

Contamination accidentelle par le cadmium d'un mollusque *Ruditapes decussatus* : bioaccumulation et toxicité (Cl 50,96 H)

Pollution accidentelle
Cadmium
Mollusque
Toxicité
Bioaccumulation
Accidental pollution
Cadmium
Mollusc
Toxicity
Bioaccumulation

M. Henry^a, W. Huang^a, C. Cornet^a, M. Belluau^b, J.-P. Durbec^c

^a Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, rue Henri-Poincaré, 13397 Marseille Cedex 13.

^b Laboratoire d'Écologie numérique, Faculté de Luminy, 13288 Marseille Cedex 9.

^c Inserm U 31, Hôpital Sainte-Marguerite, 13009 Marseille.

Reçu le 10/10/83, révisé le 18/1/83, accepté le 24/1/84.

RÉSUMÉ

Un modèle expérimental de contamination accidentelle du mollusque bivalve *Ruditapes decussatus* est mis au point pour étudier les effets biologiques du cadmium. Le présent travail analyse la toxicité et la bioaccumulation du cadmium dans la palourde contaminée par du chlorure de cadmium aux concentrations respectives de 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 et 20 mg Cd/l pendant 36 jours à $14^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Les courbes de toxicité et de bioaccumulation du cadmium sont construites et analysées. Les CL 50 obtenues à partir des résultats expérimentaux de toxicité et des valeurs calculées par des modèles mathématiques (modèle logistique et méthode de Spearman-Kärber), donne des résultats concordants. La CL 50 96 H. déterminée par le modèle logistique est de $7,08 \pm 3$ mg Cd/l. La cinétique de bioaccumulation du cadmium dans les palourdes montre que *Ruditapes decussatus* doit être classée parmi les espèces à haute affinité pour le cadmium.

Oceanol. Acta, 1984, 7, 3, 329-335.

ABSTRACT

Accidental contamination by cadmium of the mollusc *Ruditapes decussatus*: bioaccumulation and toxicity (LD 50, 96 H)

A laboratory model of accidental pollution is established to investigate the biological effects of cadmium on a bivalve mollusc, the clam *Ruditapes decussatus*. The present study assesses the toxic effects and bioaccumulation of cadmium in clams polluted by 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 et 20 mg Cd/l for 36 days at $14^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Lethality and bioaccumulation curves are drawn and analysed. Experimental results of LD 50 and values estimated by mathematical models (logistic and Spearman-Kärber) fit quite well. The LD 50 96 H is determined by the "logit" model to the rate of 7.08 ± 3 mg Cd/l. Cadmium bioaccumulation kinetics in clams indicates that *Ruditapes decussatus* may be classified as a high cadmium affinity species.

Oceanol. Acta, 1984, 7, 3, 329-335.

INTRODUCTION

Le cadmium induit des effets toxiques nombreux chez les plantes, les animaux et les hommes (Degraeve, 1981), notamment des anomalies génétiques (Deknudt, Léonard, 1975; Watanabe *et al.*, 1979), des phénomènes de stérilisation (Parizek, 1960), de tératogénèse (Ferm, Carpenter, 1967) et de carcinogénèse (Kazant-

zis, Hanbury, 1966; Piscator, 1981; Saxena, 1981). il est l'une des causes majeures de la maladie Itaï-Itaï qui frappa la population japonnaise (Tsuchiya, 1969 *a* et *b*; Chilson, 1974; Lauwerys *et al.*, 1979), et il intervient dans le syndrome de Franconi (Gonik *et al.*, 1980).

Les teneurs en cadmium de l'eau de mer, loin des côtes, sont basses, inférieures à 1 µg/l (Bouquiaux, 1974),

mais elles augmentent considérablement sur le littoral : sur l'Atlantique elles atteignent 2,2 µg/l en baie de Saint-Jean de Luz [Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), 1974-1975]; en Méditerranée 1,4 µg/l à Nice et Sète, 2 µg/l à Fos, 3,5 µg/l à Marseille et 7 µg/l à l'embouchure du canal de Caronte. Les estuaires les plus pollués atteignant 30 µg/l (Thornton *et al.*, 1975).

La situation est d'autant plus préoccupante que le cadmium a une longue demi-vie notamment dans les écosystèmes marins (Frazier, 1979).

Il est connu que l'impact du cadmium en milieu marin varie en fonction de multiples facteurs physiques, chimiques et biologiques intriqués. Ainsi le cadmium adsorbé sur le particulaire en eau douce est désorbé en milieu marin, se retrouvant sous forme dissoute Cd^{++} ; en laboratoire l'étude de la toxicité, et particulièrement intéressante en ce qu'elle porte sur une forme identique à celle observée en milieu naturel. De plus, face à l'extrême complexité de l'écotoxicologie marine, l'expérimentation *in vitro*, sur modèle simplifié, avec paramètres biotiques et abiotiques contrôlés, nous semble être une donnée de base précieuse pour l'étude des effets d'un polluant donné. Dans cette optique, il nous a paru opportun de choisir un modèle expérimental simple et pratique pour rassembler un maximum d'informations concernant les effets biologiques de cadmium : toxicité, bioaccumulation, modifications physiologiques et structurales des animaux.

Le présent travail concerne une modalité de contamination expérimentale accidentelle de la palourde *Ruditapes decussatus* par le chlorure de cadmium. La gamme de concentrations de chlorure de cadmium choisie s'étend entre une valeur basse, proche d'un milieu naturel côtier pollué, et une valeur élevée sans aucune mesure avec les valeurs du milieu naturel. Néanmoins, ce modèle *in vitro* permet d'étudier corrélativement, en milieu contrôlé, les divers effets du cadmium sur la palourde : toxicité et bioaccumulation d'une part, modifications physiologiques et ultrastructurales avec localisation intracellulaire du métal, d'autre part (travail en cours). Ces données corrélées devraient permettre de progresser dans la connaissance fondamentale du métabolisme du cadmium.

Sur ce modèle, nous avons donc dans un premier temps étudié simultanément la bioaccumulation du polluant et sa toxicité.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

La palourde *Ruditapes decussatus* a été retenue comme organisme test en raison de sa valeur écologique (chaînes alimentaires) et économique : elle a une forte valeur commerciale, est très répandue dans les mers, et notamment en Méditerranée où sa culture se développe (Maître-Allain, 1981). De plus, son maintien *in vitro* est relativement facile. Les animaux choisis sont des

palourdes adultes de taille moyenne comprise entre 34 et 39 mm, des deux sexes, récoltées dans l'étang de Thau, en Méditerranée.

Méthodes

Modalités de contamination

Les palourdes sont contaminées par du chlorure de cadmium ($CdCl_2$, H_2O , Merck), dissous dans de l'eau de mer aux concentrations respectives de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 et 20 mg de cadmium/l.

A chaque concentration correspondent 2 bacs en plastique de 50 animaux contenant 15 l d'eau de mer. Les bacs témoins ne recevant pas de polluant montrent une teneur en cadmium $< 0,05$ µg/l. Les expériences durent 36 jours, la température dans les bacs est de $14 \pm 2^\circ C$, la salinité est maintenue à 34 ‰, le pH est de 8,0; l'oxygénation du milieu est assurée par bullage important. Les animaux ne reçoivent pas de nourriture et peuvent vivre très longtemps dans ces conditions. Signalons que les bacs en plastique ont été testés dans les conditions de l'expérience : l'absorption du cadmium sur les parois est négligeable compte tenu des doses de polluant utilisées (Cornet, 1982).

Méthodes de dosage

Les expériences sont menées dans des séries de bacs parallèles, certaines séries étant réservées à l'étude de la toxicité, d'autres à l'étude de la bioaccumulation. Pour cette dernière nous procédons comme suit : tous les deux jours, à heure fixe, 2 animaux sont congelés vivants, le 1^{er} jour, exceptionnellement 2 palourdes sont prélevées 8 h et 24 h après contamination. Les animaux congelés à $-18^\circ C$ sont débarrassés de leur coquille et lyophilisés : 0,3 g de l'échantillon lyophilisé sont minéralisés par un mélange d'acide perchlorique et d'acide nitrique (10:2). L'attaque est poursuivie pendant 4 h dans un bain-marie à $70^\circ C$; 3 gouttes d'une solution d'hydroxyle d'ammonium (50/100 ml) sont additionnés au mélange. Après filtration, les échantillons sont dilués à 50 ml avec de l'eau distillée (Johansson, 1975) et le dosage est réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme (spectrophotomètre IL 251).

Parallèlement aux prélèvements des animaux, des prélèvements d'eau de mer échelonnés dans le temps sont effectués dans les différents bacs. Le principe de l'analyse des échantillons d'eau de mer consiste, après mise au pH d'environ 2,5 par adjonction d'acide chlorhydrique, en une addition de chlorure de sodium entraînant la formation de complexes avec le sel d'ammonium de l'acide pyrrolidinothiocarboxylique (APDC) suivie d'une extraction de ces chélates par un solvant, la méthyl-isobutylcétone (MIC; Cetama, 1976). Le dosage s'effectue sur la phase organique par la technique de spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme.

Détermination de la toxicité

Estimation de la létalité

Les animaux sont quotidiennement observés à la même heure pendant toute la durée de l'expérience. Le critère de létalité choisi est simple : les animaux morts ont leurs deux valves béantes, et la mort est certaine lorsque les valves restent ouvertes même après avoir essayé de les fermer par pression. Les individus morts sont aussitôt enlevés des bacs.

Méthodes de détermination des CL 50

L'estimation des concentrations létales 50% peut se faire :

— soit par une méthode paramétrique supposant que les seuils de tolérance individuels sont distribués suivant une loi de probabilité appartenant à une famille donnée;

— soit par une méthode non paramétrique, nécessitant des hypothèses beaucoup moins restrictives, mais demandant toutefois que la moyenne de la distribution des tolérances existe et soit finie.

Dans ce travail, on suppose que les courbes concentration-réponse étudiées sont monotones croissantes. Autrement dit, on suppose que la toxicité du polluant augmente régulièrement en fonction de la concentration.

Deux méthodes seront utilisées : le modèle logistique (paramétrique) et la méthode (non paramétrique) de Spearman-Kärber avec crible. Le modèle « logit » est préférable au modèle bien connu des probits (distribution normale des tolérances); en effet, il donne des estimations de la CL 50 très voisines de celles du modèle probit, pour une complexité de calculs beaucoup plus faible.

— Dans le modèle logistique, la probabilité $P(x)$ de réponse à une dose x de toxique s'exprime sous la forme :

$$P(x) = \frac{1}{1 + e^{a+bx}}$$

On pose :

$$\text{Logit } P(x) = \text{Log} \frac{P(x)}{1 - P(x)}$$

soit $\text{Logit } P(x) = -(a + bx)$.

$$CL\ 50 = \sum_{i=1}^{k-1} [P(x_{i+1}) - P(x_i)] (x_{i+1} - x_i) / 2.$$

a et b sont deux constantes inconnues caractérisant la distribution des tolérances. Des estimations \hat{a} et \hat{b} peuvent être obtenues à partir des résultats d'une expérience en utilisant par exemple la méthode du maximum de vraisemblance.

La CL 50 estimée est égale à : $CL\ 50 = -\frac{\hat{a}}{\hat{b}}$.

Une estimation de la variance asymptotique de la CL 50 est obtenue comme un sous-produit de la méthode du maximum de vraisemblance (Cox, 1972).

— La méthode de Spearman-Kärber permet d'obtenir une estimation non paramétrique de la CL 50 par :

Les valeurs de x_i correspondent aux k concentrations choisies pour l'expérience. Les $P(x_i)$ sont ordonnées de façon croissante. On peut dans certains cas être amené à effectuer des ajustements pour que cette hypothèse soit satisfaite.

Généralement on exige de plus que :

$$P(x_1) = 0 \text{ et } P(x_k) = 1.$$

On montre cependant qu'il est possible de cribler l'estimateur précédent en ne conservant que la partie centrale de l'ensemble des valeurs. L'estimateur proprement dit de Spearman-Kärber correspond à un crible à 0%. L'estimation obtenue par ce moyen est souvent meilleure. La variance de ces estimateurs est cependant plus difficile à estimer que dans les modèles paramétriques.

RÉSULTATS

Étude de la bioaccumulation

Les quantités de cadmium ($\mu\text{g/g}$ poids sec) relevées dans les palourdes contaminées pendant 36 jours par le cadmium aux concentrations respectives de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 et 20 mg/l ont permis d'établir les courbes d'accumulation du cadmium dans les palourdes au cours du temps, aux différentes concentrations du polluant (fig. 1).

L'analyse des courbes d'accumulation montre que :

— aux concentrations les plus faibles de l'expérience (0,05, 0,1 mg/l), l'accumulation du cadmium est lente

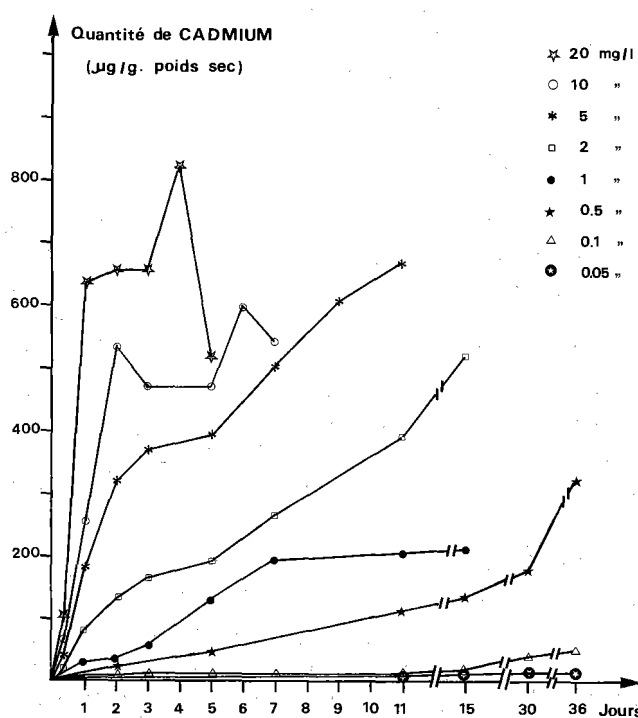


Figure 1
Courbes d'accumulation du cadmium dans les palourdes au cours du temps et à des concentrations différentes de polluant.
Uptake of cadmium in clams over a period of 36 days at various levels of pollutant.

et relativement faible. Toutefois, en poursuivant l'expérience dans le temps, la quantité de cadmium accumulée s'accroît continuellement;

— aux concentrations intermédiaires de 0.5 à 5 mg/l, l'accumulation du cadmium dans les animaux est de plus en plus rapide, régulièrement croissante et atteint des taux élevés. En fait, plus la concentration de polluant est forte, plus l'accumulation du cadmium est intense et rapide. Le facteur de concentration est considérable : ainsi, en 7 jours, les palourdes contaminées à 5 mg/l dans nos conditions expérimentales ont accumulé plus de 100 fois le polluant;

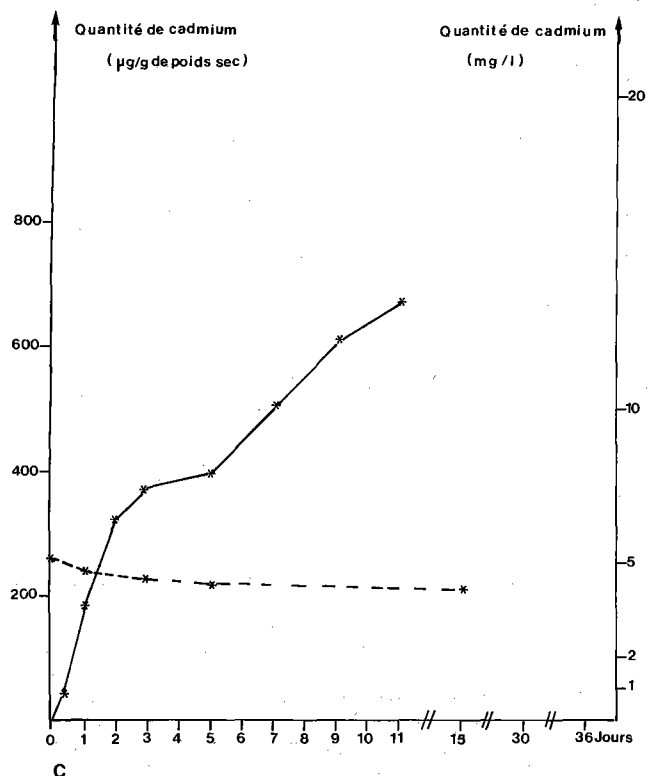
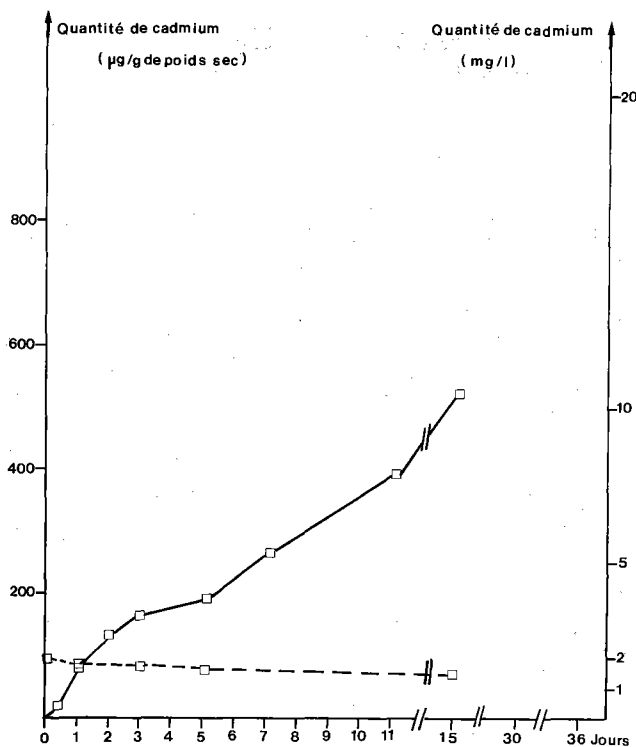
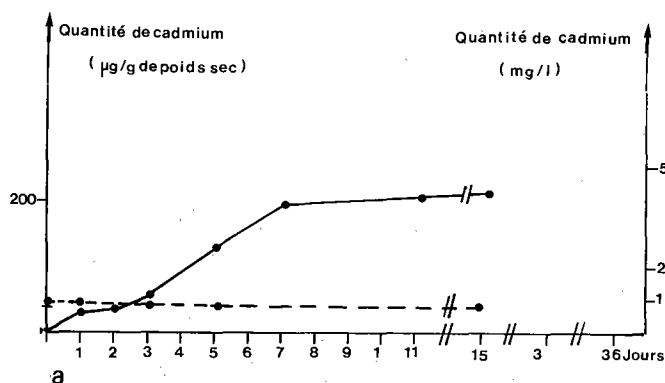
— aux concentrations les plus fortes (10 et 20 mg/l), l'accumulation du cadmium dans les animaux est très rapide et très intense : ainsi, pour les palourdes contaminées à 20 mg/l, un facteur de concentration de 30 est atteint en 24 h, permettant aux animaux d'accumuler des teneurs en Cd de plus de 600 $\mu\text{g/g}$ de poids sec. Notons que pour la première fois les courbes d'accumulation ne sont pas régulièrement croissantes mais présentent une allure en dents de scie dans leur phase finale.

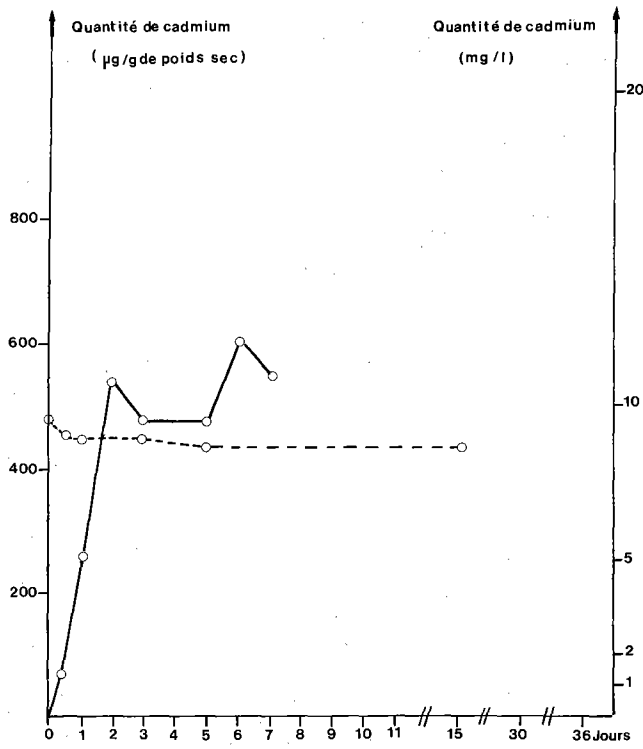
Les teneurs en cadmium mesurées dans l'eau des différents bacs expérimentaux ont permis d'établir la cinétique du cadmium dans l'eau au cours de l'expérimentation : pour les valeurs ≤ 5 mg/Cd/l, nous constatons, parallèlement à une accumulation de cadmium dans les animaux la régulière diminution du cadmium dans l'eau des aquariums (fig. 2 a, b, c); pour les valeurs ≥ 10 mg Cd/l la diminution rapide du polluant dans l'eau des aquariums correspond à la massive pénétration du cadmium dans les animaux; puis les teneurs en cadmium de l'eau des aquariums atteignent un palier tandis que les courbes d'accumulation du cadmium dans les palourdes fluctuent (fig. 2 d, e).

Analyse de la toxicité

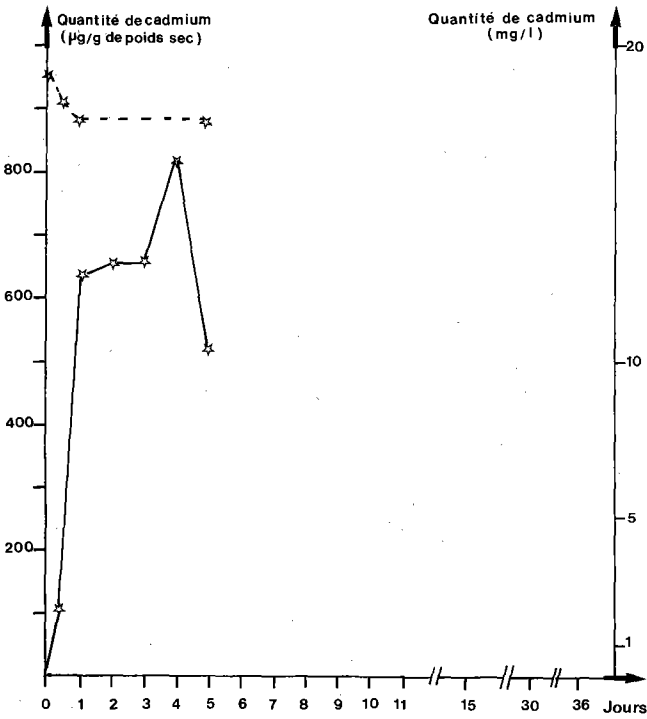
Les résultats, exprimés en pourcentage d'individus morts au cours du temps et aux différentes concentrations de cadmium, ont permis de tracer les courbes représentant le pourcentage d'individus morts en fonction du temps de contamination, pour chaque concentration de polluant. Ces courbes sont rassemblées sur la figure 3.

L'analyse comparée des courbes montre que, pour des doses de polluant ≥ 0.5 mg/l, la toxicité du cadmium augmente avec la concentration du polluant: par exemple pour un temps donné de 4 jours, les concentrations de cadmium ≤ 0.5 mg/l n'engendrent aucune mortalité, les taux de 1 et 2 mg/l induisent une mortalité $< 50\%$, ceux de 5 et 10 mg/l une mortalité $> 50\%$; à la concentration de 20 mg/l, la mortalité engendrée est de 100%. Notons que dans nos conditions d'expériences, aux doses ≥ 0.5 mg/l, le cadmium engendre en moins d'un mois une mortalité totale; alors qu'aux doses ≤ 0.05 mg/l le taux de mortalité se stabilise pendant 36 jours à 2%. L'analyse des courbes expérimentales de toxicité (fig. 3) permet le tracé préliminaire des points de mortalité 50% à partir des résultats expérimentaux (fig. 4).





d



e

Figure 2

Courbes de l'évolution de la teneur en cadmium dans l'eau de mer (---), et de bioaccumulation du cadmium dans les palourdes (—) après contamination expérimentale à : figure a : 1 mg/l ●; figure b : 2 mg/l □; figure c : 5 mg/l *; figure d : 10 mg/l ○; figure e : 20 mg/l ☆.

Variations in the level of cadmium in sea-water (---) and bioaccumulation of cadmium in clams (—) after experimental pollution with: figure a: 1 mg/l ●; figure b: 2 mg/l □; figure 2: 5 mg/l *; figure d: 10 mg/l ○; figure e: 20 mg/l ☆.

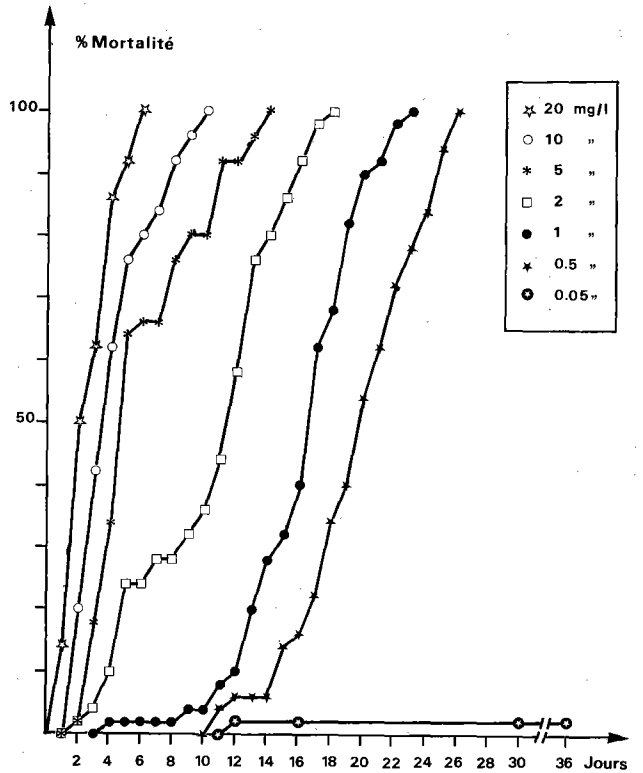


Figure 3

Courbe de pourcentages d'individus morts après contamination à différentes concentrations de $CdCl_2$ pendant 36 jours.

Percentage of dead animals polluted by different cadmium concentrations over a period of 36 days.

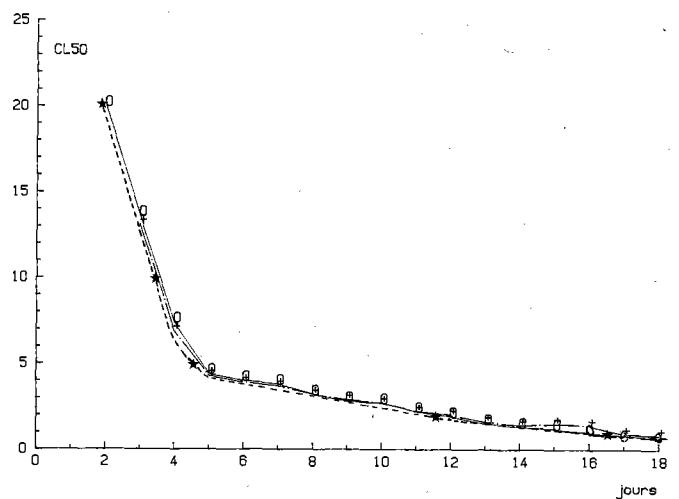


Figure 4

Courbes de concentrations létales (CL 50) de cadmium pour des palourdes contaminées à divers taux de $CdCl_2$; étude comparative des résultats expérimentaux (*) et des valeurs estimées par le modèle logistique (○) et la méthode Spearman-Kärber (+).

Cadmium lethal concentrations (LD 50) for clams polluted by various $CdCl_2$ levels. Comparison of experimental results (*) and values estimated by "logit" model (○) and Spearman-Kärber method (+).

Les estimations des CL 50 calculées par le modèle logistique et Spearman-Kärber permettent de tracer les courbes correspondantes (fig. 4; ○ = logit; + = Spearman-Kärber), et d'évaluer la CL 50,96 H à 7.8 mg Cd/l pour les résultats expérimentaux, 7.08 ± 3 mg Cd/l par le modèle logistique, 6.9 mg Cd/l par la méthode de Spearman-Kärber.

DISCUSSION

Les courbes des CL 50,96 H, tracées à partir des résultats expérimentaux et des valeurs estimées par le modèle logistique et la méthode de Spearman-Kärber, sont très voisines. Elles nous permettent de retenir pour *Ruditapes decussatus*, dans nos conditions expérimentales, à $14^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, une CL 50,96 H de 7.08 ± 3 mg Cd/l. La facilité de calcul offerte par le modèle logistique, nous le fait préférer; la méthode non paramétrique de Spearman-Kärber, présente quant à elle la difficulté d'obtenir une estimation de la variance de la CL 50, mais peut être efficacement utilisée comme nous l'avons fait ici à titre de vérification. Il est connu que les CL 50,96 H varient en fonction des facteurs biotiques et abiotiques; nous avons en effet constaté qu'en augmentant la température à 19°C , la CL 50,96 H atteignait 4.26 ± 2 (Henry *et al.*, 1982). Toutefois, en tenant compte des paramètres expérimentaux, nous pouvons grâce à la CL 50, positionner la palourde parmi les organismes déjà étudiés. Le cadmium induit chez *Ruditapes decussatus* un effet toxique comparable à celui obtenu chez les autres invertébrés (Ahsulanah, 1976; 0.2-16.7 mg/l) (Eisler, 1971; 0.32-25 mg/l). Parmi les mollusques, les données les plus proches de celles obtenues pour *Ruditapes decussatus* sont celles de *Cardium edule* (Portmann, Wilson, 1971) et *Mya arenaria* (Eisler, 1971).

La cinétique de la bioaccumulation du cadmium montre que *Ruditapes decussatus* doit être classée parmi les espèces à haute affinité pour le cadmium, particulièrement dangereuse pour l'écosystème environnant. Ce résultat corrobore les observations en milieu naturel selon lesquelles le cadmium est concentré dans les mol-

lusques plus que dans tout autre phylum et en particulier dans *Patella vulgata* (Peden *et al.*, 1973), *Littorina* sp. (Leatherland, Burton, 1974), *Nucella* sp. (Stenner, Nickless, 1974), *Pecten maximus*, *Mytilus edulis* et *Crasostrea gigas* (Frazier, 1979). Pour des concentrations expérimentales ≤ 5 mg/l, les palourdes accumulent de façon régulièrement croissantes de fortes concentrations de polluant. Cette capacité d'acceptation de l'animal suggère que la palourde serait capable en réponse à l'agression du cadmium, de synthétiser des substances susceptibles d'inhiber l'action du polluant. De telles substances mériteraient d'être recherchées chez la palourde, et pourraient correspondre aux métallothionéines décelées pour la première fois chez le cheval (Margosches, Vallée, 1957) et retrouvées chez l'huître (Frazier, 1979) et la moule (Noël-Lambot *et al.*, 1978). De telles substances doivent, au moins jusqu'à un certain seuil, pouvoir protéger l'animal contre les effets toxiques du cadmium; elles sont donc bénéfiques pour la palourde, mais néfastes dans l'écosystème, où elles permettent une concentration énorme de polluant. Inversement, aux fortes concentrations utilisées ≥ 10 mg/l, le cadmium pénètre très vite, atteint des taux de concentrations élevées et engendre rapidement la mort de tous les individus. Dans ces conditions, face à l'énorme quantité de polluant très rapidement accumulé, il pourrait y avoir une synthèse de métallothionéines trop lente et/ou trop faible dans l'animal ou même seulement dans un organe vital qui engendrerait la mort. Des observations ultrastructurales à court terme et forte dose polluante (Cornet, 1982) semblent confirmer cette hypothèse au niveau de la branchie.

REFERENCES

- Ahsanullah M., 1976. Acute toxicity of cadmium and zinc to seven invertebrate species from western port, Victoria, *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.*, **27**, 187-196.
- Bouquiaux J., 1974. Mercury and cadmium in the environment. First results of an enquiry of a european scale, in: *Problems of the contamination of man and his environment by mercury and cadmium*, Report No. Eur-5075, *Comm. Eur. Comm., Luxembourg*, 23-46.
- Cetama G., 1975. Analyse des traces métalliques dans l'eau de mer. A : Méthodes par absorption atomique avec flamme après extraction. Manuel des méthodes de prélèvements et d'analyses; 2 : Micropolluants organiques et minéraux, Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), 55-60.
- Chilson J., 1974. Heavy metals exposures: toxicity from metal-metal interactions and behavioral effects, *Pediatrics*, **53**, 841-843.
- Cornet C., 1982. Effets de la contamination accidentelle par le cadmium d'un mollusque bivalve endogé méditerranéen, la palourde : *Venerupis decussata* (Linné). Toxicité, bioaccumulation et altérations structurales, *Mém. DEA Écologie méditerranéenne, Fac. Sci. Saint-Jérôme, Marseille*.
- Cox D. R., 1972. *Analyse des données binaires*, Dunod, Paris.
- Degraeve N., 1981. Carcinogenic, Teratogenic, and mutagenic effects of cadmium, *Mutation Res.*, **86**, 115-135.
- Deknudt G., Léonard D., 1975. Cytogenic investigations on leucocytes of workers from a Cadmium plant, *Environ. Physiol. Biochem.*, **5**, 319-327.
- Eisler R., 1971. Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and other marine organisms, *J. Fish. Res. Board Can.*, **28**, 1225-1234.
- Ferm V. H., Carpenter S. J., 1967. Teratogenic effect of cadmium and its inhibition by zinc, *Nature*, **216**, 1123.
- Frazier J. M., 1979. Bioaccumulation of cadmium in marine organisms, *Environ. Health Persp.*, **28**, 75-79.
- Gonick H. C., Indraprasit S., Rosen V. J., Neustein H., Van de Velde R., Raghavan S. R. V., 1980. Experimental Fanconi syndrome. III: Effect of cadmium on renal tubular function the ATP-NA, K, ATPase transport system and renal tubular ultrastructure, *Min. Electrol. Metabol.*, **3**, 21-35.
- Henry M., Huang W., Cristiani G., Belluau M., Durbec J.-P., 1982. Toxicité et bioaccumulation du cadmium chez la palourde *Venerupis decussata* en fonction des facteurs temps, concentration et température, *XXVIII^e congrès CIESM*, 24 décembre 1982 (à paraître).
- Johansson C. G., 1975. Digestion methods for the determination of the total content of heavy metals, in: *Manual of methods in aquatic environment research. Part 1: Methods for detection, measurement and monitoring of water pollution*, *FAO Fish. Tech. Pap.*, **137**, 200.
- Kazantzis G., Hanbury W. J., 1966. The induction of sarcoma in the rat by cadmium sulphide and by cadmium oxyde, *Brit. J. Canc.*, **20**, 190-199.
- Lauwerys R., Roels H., Regniers M., Buchet J. P., Bernard A., Goret A., 1979. Significance of cadmium concentration in blood and in urine in workers exposed to cadmium, *Environ. Res.*, **20**, 375-391.
- Leatherland T. M., Burton J. D., 1974. The occurrence of some trace metals in coastal organisms with particular reference to the Solent region, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **54**, 457-468.
- Maitre-Allain T., 1981. Suivi d'un ensemencement de palourdes dans l'étang de Thau (Hérault). Rapport sur les résultats obtenus pendant la première année d'expérience, *CLPM et ISTPM, Sète*.
- Margoshes M., Vallée B. L., 1957. A cadmium protein from equine Kidney cortex, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4813-4814.
- Noël-Lambot F., Bouquegneau J.-M., Frankenne J.-M., Distèche A., 1978. Le rôle des métallothioneines dans le stockage des métaux lourds chez les animaux marins, *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, **49**, 13-20.
- Parizek J., 1960. Sterilization of the male of cadmium salts, *J. Reprod. Fertil.*, **1**, 294-309.
- Peden J. D., Crothers H. H., Waterfall C. E., Beasley J., 1973. Heavy metals in somerset marine organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, **4**, 7-9.
- Piscator M., 1981. Role of cadmium in carcinogenesis with special reference to cancer of the prostate, *Environ. Health Perspect.*, **40**, 107-120.
- Portmann J. E., Wilson K. W., 1971. *The toxicity of 140 substances to the brown shrimp and other marine animals*, Fisheries laboratory, Fisheries and Food Section, Ministry of Agriculture, Burnham-on-Crouch, England.
- Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), 1974-1975. *Enquête nationale sur l'état sanitaire des zones marines côtières. Océan Atlantique*, 2. Ministère de la Qualité de la Vie. CERBOM-INSERM.
- Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), 1975. *Enquête nationale sur l'état sanitaire des zones marines côtières, Mer Méditerranée*, CERBOM-INSERM.
- Saxena O. P., 1981. Cadmium-induced neoplasia in *Channa punctatus* (Bloch), *Current Sci.*, **50**, 735-736.
- Stenner R. D., Nickless G., 1974. Absorption of cadmium, copper and zinc by dog whelks in the Bristol channel, *Nature*, **247**, 198-199.
- Thornton L., Watling H., Darracott A., 1975. Geochemical studies in several rivers and estuaries used for oyster rearing, *The Science of the total environment*, **4**, 325-345.
- Tsuchiya K., 1969a. Causation of ouch-ouch disease (Itai-Itai Byō). An introductory review. Part I: Nature of the disease, *Keio J. Med.*, **18**, 181-194.
- Tsuchiya K., 1969b. Causation of ouch-ouch disease (Itai-Itai Byō). An introductory review. Part II: Epidemiology and evaluation, *Keio J. Med.*, **18**, 195-211.
- Watanabe T., Shimada T., Endo A., 1979. Mutagenic effects of cadmium on mammalian oocyte chromosomes, *Mut. res.*, **67**, 349-356.

