

UTILISATION DU MODÈLE ÉCREVISSE COMME ESPÈCE BIOINDICATRICE DE POLLUTION. APPLICATION À L'ÉTUDE DES TRANSFERTS TROPHIQUES DU CADMIUM.

O. SIMON (1), A. BOUDOU (2)

-
- (1) Institute of Protection and Nuclear Safety, DPRE/SERLAB, Laboratory of Experimental Radioecology, CEN Caddarache, Building 186, BP 1, 13108 SAINT PAUL LEZ DURANCE, France. E-mail : olivier.simon@ipsn.fr
- (2) Laboratory of Ecophysiology and Ecotoxicology of Aquatic Systems, UMR 5805, University of Bordeaux 1, Station marine d'Arcachon, 33120 ARCACHON, France.

Reçu le 07 mars 2002
Accepté le 02 avril 2002

Received 07 March, 2002
Accepted 02 April, 2002

RÉSUMÉ

La bioaccumulation des métaux par les organismes aquatiques est directement liée aux modalités d'exposition : contamination directe via le milieu ou contamination trophique via l'ingestion de proies contaminées. Pour appréhender les perturbations des écosystèmes, il apparaît important de déterminer des espèces « bioindicatrices » et de mesurer la part respective de ces deux voies d'exposition.

Les travaux présentés concernent le transfert trophique du cadmium entre une proie, le bivalve benthique *Corbicula fluminea*, et un de ses prédateurs, l'écrevisse *Astacus astacus*.

Afin d'insister sur l'importance des modalités de prédation de ce crustacé, nous avons réalisé 2 approches expérimentales complémentaires. La première concerne la consommation « naturelle » de proies contaminées pendant 30 jours d'exposition, la seconde consiste à introduire directement un bol alimentaire de proies contaminées dans l'estomac des écrevisses par une technique de gavage.

Les résultats montrent une différence importante entre ces deux approches expérimentales.

Mots-clés : écotoxicologie, espèce bioindicatrice, voie trophique, cadmium.

USE OF THE BIOLOGICAL MODEL, THE CRAYFISH AS A BIOMARKER OF POLLUTION. CONSEQUENCES IN TERM OF CADMIUM TROPHIC TRANSFER RATES.

ABSTRACT

The bioaccumulation by aquatic organisms to trace metals is directly related to the exposure routes; direct contamination from the surrounding environment and trophic contamination through ingested contaminated preys.

To understand disturbances to ecosystems, it is important to determine biomarkers and to quantify the respective contributions of the two exposure routes. Works presented relate to the trophic transfer of cadmium between a prey, the clam *Corbicula fluminea*, and one of its predators, the crayfish *Astacus astacus*.

In order to define the uptake routes, we carried out 2 complementary approaches; the first concerning the « natural » consumption of preys contaminated during 30 days' exposure, the second consisted of directly introduction a homogenised samples of contaminated preys into the stomach of the crayfish by a force-feeding technique.

Results show marked differences between natural predation of field contaminated prey and force-feeding exposure.

Key words : trace metals, bioaccumulation, biomarker, trophic transfer, cadmium.

INTRODUCTION

La bioaccumulation des métaux par les organismes aquatiques est directement liée aux modalités d'exposition : contamination directe via le milieu ou contamination trophique via l'ingestion de proies contaminées. Pour appréhender les perturbations des écosystèmes naturels (métaux lourds), il est possible d'utiliser des espèces « bioindicatrices ». Ces modèles biologiques doivent permettre de détecter des faibles niveaux de pollution. Le choix des modèles biologiques repose sur la « sensibilité » de leur réponse et devra permettre de mesurer la part respective des deux voies d'exposition : voie trophique et voie directe.

La contamination trophique est considérée comme la voie prépondérante de l'accumulation de certains métaux, par exemple le mercure (BOUDOU et RIBEYRE, 1997 ; MOREL *et al.*, 1998). Dans le cas du cadmium (Cd), certains auteurs indiquent que le transfert par la voie directe d'exposition est majoritaire alors que d'autres privilégient la voie trophique d'exposition (CANLI et FURNESS, 1995 ; FARAG *et al.*, 1994 ; OLSSON *et al.*, 1998 ; PART et SVANBERG, 1991). Nous retiendrons d'une part, qu'il existe peu d'études relatives à la voie trophique d'exposition et d'autre part qu'il est difficile d'estimer la part respective de chacune de ces 2 voies d'exposition dans les mécanismes d'accumulation mesurés en milieu naturel.

Dans ces conditions, l'objectif de ce travail a été d'étudier la voie trophique d'exposition. Nous avons retenu l'écrevisse comme organisme prédateur. En effet, celle-ci présente d'importantes capacités d'accumulation des métaux lourds (MARANHAO *et al.*, 1999) et a fait l'objet de nombreuses études en écophysiologie et en biologie cellulaire et moléculaire (JENSEN, 1996 ; HUNER *et al.*, 1990 ; MEYER *et al.*, 1991). Notons enfin que les écrevisses sont largement représentées dans de nombreux écosystèmes d'eau douce (MOMOT *et al.*, 1978).

Deux approches expérimentales ont été entreprises : la première approche étudie le transfert trophique du cadmium entre une proie, le bivalve *Corbicula fluminea* préalablement exposé *in situ*, et l'écrevisse *Astacus astacus*. Les modalités de prédation retenues sont proches de celles rencontrées en milieu naturel. A l'inverse, la seconde approche, plus réductionniste et artificielle, s'appuie sur la technique de gavage, qui permet de mesurer avec précision les quantités de Cd introduites après une seule ingestion d'un homogénat de *C. fluminea*.

Les résultats de cet article présentent la bioaccumulation du Cd dans les principaux organes et tissus de l'écrevisse ainsi que les taux de transferts trophiques (TTR) obtenus pour les deux approches méthodologiques. Des différences très marquées apparaissent en fonction des modalités d'exposition : prédation naturelle (approche I) et prédation « artificielle » (approche II). Ces résultats confirment l'utilisation de l'écrevisse en tant que modèle biologique et confortent l'absence de consensus observée dans la bibliographie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Approche I - Prédation naturelle

Les *Corbicula fluminea*, bivalve filtreur - masse du corps mou de $0,354 \pm 0,014$ g - ont été exposées en milieu naturel à deux stations : une station de référence et une station contaminée. Après 30 jours d'exposition, la moyenne des concentrations dans le corps mou des *C. fluminea* est de 174 ± 8 ng-Cd.g⁻¹, poids frais (pf) (station de référence) et de $3\,075 \pm 135$ ng-Cd.g⁻¹, pf (station contaminée). Ces niveaux illustrent les fortes capacités d'accumulation de ces organismes. Elles ont été ensuite utilisées comme ration alimentaire pour nourrir les écrevisses.

Les écrevisses, *Astacus astacus* - individus mâles 9 cm, masse = $10,6 \pm 0,42$ g - introduites dans des enclos individuels, ont consommé soit des corps mous issus de la station de référence soit les corps mous des *C. fluminea* préalablement exposés pendant 30 jours. La ration alimentaire est composée d'un corps mou entier apporté quotidiennement à chaque écrevisse pendant 30 jours. L'exposition trophique a conduit à l'apport de $1\,850 \pm 90$ ng-Cd par écrevisse (consommation des proies de référence) et $32\,650 \pm 1\,400$ ng-Cd par écrevisse ($17,6$ x niveau de référence) pour la consommation des proies contaminées. Notons que la précision des mesures des quantités de proies apportées est primordiale pour le calcul des taux de transfert.

Afin d'éviter la contamination par la voie directe suite au relargage éventuel du Cd présent dans la proie et les fèces, nous avons choisi de remplacer 2/3 de la colonne d'eau tous les jours.

Approche II - Prédation artificielle : technique de gavage

La technique de gavage consiste à introduire, sous la loupe binoculaire, un homogénat de *C. fluminea* directement dans l'estomac des écrevisses via une seringue et un fin capillaire en verre à usage unique. Les *C. fluminea* ont été contaminées pendant 10 jours au laboratoire. Des expériences préliminaires nous ont permis de mesurer la masse optimale pouvant être introduite dans l'estomac des écrevisses, celle-ci est de l'ordre de 0,7 g soit 5 % de la masse moyenne des écrevisses.

Après homogénéisation mécanique des corps mous, la concentration moyenne accumulée est de $1\,462 \pm 20$ ng-Cd.g⁻¹, pf, correspondant en moyenne à une quantité de $1\,155 \pm 78$ ng-Cd, pf, introduite dans l'estomac de chacune des 12 écrevisses utilisées (écrevisses mâles âgées de 18 mois, masse = $14,6 \pm 0,5$ g).

Nous avons mesuré la distribution du cadmium au sein des principaux organes de l'écrevisse après 5 temps d'exposition : 0, 20 minutes, 1, 3 et 48 heures¹. Notons enfin que la structure anatomique du tube digestif de l'écrevisse - ectoderme, vaste estomac - permet la technique de gavage ; le taux de survie des organismes est de 100 %.

Organotropisme du Cd, mesure des concentrations accumulées et traitement statistique

Nous avons retenu 6 organes pour mesurer les niveaux d'accumulation : l'œsophage et l'estomac, les branchies^{**2}, l'intestin, la glande digestive : hépatopancréas (HP), la glande verte* et le muscle abdominal*. Afin d'éviter la contamination des instruments de dissection, ceux-ci sont systématiquement lavés dans de l'eau acidifiée (acide nitrique 10 % et eau ultra-pure milliQ). Le reste du corps* (RB), composé majoritairement de carapace, a été mécaniquement broyé. Notons qu'au cours de l'approche II, nous avons prélevé une partie de l'hémolymphe à l'aide d'une seringue à usage unique.

L'ensemble des échantillons biologiques a été conservé au congélateur (-20°C).

Les concentrations en Cd dans les échantillons biologiques ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique (Varian AA 400, GTA 96, limite de détection = 0,1 µg.L⁻¹-Cd).

Les moyennes et erreurs standards à la moyenne ont été calculées à partir d'au moins 3 répétitions pour l'ensemble des critères analytiques retenus. Les effets des facteurs - ingestion de *C. fluminea* de référence ou contaminés - sur la bioaccumulation du Cd chez l'écrevisse ont été étudiés par une ANOVA ($p < 0,05$) suivie par un test LSD (Least Square Deviation) (Statistica, version 5, 1997).

RÉSULTATS

Bioaccumulation du cadmium et taux de transfert trophique (approche I)

La concentration moyenne du Cd mesurée dans l'organisme entier après 30 jours d'exposition est de 67 ± 17 ng.g⁻¹, pf, après consommation des proies de référence et de 229 ± 13 ng.g⁻¹, pf, après consommation des proies contaminées. Ces valeurs illustrent l'existence d'un transfert trophique significatif de $5,3 \pm 0,3$ % (TTR = (quantité de Cd (ng) accumulée dans le prédateur/quantité de Cd (ng) apportée par la nourriture) * 100).

La distribution du Cd dans les différents organes de l'écrevisse est illustrée par la Figure 1. Pour les deux conditions étudiées, la classification des organes par niveau décroissant des concentrations est :

HP >> intestin, estomac > branchies >> glande verte > muscle, reste du corps (RB).

Après consommation des *C. fluminea* contaminées, l'hépatopancréas présente la plus forte bioaccumulation du Cd ($3\ 340 \pm 335$ ng.g⁻¹, pf), soit 3,6 x valeur de référence.

Pour l'estomac et l'intestin, les concentrations - 650 ng.g⁻¹, pf - sont nettement plus faibles que celles de HP (x 0,19). Pour les autres organes, les niveaux mesurés sont directement liés au transport du Cd par l'hémolymphe après traversée de la barrière digestive. Pour l'ensemble de ces organes, excepté l'intestin, les niveaux mesurés après

¹ Le délai de vidange de l'estomac est nettement inférieur à 48 heures.

² Afin de réduire les répétitions, les organes suivis d'un astérisque ont été regroupés sous le terme arbitraire d'organes « internes ».

consommation des proies contaminées sont significativement supérieurs aux niveaux de référence (test ANOVA) et représentent 37 % de la quantité totale de Cd accumulée ; ces résultats confirment donc l'existence d'un transfert trophique proie/prédateur.

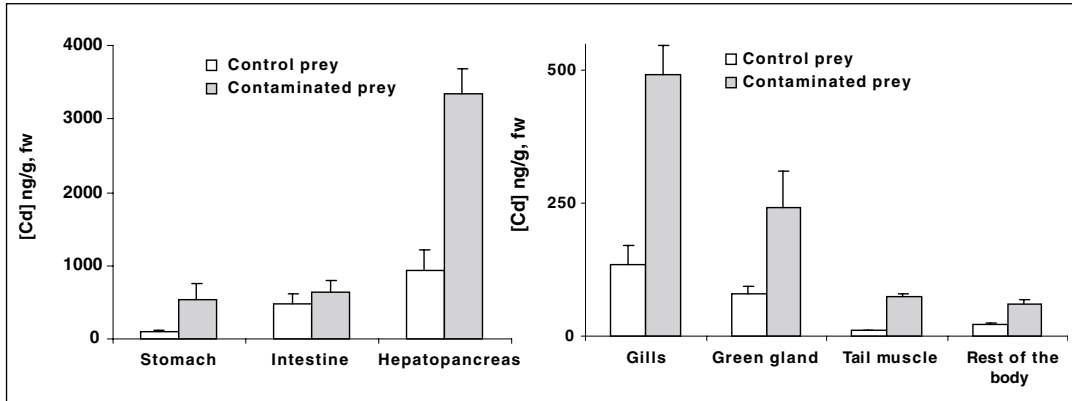


Figure 1
Concentrations moyennes en Cd (ng.g⁻¹, pf) dans les 7 organes d'*A. astacus* après exposition à la voie trophique pendant 30 jours. Les histogrammes représentent les valeurs moyennes (3 réplicats), les barres d'erreurs représentent l'erreur standard à la moyenne.

Figure 1
Cd average concentrations (ng.g⁻¹, fw) in 7 organs of *A. astacus* after trophic contamination for 30 days' exposure. Symbols: mean measured values per replicates and verticals bars: standard errors of mean (n = 3).

Bioaccumulation du Cd et taux de transfert trophique après la technique de gavage (approche II)

Au niveau « organisme entier », 48 heures après l'introduction de l'homogénat contaminé, la teneur moyenne est de 613 ± 131 ng-Cd, représentant 58 % de la quantité moyenne de Cd initialement ingérée.

La Figure 2 montre les teneurs relatives moyennes (niveaux de référence déduits) après 20/60 minutes et 48 heures comparées à la quantité de Cd initialement introduite dans l'estomac. Après seulement 20/60 minutes, 15,5 % du Cd - 184 ng - ont été éliminés de l'organisme. Ce type de résultats pourrait illustrer une excrétion intestinale très rapide. Par rapport à la quantité initialement introduite, le Cd a été excrété (15,5 %), stocké dans l'estomac (56,4 %) et accumulé dans les autres organes (28,1 %), tels que l'hépatopancreas (6,7 %), le reste du corps (13 %) et les branchies (2,6 %) ; l'accumulation très rapide observée dans les organes « internes » pourrait être en relation avec la nature de l'homogénat, accélérant les mécanismes de la digestion.

Entre 20/60 minutes et 48 heures, les teneurs relatives mesurées dans l'estomac ont diminué significativement (de 56,4 à 2,7 %), entraînant l'augmentation concomitante des concentrations dans les autres organes (de 28 à 47 %). Ces résultats montrent que le Cd quitte l'estomac et entraîne la contamination des autres organes principalement l'hépatopancreas, le reste du corps et l'hémolymphe, une partie du Cd étant éliminée. Les quantités de Cd mesurées dans les branchies, la glande verte et le muscle abdominal restent relativement constantes.

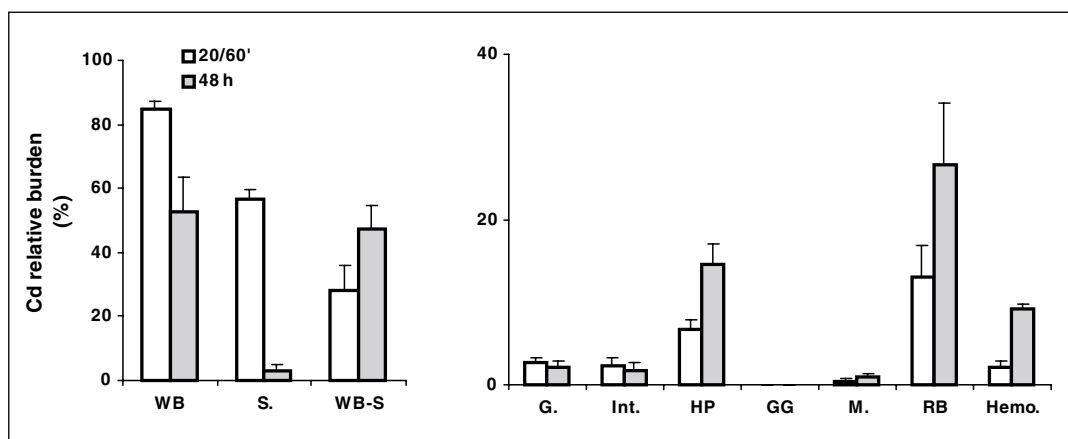


Figure 2

Teneurs relatives moyennes (%) en Cd (valeurs de référence déduites) mesurées dans l'organisme entier (WB), l'estomac (S.), l'organisme entier sans l'estomac (WB-S) et dans les 7 organes - branchies (G.), intestin (Int.), hépatopancréas (HP), glande verte (CG), muscle (M.), reste du corps (RB), hémolymphe (Hemo.) - 20/60 minutes et 48 heures après l'introduction forcée de Cd. Les histogrammes représentent les valeurs moyennes (3 réplicats), les barres d'erreurs représentent l'erreur standard à la moyenne.

Figure 2

Cd average relative burdens (%) (control values deduced) in the whole body (WB), stomach (S.), whole body without stomach (WB-S) and in 7 organs – gills (G.), intestine (Int.), Hepatopancreas (HP), green gland (GG), muscle (M.), rest of the body (RB), hemolymph (Hemo.) - 20/60' and 48 hours after force feeding experiment. Symbols: mean measured values per replicates and verticals bars: standard errors of mean (n = 3).

DISCUSSION

L'utilisation de ce modèle biologique permet de mettre en évidence l'existence du transfert trophique du cadmium. Ce crustacé d'eau douce - *A. astacus* ou l'ensemble des espèces invasives³ -, présent dans de nombreux cours d'eau peut donc être utilisé comme bioindicateur.

L'impact du transfert trophique peut être évalué à partir de la valeur des taux de transfert. Dans nos conditions expérimentales (approche I), cette valeur est faible, proche de 5 % mais elle est comparable aux données de la bibliographie (TTR < 10 %) (OLSSON *et al.*, 1998 ; SHAIKH et SMITH, 1980 ; W.H.O., 1992). Des approches expérimentales identiques entre *Corbicula fluminea* et *Astacus astacus* menées sur le méthylmercure montrent un TTR faible - 20 % - (SIMON et BOUDOU, 2001) comparé aux données de la littérature (BOUDOU et RIBEYRE, 1997). Ces valeurs nous ont amené à réaliser des études complémentaires (films vidéo) pour observer le comportement de prédation des écrevisses. Elles révèlent que les écrevisses dilacèrent les corps mous de *C. fluminea* grâce à leur pattes mâchoires ; ce mode d'ingestion entraîne une perte importante de nourriture et donc de contaminants. Près de 50 % de la masse de l'aliment ne seraient pas réellement ingérés par les écrevisses. Dans ces conditions propres au comportement

³ Des études comparables menées sur *Orconectes limosus* conduisent aux mêmes conclusions.

alimentaire de l'écrevisse, le TTR_{Cd} serait alors proche de 10 %, valeur en accord avec la littérature obtenue pour d'autres modèles biologiques. Enfin, nous retiendrons qu'une quantité significative de Cd serait réintroduite dans le milieu naturel et pourrait contribuer à la contamination d'autres organismes.

Un faible taux de transfert trophique peut cependant conduire à des niveaux d'accumulation relativement élevés - 1 200 ng-Cd - lorsqu'on prend en compte les quantités importantes de proies consommées par ce modèle (4 % de la masse de l'écrevisse par jour). Ainsi, il semble important de lier les concentrations bioaccumulées avec la valeur des taux de transfert pour quantifier l'impact réel de la voie trophique d'exposition et de prendre en compte le comportement alimentaire des organismes étudiés.

Pour quantifier les transferts trophiques en considérant les quantités réelles de contaminants ingérés, nous avons étendu notre approche en utilisant la technique de gavage. Cette technique montre que les capacités d'accumulation par la voie trophique peuvent être importantes - 58 % - après seulement un repas et une courte durée expérimentale - 48h -. Comparés aux résultats de l'approche I, des mécanismes de décontamination tels que les métallothionéines (MT), les métaux-riche-granules (MRG) (BAUDRIMONT *et al.*, 1997 ; WALLACE et LOPEZ, 1997) doivent se mettre en place pour réduire les quantités de Cd accumulées.

La comparaison de ces deux approches montrent le rôle des organes dans les mécanismes de détoxication. Dans nos conditions expérimentales, la succession des repas conduit à l'accumulation préférentielle de Cd dans l'hépatopancréas (60 % des teneurs relatives (approche I), $[HP]_{\text{approche I}} / [HP]_{\text{approche II}} = 4,8$), confirmant le rôle clé de cet organe dans les mécanismes de régulation de la contamination. Cet organe participe à l'accumulation, le stockage et l'élimination des métaux quelle que soit la voie d'exposition (CANLI et FURNESS, 1995 ; DEVI *et al.*, 1995 ; VOGT, 1994). Les métaux lourds tels que le Cd ou le plomb semblent s'accumuler dans le cytoplasme des cellules R de l'épithélium mais aussi dans de larges vacuoles situées près de la membrane apicale (MEYER *et al.*, 1991). Nous retiendrons de plus que l'homogénéisation des corps mous (broyage mécanique) peut d'une part augmenter la biodisponibilité du Cd et faciliter son transfert vers les compartiments internes et d'autre part, augmenter la fraction de nourriture gagnant l'hépatopancréas (seules les particules alimentaires les plus petites sont dirigées vers l'hépatopancréas pour y être digérées).

Enfin, ces résultats montrent que le Cd traverse la barrière digestive et s'accumule dans les organes « internes ». Cette traversée peut être assurée par le transport à travers des canaux ioniques ou par le transport spécifique protéique membranaire (RAINBOW, 1997). De nombreux travaux montrent que le Cd emprunte les canaux calciques pour entrer dans les cellules (SIMKISS et TAYLOR, 1995) ; le métal entrant en compétition avec cet ion majeur. Cependant dans ce cas d'un transfert trophique, nous pouvons ajouter à cette voie (majoritaire dans le cas de la voie directe d'exposition) la mise en place de mécanismes d'endocytose des métaux dans l'hépatopancréas. De tels mécanismes pourraient expliquer la corrélation obtenue par WALLACE et LOPEZ (1997) entre la quantité de Cd présent dans le cytosol de la proie et celle accumulée chez le prédateur/crevette (*Palaemonetes pugio*). Des études de microscopie électronique à transmission couplée à la détection d'éléments lourds (analyse des rayons X) devraient permettre de localiser une partie du Cd présent dans les cellules de l'hépatopancréas.

Nous nous sommes intéressés au compartiment musculaire. En effet, le transfert trophique de contaminants le long des réseaux trophiques est principalement lié à ce compartiment (sa masse relative est de 20 % chez *A. astacus*). Rappelons que les données de la bibliographie (MARCOVECCHIO et MORENO, 1993 ; OLSSON, 1998) indiquent que ce compartiment n'est pas considéré comme une cible privilégiée du Cd,

quels que soient le modèle biologique - bivalve, poisson, etc. -, la voie d'exposition - directe et/ou trophique - et la nature des études - en milieu naturel ou au laboratoire -. Dans nos conditions expérimentales, l'accumulation du Cd dans le muscle est cependant mise en évidence dans l'approche I. Ainsi, seule l'ingestion répétée de repas contaminés - représentative des conditions rencontrées en milieu naturel - semble conduire à la contamination de ce compartiment, qui peut donc, dans ces conditions, entraîner le transfert du Cd le long des réseaux trophiques.

CONCLUSION

Ces résultats montrent l'existence d'un transfert trophique du Cd entre une proie et l'écrevisse. Le Cd traverse la barrière de l'hépatopancréas - où il s'accumule en quantité importante - et gagne d'autres compartiments tissulaires - la branchie et le muscle - via l'hémolymphe. Des approches complémentaires devront mettre en évidence la nature de ces transferts et indiquer si ces mécanismes sont directement liés aux modalités d'exposition des organismes. Ces deux approches expérimentales, rendues possible par l'utilisation d'un modèle biologique particulier, l'écrevisse, conduisent à des valeurs de taux de transfert très différentes. Ces résultats confirment la diversité des données observées dans la bibliographie. Ainsi, l'absence de consensus qui en découle peut être associée à la diversité des approches expérimentales entreprises - choix du modèle biologique, durée d'exposition, prise en compte du comportement alimentaire du prédateur, etc. -. Pour prédire l'impact de la voie trophique sur les écosystèmes, il semble important de développer de nouvelles approches méthodologiques qui reproduisent les conditions de contamination rencontrées en milieu naturel.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUDRIMONT M., METIVAUX J., MAURY-BRACHET R., RIBEYRE F., BOUDOU A., 1997. Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10, 2096-2105.
- BOUDOU A., RIBEYRE F., 1997. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. In : SIGEL A. and SIGEL H. (Eds.), Mercury and its effects on Environment and Biology, 289-319, Marcel Dekker, New York.
- CANLI M., FURNESS R.W., 1995. Mercury and cadmium uptake from seawater and from food by the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14, 819-828.
- DEVI M., THOMAS A.T., BARBER J.T., FINGERMAN M., 1995. Accumulation and physiological and biochemical effects of cadmium in a simple aquatic food chain. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 33, 38-43.
- FARAG A.M., BOESE C.J., WOODWARD D.F., BERGMAN H.L., 1994. Physiological changes and tissue metal accumulation in rainbow trout exposed to food and waterborne metals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13, 2021-2029.
- HUNER J.V., KONONEN H., LINDQVIST O.V., 1990. Variation in body composition and exoskeleton mineralization as function of the molt and reproductive cycles of the noble crayfish, *Astacus astacus* L. (Decapoda, Astacidae), from a pond in central Finland. *Comp. Biochem. Physiol.*, 96, 235-240.
- JENSEN F.B., 1996. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*). *Aquat. Toxicol.*, 34, 95-105.
- MARANAHAO P., MARQUES J.C., MC MADEIRA V., 1999. Zinc and cadmium concentrations in soft tissues of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) after exposure to zinc and cadmium. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18 (8), 1769-1771.

- MARCOVECCHIO J.E., MORENO V.J., 1993. Cadmium, zinc and total mercury levels in the tissues of several fish species from La-Plata river estuary. *Environ. Monit. Assess.*, 23 (2), 119-130.
- MEYER W., KRETSCHMER M., HOFFMANN A., HARISCH G., 1991. Biochemical and histochemical observations on effects of low level heavy metal load (lead, cadmium) in different organ systems of the freshwater crayfish, *Astacus astacus* L. (Crustacea: Decapoda). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 21, 137-156.
- MOMOT W.T., GOWING H., JONES P.D., 1978. The dynamics of crayfish and their role in ecosystems. *Am. Midl. Nat.*, 99, 10-35.
- MOREL F.M.M., KRAEPIEL A.M.L., AMYOT M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 29, 543-566.
- OLSSON P.E., KLING P., HOGSTRAND C., 1998. Mechanisms of heavy metal accumulation and toxicity in fish. In : LANGSTON W.J. and BEBIANNO M.J. (Eds.), Metal metabolism in aquatic environments, 321-350, Chapman and Hall, London.
- PART P., SVANBERG O., 1991. Uptake of cadmium in perfused rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gills. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38, 917-923.
- RAINBOW P.S., 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in Crustaceans. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44, 169-175.
- ROESIJADI G., 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.*, 22, 81-114.
- SHAIKH Z.A., SMITH J.C., 1980. Metabolism of orally ingested cadmium in humans. In : HOLMSTEDT B., LAUWERYS R., MERCIER M. and ROBERFROID M. (Eds.), Mechanisms of toxicity and hazard evaluation, Elsevier, Amsterdam, 569-574.
- SIMKISS K., TAYLOR M.G., 1995. Transport of metals across the membrane of aquatic organisms. In : TESSIER A. and TURNER D.R. (Eds.), Metal speciation and bioavailability in aquatic systems, 1-44, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- SIMON O., BOUDOU A., 2001. Simultaneous experimental study of « direct » and « direct + trophic » contamination of the crayfish *Astacus astacus* by inorganic mercury and methylmercury. *Environ. Toxicol. Chem.*, 38 (3), 317-326.
- VOGT G., 1994. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea: Decapoda). *Zoomorphology*, 114, 83-101.
- WALLACE W.G., LOPEZ G.R., 1997. Bioavailability of biologically sequestered cadmium and the implications of metal detoxification. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 147, 149-157.
- W.H.O., 1992. Cadmium. Environmental Health Criteria 134. WHO, Geneva.