

Cercetari marine	I.N.C.D.M.	Nr. 34	231 - 238	2002
------------------	------------	--------	-----------	------

ÉTUDE COMPARATIVE DE L'ACTIVITÉ CATALASIQUE DE LA GLANDE DIGESTIVE DE TROIS ESPÈCES DE MOLLUSQUES DE LA MER NOIRE

Valentina COATU¹, Mihaela BRATU², M. CRÂSMARU¹,
V. ARTENIE³

¹ Institut National de Recherches et Développement Marin
"Grigore Antipa" Constanta

² Faculté de Médecine, Université "Ovidius" Constanta

³ Faculté de Biologie, Université "Al.I. Cuza" Iasi

ABSTRACT

Marine mussels have a remarkable capacity to accumulate xenobiotics from the marine environment. The metabolism of these compounds has as a result the producing of the reactive species of oxygen: O_2^- ; HO^\cdot ; H_2O_2 . All these are harmful for living cells. In order to protect themselves, these organisms have developed efficient mechanisms. One of these is catalase, an enzyme involved in protection against toxic effects of H_2O_2 . This paper makes comparison between catalase activity in three molluscs from Black Sea: *Mytilus galloprovincialis*, *Mya arenaria*, *Rapana thomasiana*, the last two species originate from the Eastern Seas. Our work founds the biggest catalase activity in *Mya arenaria*, followed by *Rapana thomasiana*, probably because of their evolution in very polluted environment.

KEY WORDS : catalase, molluscs, Black Sea

INTRODUCTION

Les organismes animaux du milieu marin ont élaboré, pendant leur évolution, de vrais systèmes efficaces de protection. Ceux-ci sont orientés vers l'annihilation de certaines composantes étrangères (connues sous le nom de xénobiotiques) telles que: les toxines contenues dans les organismes végétaux ou animaux avec lesquels ils se nourrissent, ou les toxines à rôle de protection, éliminées par certaines espèces de gastropodes ou céphalopodes; le pétrole et les gaz naturels des dépôts naturels, ou bien les composantes à soufre qui existent au voisinage des sources d'eaux sulfureuses de grande profondeur (LIVINGSTONE, 1991).

Pendant les dernières années, les sources majeures de xénobiotiques sont de nature anthropogène.

Parmi les organismes marines, les mollusques ont une capacité particulière d'accumuler des quantités importantes de composantes xénobiotiques organiques et inorganiques, en les concentrant dans les tissus à des niveaux bien supérieurs à ceux de l'environnement aquatique (LIVINGSTONE & PIPE, 1992; VIARENGO & CANESI, 1991).

Le métabolisme de ces composantes a comme résultat la production des espèces réactives d'oxygène: O_2^- , H_2O_2 , OH^\cdot (WINSTON & DI GILIO, 1991; LEMAIRE & LIVINGSTONE, 1993), qui sont très toxiques pour la cellule vivante.

A côté de *Mytilus galloprovincialis*, espèce caractéristique pour la mer Noire, cet écosystème s'est récemment enrichi avec deux espèces de mollusques venues des mers de l'Extrême Orient: *Mya arenaria* (bivalve filtrateur) et *Rapana thomasi* (gastropode carnivore), qui se sont parfaitement adaptées aux nouvelles conditions (PETRANU, 1997). Connaissant le haut degré de pollution de l'écosystème d'où elles proviennent, on peut conclure que ces organismes possèdent des systèmes multiples et particulièrement efficaces afin d'annihiler les xénobiotiques.

La catalase représente l'un des enzymes impliqués dans la protection des organismes envers l'action toxique du peroxyde d'hydrogène produit durant le processus de métabolisme des composantes étrangères.

Le travail ci-présent expose l'étude comparative de l'activité de cet enzyme chez les trois espèces de mollusques de la mer Noire mentionnées ci-dessus, se trouvant à des niveaux trophiques différents.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel biologique a consisté dans:

- 12 exemplaires adultes de *Mytilus galloprovincialis*;

- 12 exemplaires adultes de *Mya arenaria*;
- 6 exemplaires adultes de *Rapana thomasiana*.

Tous les organismes ont été préalablement maintenus pendant 7 jours en bacs aérés, avec courant continu d'eau de mer, en conditions optimales de vie. La nourriture de *Rapana thomasiana* a été constituée d'exemplaires de *Mytilus galloprovincialis*.

Pour chaque espèce on a procédé au prélèvement de la glande digestive de tous les exemplaires, dont on a réalisé un homogénat commun en les broyant en mortier avec du sable quartzueux, et le produit trituré a été ensuite mis en suspension en eau bidistillée pendant une heure, à la température de la chambre. Le rapport d'extraction a été 1:5 (m:m). La centrifugation a été faite à 5000 rpm pendant 20 minutes et le supernatant a été conservé. Les supernatants ont été ensuite dilués en eau bidistillée en rapports de 1:10 et 1:50.

La catalase a été déterminée par la méthode Sinha (IORDACHESCU & DUMITRU, 1988), et les protéines totales par la méthode Lowry (ARTENIE & TANASE, 1981).

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

L'analyse de la réaction de décomposition en temps de l'eau oxygénée par la catalase, pour le produit obtenu de l'espèce *Mytilus galloprovincialis*, a conduit aux résultats présentés dans le tableau 1 et la figure 1.

Tableau 1

La réaction de décomposition de l'eau oxygénée
déterminée par le produit obtenu de *Mytilus galloprovincialis*
 $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ consommés/ml

Temps (s)	Dilution 1/5 (4,45 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (2,25 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (0,45 mg prot./ml)
15	28,6	28	4
30	44,8	36	8
45	53,6	47,2	8,8
60	60,8	52	10,4
120	76	68	13,6

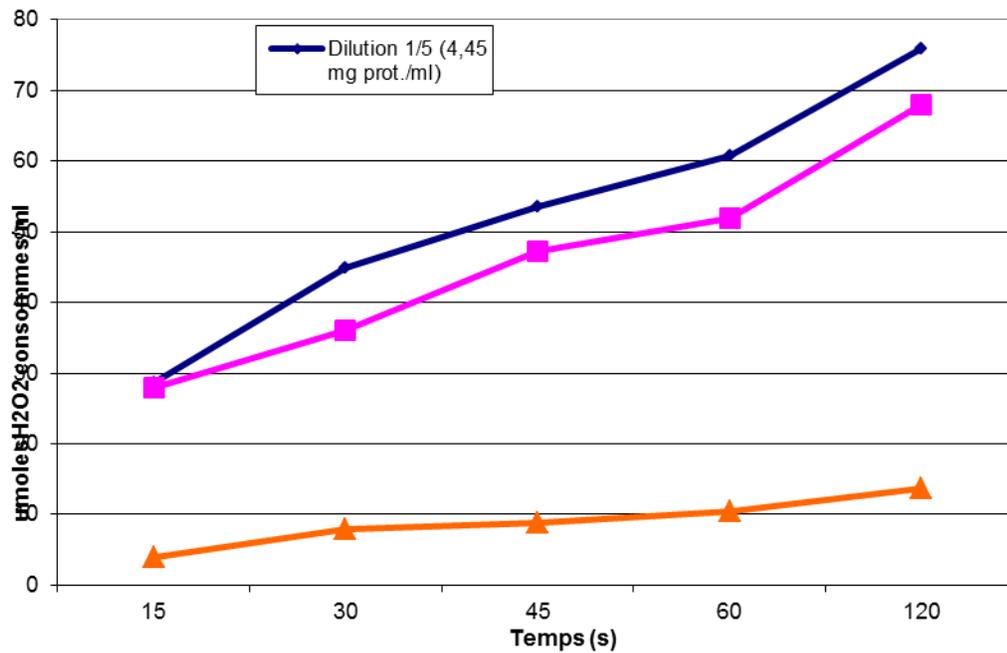


Fig. 1 - Variation de la décomposition de l'eau oxygénée en temps déterminée par le produit obtenu de *Mytilus galloprovincialis*

La réaction de décomposition en temps de l'eau oxygénée déterminée par le produit obtenu de l'espèce *Mya arenaria* a conduit aux résultats présentés ci-dessous (Tableau 2, Fig.2).

Tableau 2

La réaction de décomposition de l'eau oxygénée déterminée par le produit obtenu de *Mya arenaria*
 $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ consommés/ml

Temps (s)	Dilution 1/5 (6,9 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (3,45 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (0,69 mg prot./ml)
15	88,8	50,4	17,6
30	98,4	111,6	24,8
45	100	121,6	33,6
60	96,8	128	49,8
120	96,8	129,6	74,4

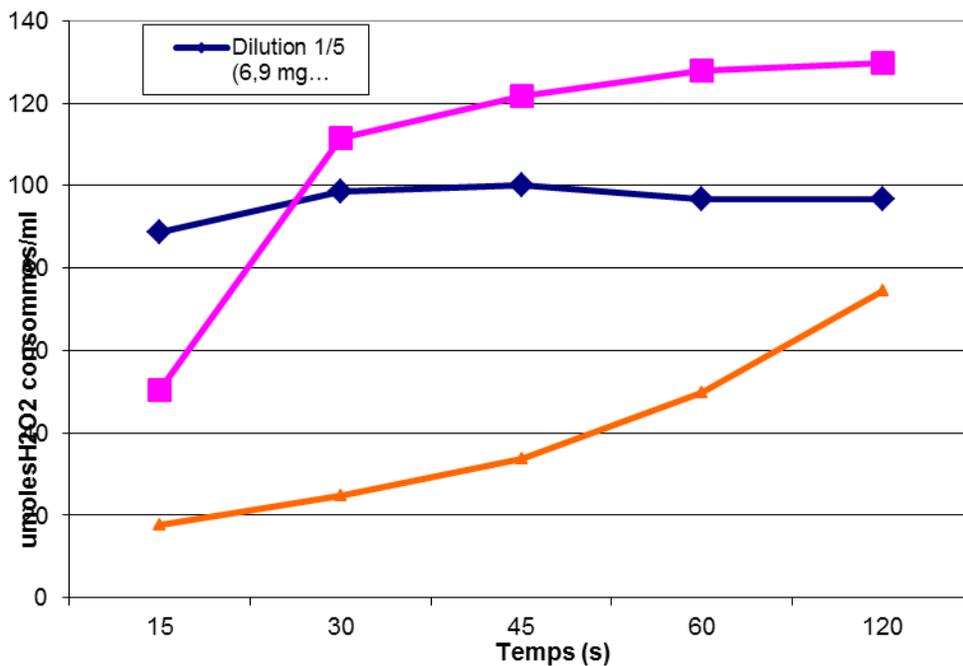


Fig. 2 - Variation de de décomposition de l'eau oxygénée en temps déterminée par le produit obtenu de *Mya arenaria*

La décomposition en temps de l'eau oxygénée par la catalase, dans le cas du produit obtenu de *Rapana thomasiana*, a conduit aux résultats présentés ci-après (Tableau 3, Fig.3).

Tableau 3

La réaction de décomposition de l'eau oxygénée déterminée par le produit obtenu de *Rapana thomasiana*
 $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ consommés/ml

Temps (s)	Dilution 1/5 (38,8 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (19,4 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (3,88 mg prot./ml)
15	52,8	27,2	4,8
30	94	49,6	8,8
45	122,4	64	8,8
60	124	68	10,4
120	125,6	80	24,8

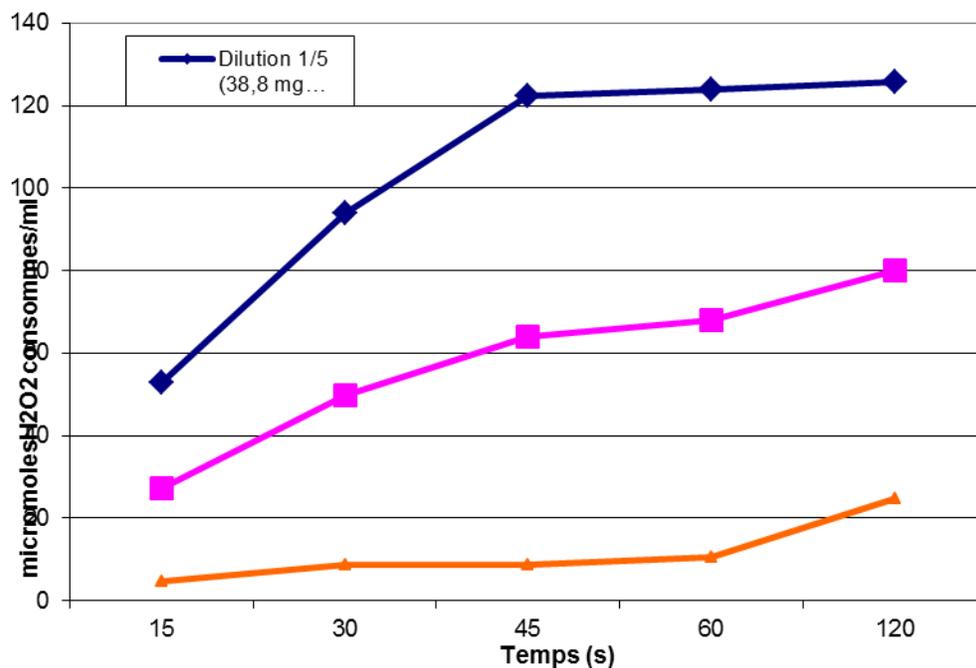


Fig. 3 - Variation de la décomposition de l'eau oxygénée en temps déterminée par le produit obtenu de *Rapana thomasiana*

Les activités enzymatiques exprimées en μ moles consommés/seconde dans la partie linéaire des graphiques sont celles du tableau 4.

Tableau 4

Activités enzymatiques de la catalase chez les espèces *Mytilus galloprovincialis*, *Mya arenaria*, *Rapana thomasiana* exprimées en μ moles H₂O₂ /sec.

	Dilution 1/5 (4,45 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (2,25 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (0,45 mg prot./ml)
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0,63	0,56	0,11
	Dilution 1/5 (6,9 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (3,45 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (0,62 mg prot./ml)
<i>Mya arenaria</i>	0,80	1,08	0,62
	Dilution 1/5 (38,8 mg prot./ml)	Dilution 1/10 (19,4 mg prot./ml)	Dilution 1/50 (3,88 mg prot./ml)
<i>Rapana thomasiana</i>	1,04	-	-

Les données obtenues nous permettent de conclure que les concentrations optimales de travail ont été les suivantes: 4,45 mg prot./ml pour *Mytilus galloprovincialis*, 3,45 mg prot./ml pour *Mya arenaria* et 32,8 mg prot./ml chez *Rapana thomasiana*.

Bien que la concentration protéique du produit obtenu de *Rapana thomasiana* soit environ 10 fois supérieur à celle de *Mya arenaria*, les activités catalytiques ont été approximativement égales (Tableau 4). De même, dans le cas de l'espèce *Mya arenaria* on a constaté la croissance de l'activité enzymatique pour une dilution du produit à une concentration de protéines de 3,45 mg/ml.

Dans le cas de *Mytilus galloprovincialis*, l'activité enzymatique a été évidemment inférieure aux deux autres espèces.

On peut en déduire que, dans le cas des deux espèces récemment pénétrées dans l'écosystème, les systèmes d'annihilation des radicaux toxiques de l'oxygène (H₂O₂) sont plus efficaces, dû, probablement, au milieu où elles ont été forcées à s'acclimater et à évoluer.

On peut également observer que, grâce à la facilité de son prélèvement et à son activité catalasique particulière, *Mya arenaria* constitue un organisme adéquat autant pour l'étude ultérieure de l'influence des composantes xénobiotiques sur l'écosystème marin, que pour le niveau de ces composantes dans l'environnement.

Les résultats envisagés dans le présent travail ont contribué à établir les conditions optimales de détermination de l'activité catalasique, et de la plus apte espèce pour l'étude de l'influence des composantes xénobiotiques.

BIBLIOGRAPHIE :

- ARTENIE V., TANASE E., 1981 - *Practicum de biochimie generala*, Centrul de multiplicare al Universitatii "Al.I.Cuza", Iasi: 209-211.
- IORDACHESCU D., DUMITRU I.F., 1988 - *Biochimie practica*, Ed. a 2-a revizuita si completata, Tipografia Universitatii din Bucuresti: 135-136.
- LEMAIRE P., LIVINGSTONE D.R., 1993 - Prooxidant/antioxidant processes and organic xenobiotic interaction in marine organisms, in particular the flounder *Platichthys flesus* and the mussel *Mytilus edulis*. *Trends in Comparat. Biochem. Physiol.*, **1**: 1119-1123.
- LIVINGSTONE D.R., 1991 - Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. In: Gilles R. (ed.), *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **7**: 45-185.
- LIVINGSTONE D.R., PIPE R.K., 1992 - Mussels and environmental contaminants: molecular and cellular aspects. In: Gosling E. (ed.), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, *Developments in Agriculture and Fisheries Science*, **25**: 425-447.

- PETRANU A., 1997 - *Black Sea Biological Diversity. Romania*, United Nations Publications, New York, Black Sea Environmental Series, **4**: 149-158.
- VIARENCO A., CANESI L., 1991 - Mussels as biological indicators of pollution, *Aquaculture*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, **94**: 225-261.
- WINSTON G.W., DI GILIO R.T., 1991 - Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, **19**: 137-151.