardinia (Porto Pozzo), were used for comparison. Metal concentration in the organ was measured by Atomic Absorption Spectrophotometry after wet digestion with HNO_3 in teflon vessels at $120^\circ C$. Accuracy of analytical procedures was checked with standard of *Homarus* (National Research Council Canada). Intracellular localization was revealed on chemically fixed material by Transmission Electron Microscopy and X-ray microprobe analysis.

Renal concentrations higher than 700 ppm were measured in *Murex* from Follonica, whereas individuals from Porto Pozzo showed values lower than 1 ppm (dry weight). Kidney cells of *Murex* from Follonica showed a large number of lysosome-like inclusions (Fig. 2), containing an highly electrondense material and often homogeneous spherical bodies (0.4 - 0.6 μm in diameter) (Fig. 2 arrow). These inclusions contained also clusters of fine granules composed mainly by Fe (Fig. 2 arrow heads). X-ray microanalysis revealed that Pb was associated with the spherical bodies (Fig. 1).

Morphologically similar inclusions were seldom found in renal cells of *Murex* from Porto Pozzo (Fig. 4). However, these inclusions never contained lead (Fig. 3).

Cu and Zn were associated with the spherical bodies of *Murex* from both areas.

The values of Pb found in *Murex* from Follonica are remarkably higher in respect to literature data (DI CINTIO, 1986), indicating a very high lead pollution in this area. Our findings also confirm that this metal can be tolerated by molluscs in concentrations much higher than those found in normal tissues. This is probably due to the sequestration of lead within membrane bound lysosome-like bodies. This evidence supports previous data indicating these organelles as one of the major "sinks" for metal cations (FOWLER et al., 1975).



FOWLER B.A., WOLFE D.A. and HETTLER W.F., 1975. Mercury and iron uptake by cytosomes in mantle epithelial cells of Quahog clams (*Mercentaria mercenaria*). J. Fish. Res. Bd. Can, 32; 1767-1775.
 CARMICHAEL N.G., SQUIBB K.S., ENGEL D.W. and FOWLER B.A., 1980. Metals in the molluscan kidney: uptake and subcellular distribution of ^{109}Cd , ^{54}Mn and ^{65}Zn by the clam *Mercentaria mercenaria*. Comp. Biochem. Physiol. 65A; 203-206.
 DI CINTIO R., 1986. Il piombo sotto forma inorganica e sotto forma organica nei mitili campionati lungo un tratto di costa ligure. Inquinamento, 7; 42-45.
 GOLDBERG E.D., 1986. The mussel watch concept. Envir. Monitor. Assessm, 7; 97-103.
 FOWLER B.A., 1987. Intracellular compartmentation of metals in aquatic organisms; roles in mechanisms of cell injury. Environ. Health Perspect, 71; 121-128.

X-II3

Evaluation du contenu en Calcium intracellulaire et en Métaux Traces d'un organe (la branchie) chez le Poisson et la Moule

N. GNASSIA-BARELLI*, M. ROMEO*, A. MATHIEU**, D. RIBERA**, P. GARRIGUES** et M. LAFAURIE**

*INSERM, Unité 303 "Mer et Santé", B.P. 3, 06230 Villefranche-sur-Mer (France)
 **G.I.C.B.E.M. Groupe Interface Chimie Biologie des Ecosystèmes Marins

Des prélèvements de moules et de poissons ont été effectués en Méditerranée nord-occidentale dans le cadre du G.I.C.B.E.M. (Groupe Interface Chimie Biologie Ecosystèmes Marins) regroupant plusieurs laboratoires européens.

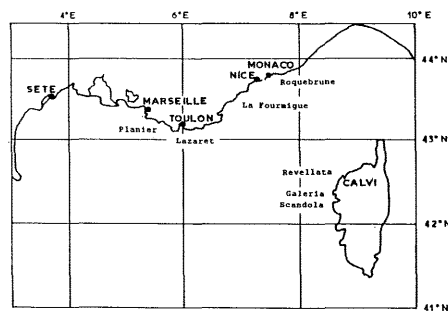
Les poissons récoltés (*Serranus scriba* et *Serranus cabrilla*) ont été choisis car ils présentent l'avantage de se capturer facilement et, aussi, d'être des hermaphrodites fonctionnels, ce qui élimine le facteur sexe. Les moules prélevées appartiennent à l'espèce *Mytilus galloprovincialis*, connue et très étudiée au point de vue des métaux traces.

A bord du bateau, les moules entières, les branchies de poissons et de moules séparées du reste du corps, sont soigneusement rincées par une solution isosmotique à l'eau de mer (Glycine 1M, TRIS-HCl 10 mM) et conservées dans l'azote liquide jusqu'au traitement des échantillons. Les échantillons sont ensuite lyophilisés et minéralisés par attaque acide (HNO_3 "suprapur"). Les analyses de calcium et de zinc ont été effectuées par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme, celles de cadmium par absorption atomique sans flamme.

En juillet 1989, les échantillons ont été prélevés au Planier, à Revellata, Galeria, Scandola, à l'embouchure du Golo, La Fourmiguie, Roquebrune, au port de Gènes et à Portofino. En novembre 89, les prélèvements ont été effectués pour les branchies de poissons à Revellata, Galeria, Scandola et Roquebrune; pour les branchies de moules au Lazaret, à Galeria, à La Fourmiguie et à Roquebrune. Le tableau suivant donne les concentrations moyennes (\pm un écart-type) en métaux par rapport au poids sec suivant les espèces, toutes stations confondues.

| | Ca($mg \cdot g^{-1}$) | Cd($\mu g \cdot g^{-1}$) | Zn($\mu g \cdot g^{-1}$) |
|--|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Juillet 89 | | | |
| <i>Serranus cabrilla</i> (branchies, n = 20) | 64 \pm 15 | 1,43 \pm 3,11 | 79 \pm 20 |
| <i>Mytilus galloprovincialis</i> (entières, n = 21) | 1,1 \pm 0,7 | 0,85 \pm 0,53 | 156 \pm 62 |
| Novembre 89 | | | |
| <i>Serranus cabrilla</i> (branchies, n = 16) | 65 \pm 39 | 5,16 \pm 12,32 | 105 \pm 65 |
| <i>Serranus scriba</i> (branchies, n = 19) | 80 \pm 25 | 1,02 \pm 1,75 | 123 \pm 28 |
| <i>Mytilus galloprovincialis</i> (branchies, n = 19) | 2,9 \pm 0,7 | 8,12 \pm 14,22 | 82 \pm 25 |

En juillet 89, pour *S. cabrilla*, seules les concentrations en cadmium des branchies sont significativement différentes selon les stations: pour Le Planier, elles sont de $5,05 \pm 4,86 \mu g \cdot g^{-1}$ (n = 5, avec une médiane de $5,05 \mu g \cdot g^{-1}$), pour Roquebrune et Revellata, elles sont respectivement de $0,65$ et $0,67 \mu g \cdot g^{-1}$; en revanche, aux autres stations (dont le port de Gènes) les valeurs trouvées sont en moyenne de $0,07 \mu g \cdot g^{-1}$. Pour les moules entières, il n'y a pas de différences importantes pour les concentrations en calcium, cadmium et zinc suivant les stations.



En novembre 1989, les concentrations en calcium, en cadmium et en zinc des branchies de *S. cabrilla* varient en fonction du lieu de prélèvement: celles de Revellata sont significativement (test t) plus fortes (n = 5, $113 \mu g \cdot g^{-1}$, $17,5 \mu g \cdot g^{-1}$ et $168 \mu g \cdot g^{-1}$) que celles de Galeria, Scandola et Roquebrune (n = 11, $43 \mu g \cdot g^{-1}$, $0,19 \mu g \cdot g^{-1}$ et $81 \mu g \cdot g^{-1}$). Il faut noter les valeurs particulièrement faibles des concentrations en cadmium trouvées dans les branchies de Galeria ($0,05 \mu g \cdot g^{-1}$) et de Scandola ($0,03 \mu g \cdot g^{-1}$). Pour les branchies de *S. scriba*, les concentrations en calcium diffèrent suivant les zones de prélèvement: elles sont plus élevées à Revellata (test t significatif) (n = 5, $105 \mu g \cdot g^{-1}$) qu'à Galeria, Scandola et Roquebrune (n = 14, $74 \mu g \cdot g^{-1}$), les concentrations en cadmium sont plus élevées à Revellata et à Roquebrune (n = 9, $1,91 \mu g \cdot g^{-1}$) qu'à Galeria et Scandola (n = 10, $3,21 \mu g \cdot g^{-1}$). En ce qui concerne les branchies de moules, les concentrations en cadmium sont particulièrement élevées au Lazaret (n = 5, $33,9 \pm 1,8 \mu g \cdot g^{-1}$) par rapport à celles trouvées à Galeria, à La Fourmiguie et à Roquebrune (n = 14, $0,49 \pm 0,39 \mu g \cdot g^{-1}$).

En conclusion, des valeurs particulièrement élevées ont été observées dans les concentrations en cadmium dans les branchies de poissons et de moules à certaines stations en juillet et en novembre. Dans certains cas, ces valeurs fortes sont liées à des concentrations élevées en calcium et en zinc. Des analyses supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'impact de la pollution métallique sur le contenu en calcium intracellulaire total des branchies de moules et de poissons. L'augmentation de ce contenu serait, selon VIARENGO et al. (1988), un indice de contamination du milieu.

VIARENGO A., MANCINELLI G., MARTINO G., PERTICA M., CANESI L. and MAZZUCOTELLI A., 1988. Mar. Ecol. Prog. Ser. 46; 65-70.