

Diagnostic écotoxicologique des populations de la sardine (*Sardina pilchardus*) pêchée le long des zones côtières atlantiques allant de Safi à Cap Blanc

Ecotoxicological diagnosis of the sardine populations (*Sardina pilchardus*) fished along the Atlantic coastal areas from Safi to Cape Blanc

(French only/En français seulement)

Y. Alkaa², A. Chafik¹, R. Bekkali² et A. Benhra¹

⁽¹⁾ Institut national de recherche halieutique, 2 rue de Tiznit, Casablanca, Maroc

⁽²⁾ Université Abdelmalek Essaâdi, Tétouan, Maroc

Alkaa, Y., Chafik, A., Bekkali, R. et Benhra, A. 2012. Diagnostic écotoxicologique des populations de la sardine (*Sardina pilchardus*) pêchée le long des zones côtières atlantiques allant de Safi à Cap Blanc. In/Dans S. Garcia, M. Tandstad and A.M. Caramelo (eds.). Science and Management of Small Pelagics. Symposium on Science and the Challenge of Managing Small Pelagic Fisheries on Shared Stocks in Northwest Africa, 11–14 March 2008, Casablanca, Morocco/Science et aménagement des petits pélagiques. Symposium sur la science et le défi de l'aménagement des pêcheries de petits pélagiques sur les stocks partagés en Afrique nord-occidentale, 11-14 mars 2008, Casablanca, Maroc. *FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings/FAO Comptes rendus des pêches et de l'aquaculture*. No. 18. Rome, FAO. pp. 435–440.

RÉSUMÉ

Notre travail porte sur l'application de certains biomarqueurs (méthallothionéines, activité catalase) pour l'évaluation de l'état de stress chez la population de *Sardina pilchardus* de la côte Atlantique de Safi à Cap Blanc.

Les résultats présentés sont relatifs à deux campagnes d'échantillonnage des petits pélagiques réalisées respectivement au niveau des zones côtières de Cap Blanc–Boujdour et de Boujdour–Safi. Le suivi des paramètres (biomarqueurs méthallothionéines et catalase) dans les tissus, foie, muscle et intestin de la sardine montrent que:

- le foie est l'organe de prédilection où ces biomarqueurs sont le mieux exprimés;
- la sardine des zones de Safi–Essaouira, Sidi Ifni–Tan Tan et de Dakhla se distingue par des taux élevés des deux biomarqueurs méthallothionéines et catalase, ce qui dénote un certain stress au niveau de ces zones côtières.

Mots clés: écotoxicologie, méthallothionéines, catalase, *Sardina pilchardus*, côte Atlantique

ABSTRACT

Our work concerns the use of biomarkers (metallothioneins and catalase activity) for the evaluation of stress state in the *Sardina pilchardus* population of the Atlantic coast from Safi to Cape Blanc.

The results presented relate to two sampling surveys of small pelagics carried out in the coastal areas from Cape Blanc–Boujdour and Boujdour–Safi respectively. The monitoring of the parameters (biomarkers metallothioneins and catalase) in the liver, muscle and intestine of sardine show that:

- the liver is the tissue of predilection where these biomarkers are the best expressed;
- sardine in the areas of Safi–Essaouira, Sidi Ifni–Tan Tan and of Dakhla is characterized by high levels of the two biomarkers metallothioneins and catalase, which indicate a certain stress in these coastal areas.

Keywords: ecotoxicology, metallothioneins, catalase, *Sardina pilchardus*, Atlantic coast.

1. INTRODUCTION

La présence des métaux lourds dans le milieu marin n'est pas sans conséquences puisqu'en plus de la pollution du milieu elle a des effets sur les populations marines telles que la sardine (*Sardina pilchardus*), se traduisant dans ses tissus par une forte concentration en métaux lourds. Les mécanismes de défense cellulaire des poissons sont ainsi stimulés par la néo-synthèse des protéines protectrices comme les métallothionéines (MT), ou par l'augmentation de l'activité de certaines enzymes telle que l'activité catalase (Cat) (Fernandes, Bebianno et Porte, 2008; Radi et Matkovic, 1988; Roche et Bogé, 1993).

Ces molécules contribuent au maintien d'un niveau relativement bas des éléments nocifs à la survie de la cellule. Ainsi, un excès en métaux (essentiels ou non) entraîne une induction de la production des MT. Leurs inducteurs majeurs sont le cadmium et le zinc, aussi bien après administration orale que parentérale (Cousins, 1979). C'est l'augmentation de la teneur en MT qui permet la prise en charge des métaux en les rendant non disponibles, donc non toxiques (Amiard et Cosson, 1997; Lagadic *et al.*, 1998). La catalase, quant à elle, est un composant antioxydant primaire de la défense. Elle élimine le peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), espèce réactive non-radicalaire de l'oxygène, qui peut pénétrer par toutes les membranes biologiques et directement inactiver quelques enzymes. Cette activité pourra être induite en fonction de plusieurs paramètres, notamment l'espèce, la nature ou la concentration du contaminant (Khessiba, Roméo et Aïssa, 2005; Bocchetti et Regoli, 2006).

L'intérêt pour ces biomarqueurs ne cesse d'augmenter, puisqu'ils sont considérés comme des outils fiables de prospection (Viarengo *et al.*, 1997, 1999; Gül *et al.*, 2004; Sanchez *et al.*, 2005; Atli *et al.*, 2006).

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la qualité du milieu marin, à travers la mesure des effets des métaux lourds, par l'évaluation des taux en MT et de la Cat dans différents tissus de *Sardina pilchardus*.

Ce travail, pour la première fois réalisé sur le littoral marocain, pourra fournir une base de données intéressante et utile pour de futures investigations sur les effets de polluants métalliques chez la sardine.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel biologique

L'échantillonnage a été fait en mai-juin et décembre 2007, à bord du N/R AL AMIR MOULLAY ABDELLAH de l'Institut national de recherche halieutique (INRH) du Maroc.

Des poissons *Sardina pilchardus* de tailles homogènes $18,6 \pm 2,9$ cm ont été pêchés au chalut à une profondeur de 5 à 120 m et un intervalle de 10-30 minutes, de 41 stations de l'Atlantique, allant du nord de la ville de Safi ($32^\circ 30,09''\text{N}$; $09^\circ 35,07''\text{W}$) au Cap Blanc ($21^\circ 11,90''\text{N}$; $017^\circ 19,47''\text{W}$).

Les tissus, foie, muscles et intestins ont été prélevés sur place à bord du navire et stockés dans des cryotubes, conservés dans des bouteilles d'azote liquide jusqu'au dosage. Une fois au laboratoire, les tissus ont été décongelés dans de la glace, puis traités immédiatement pour le dosage des biomarqueurs.

2.2 Dosage biomarqueurs

Les MT ont été spectrophotométriquement dosées à 412 nm selon la méthode décrite par Viarengo *et al.* (1997).

Le dosage de l'activité catalytique se fait selon d'Aebi (1983).

Les MT et activité Cat sont exprimées par rapport aux protéines totales, qui sont déterminées dans les différents tissus suivants (Lowry *et al.*, 1951), utilisant le sérum albumine bovin comme standard.

Les mesures ont été faites avec un spectrophotomètre type Shimadzu (model UV-1205) à une température constante de 20°C.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

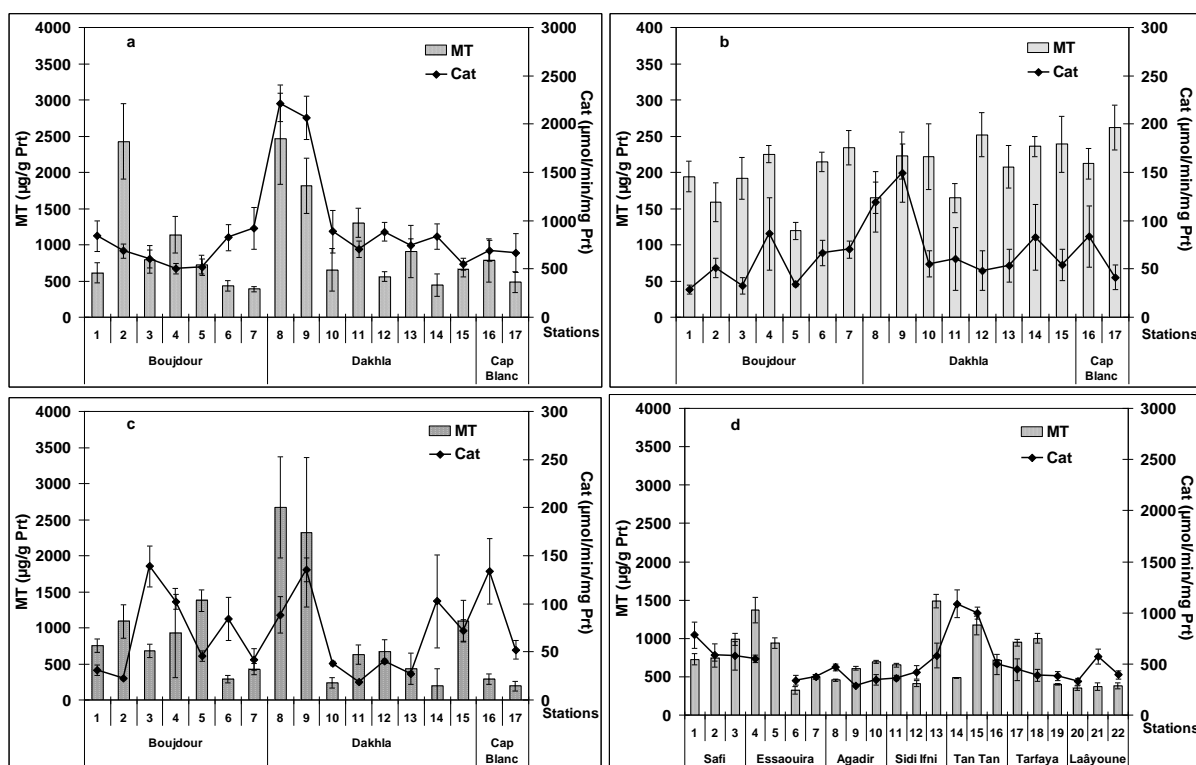


Figure 1: +MT et Cat de la sardine de la zone Boujdour–Cap Blanc, dans le foie (a), le muscle (b) et les intestins (c), ainsi que dans le foie de la sardine de la zone de Safi–Boujdour (d)

Zone Boujdour–Cap Blanc

- Les valeurs trouvées en MT et Cat au niveau du muscle (262–149 les plus grandes valeurs respectivement pour les MT et Cat) sont faibles par rapport à celles aux niveaux du foie (2 463–2 213) et intestins (2 673–139), ce résultats est confirmé par plusieurs travaux (Wu, Shih, et Ho, 2007; Cinier *et al.*, 1999) qui ont démontré que l'intestin et le foie accumulent plus le cadmium que le muscle. Wu, Shih, et Ho (2007) suggèrent que les métaux sont d'abord accumulés dans des organes cibles provisoires tel que les branchies puis transférés après aux organes digestifs tels que le foie, les reins et les intestins.
- Les valeurs en MT enregistrées dans le foie et l'intestin de notre travail sont très bien corrélées (76%) et montrent l'existence d'un point chaud de stress au niveau de Dakhla (stations 8 et 9).

Nos résultats dans le foie peuvent être expliqués par les travaux de Fernandes *et al.* (2008) qui a montré l'existence d'une forte corrélation entre MT et métaux dans le foie chez les poissons surtout par rapport au cadmium, zinc, mercure et chrome.

- L'induction des MT intestinaux a aussi été rapportée par de nombreuses études suite à une exposition aux métaux lourds tels que le cadmium (Chowdhury, Baldisserotto et Wood, 2005), le cuivre (Handy *et al.*, 1999; Berntssen *et al.*, 1999) et le nickel (Berntssen *et al.*, 2001), suggérant leur utilisation comme biomarqueurs de contamination métallique.
- L'activité catalase au niveau du foie de la sardine est significativement plus élevée que celle au niveau du muscle et de l'intestin. Ces résultats pourraient être liés à la grande accumulation des métaux dans le foie qui induisent des mécanismes de défenses tel que les enzymes de stress oxydant (catalase) (Basha et Rani, 2003). Ces résultats montrent aussi l'existence d'un stress oxydant au niveau de la sardine de Dakhla (stations 8 et 9).
- L'ensemble de nos résultats montre que le foie est l'organe le mieux adapté pour le dosage des biomarqueurs MT et Cat. Les résultats montrent aussi que la sardine de la région de Dakhla subit un stress de pollution qui pourra être lié entre autres à une contamination métallique.

Zone Safi–Boujdour

- Les concentrations en MT trouvées au niveau du foie de la sardine montrent l'existence de taux élevés au niveau des zones de Safi–Essaouira, Sidi Ifni–Tan Tan–Tarfaya.
- Les valeurs de la Cat au niveau de cette zone montrent des taux élevés au niveau de la sardine de Sidi Ifni Tan Tan (1088 ± 137 , station 14).

4. CONCLUSION

En présence de métaux lourds, les systèmes de défenses de la sardine sont stimulés, ainsi les défenses antioxydantes (catalase) sont induites en réponse à la présence de taux élevés en métaux lourds tels que le cadmium. Néanmoins, dans notre étude les taux en Cat diminuent dans certaines conditions, cela peut être attribué à l'induction spécifique des MT suite à cette même contamination.

Nos résultats montrent clairement que le foie est l'organe de prédilection où ces biomarqueurs sont le mieux exprimés. Ils montrent aussi que la sardine des zones de Safi–Essaouira, Sidi Ifni–Tan Tan–Tarfaya et Dakhla se distinguent par des taux élevés en métallothionéines, ce qui dénote un certain stress au niveau de ces zones côtières.

En conclusion, les résultats des deux campagnes de pêches à bord du N/R AL AMIR MOULLAY ABDELLAH, montrent que ces biomarqueurs (MT et Cat) sont des outils fiables d'évaluation des effets de la contamination métallique chez la sardine du sud. Le suivi des niveaux de ces biomarqueurs devrait être élargi dans le cadre d'un programme de suivi des pêcheries pour pouvoir dresser une cartographie des populations sujettes à ce type de stress.

5. RÉFÉRENCES

- Aebi, H.** 1983. Catalase, *In* Methods of enzymatic analyses. H.U. Bergmeyer (ed.), (II) 237–286.
- Amiard, J.-C. & Cosson, R.P.** 1997. Les métallothionéines. *Dans* L. Lagadic L., Th. Caquet, J.-C. Amiard & F. Ramade (eds.), Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux. Masson, Paris, 53–66.
- Atli, G., Alptekin, O., Tükel, S. & Canli, M.** 2006. Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 143, 218–224.
- Berntssen, M.H.G., Hylland, K., Bonga, S.E.W. & Maage, A.** 1999. Toxic levels of dietary copper in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Aquat. Toxicol.*, 46(2): 87–99.
- Berntssen, M.H.G., Aspholm, O.O., Hylland, K., Bonga, S.E.W. & Lundebye, A.-K.** 2001. Tissue metallothionein, apoptosis and cell proliferation responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed elevated dietary cadmium. *Comp. Biochem. Phys. C* 128(3): 299–310.
- Basha, P.S. & Rani, A.U.** 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56: 218–221.
- Bocchetti, R. & Regoli, F.** 2006. Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Adriatic Sea. *Chemosphere*, 65: 913–921.
- Chowdhury, M.J., Baldisserotto, B. & Wood, C.M.** 2005. Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in rainbow trout chronically acclimated to waterborne or dietary cadmium. *Arch. Environ. Con. Toxicol.*, 48(3): 381–390.
- Cinier, C.D., Petit-Ramel, M., Faure, R., Garin, D. & Bouvet, Y.** 1999. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 122: 345–352.
- Cousins, R.J.** 1979. Metallothionein synthesis and degradation: relationship to cadmium metabolism. *Environ Health Perspect* Feb; 28: 131–136.
- Fernandes, D., Bebianno, M.J. & Porte, C.** 2008. Hepatic levels of metal and metallothioneins in two commercial fish species of the Northern Iberian shelf. *Science of the total environment*, 391: 159–167.
- Gül, S., Belge-Kurutas, E., Yıldıza, E., Sahan, A. & Doran, F.** 2004. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30: 605–609.
- Handy, R.D., Sims, D.W., Giles, A., Campbell, H.A. & Musonda, M.M.** 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. *Aquat. Toxicol.*, 47(1): 23–41.
- Khessiba, A., Roméo, M. & Aïssa, P.** 2005. Effects of some environmental parameters on catalase activity measured in the mussel (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to lindane. *Environmental Pollution*, 133: 275–281.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farrar, N.J. & Randall, R.J.** 1951. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265–275.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C. & Ramade, F.** 1998. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- Radi, A.A.R. & Matkovics, B.** 1988. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, Vol. 90(1): 69–72.
- Roche, H. & Bogé, G.** 1993. Effects of Cu, Zn and Cr salts on antioxidant enzyme activities *In vitro* of red blood cells of a marine fish *Dicentrarchus labrax*. *Toxicology in Vitro*, Vol. 7(5): 623–629.
- Sanchez, W., Palluel, O., Meunier, L., Coquery, M., Porcher, J.-M. & Aït-Aïssa, S.** 2005. Copper-induced oxidative stress in three-spined stickleback: relationship with hepatic metal levels. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19: 177–183.

- Viarengo, A., Ponzano, E., Dontero, F. & Fabbri, R.** 1997. A simple spectrophotometric Method for Metallothionein evaluation in marine organisms: an application to mediterranean and antarctic molluscs. *Marine Env. Rech.*, Vol. 44(1): 69–84.
- Viarengo, A., Lafaurie, M., Gabrielides, G.P., Fabbri, R., Marro, A. & Roméo, M.** 1999. Critical evaluation of an intercalibration exercise undertaken in the framework of the MED POL biomonitoring program. *Marine Env. Rech.*, Vol. 49: 1–18.
- Wu, S.M., Shih, M.-J. & Ho, Y.-C.** 2007. Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) upon cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 145: 218–226.