

# Accumulation du cadmium par les bactéries marines à Gram négatif selon leur sensibilité au métal et leur type respiratoire

Bactéries marines  
Cadmium  
Accumulation  
Résistance  
Métabolisme respiratoire  
Marine bacteria  
Cadmium  
Uptake  
Resistance  
Respiratory metabolism

M. J. GAUTHIER <sup>a</sup>, R. L. CLÉMENT <sup>a</sup>, G. N. FLATAU <sup>a</sup>, J.-C. AMIARD <sup>b</sup>

<sup>a</sup> INSERM Unité 303, 1, avenue Jean-Lorrain, 06300 Nice, France.

<sup>b</sup> Centre de Dosage des Éléments Traces, 1, rue G.-Veil, 44035, Nantes, France.

Reçu le 12/7/85, révisé le 17/12/85, accepté le 23/12/85.

## RÉSUMÉ

La relation entre la quantité de cadmium accumulée, la sensibilité au métal et le type respiratoire a été analysée statistiquement sur 48 souches de bacilles à Gram négatif marins, en culture dans un milieu nutritif complexe ou en suspension non proliférante dans une eau de mer artificielle tamponnée.

L'accumulation était en moyenne deux fois moins élevée en bouillon nutritif pour l'ensemble des souches, ce qui traduit le rôle complexant de certains composants organiques de ce milieu.

En aérobiose, les souches aérobies facultatives ont en moyenne accumulé plus de métal que les souches aérobies strictes dans les deux conditions de milieu. Elles ont cependant accumulé moins de métal en anaérobiose. La quantité de cadmium accumulé était en outre significativement corrélée à la sensibilité des souches au métal : tous milieux confondus et quel que soit le type respiratoire, l'accumulation a décliné selon la séquence : souches sensibles > souches intermédiaires > souches résistantes. Ces résultats montrent qu'il existe chez les bacilles à Gram négatif marins une liaison significative entre les mécanismes assurant la résistance au cadmium, ceux qui sont responsables de l'accumulation du métal et le métabolisme énergétique.

*Oceanol. Acta*, 1986, 9, 3, 333-337.

## ABSTRACT

Cadmium accumulation by Gram negative marine bacteria related to their metal sensitivity and respiratory type

The relation between the amount of accumulated cadmium, the metal sensitivity and the respiratory type of marine Gram negative bacilli was statistically analysed on 48 strains cultivated in a complex medium or with their resting cells suspended in buffered artificial seawater. For all strains, the accumulation was on average two times lower in the nutrient broth, showing the complexing role of some of the organic components of this medium. In aerobic conditions, in both media, facultatively aerobic strains generally accumulated more metal than did the strictly aerobic ones, but they accumulated less metal in anaerobic conditions. Moreover the amount of accumulated cadmium was significantly correlated to the metal sensitivity of the strains. Irrespective of respiratory type and media, accumulation decreased following the sequence: sensitive strains > tolerant strains > resistant strains. These results show that among marine Gram negative bacilli, mechanisms involved in the resistance to cadmium, those involved in the accumulation of this metal and energetic metabolism are significantly related to each other.

*Oceanol. Acta*, 1986, 9, 3, 333-337.

## INTRODUCTION

Le cadmium figure parmi les métaux d'origine tellurique les plus préoccupants, aussi bien du point de vue écotoxicologique que sanitaire. Comme pour la plupart des autres métaux, son cycle biogéochimique et son

transfert éventuel dans les chaînes alimentaires dépendent en grande partie de l'activité des micro-organismes, qui peuvent modifier sa forme chimique (Nelson, Donkin, 1985) et gouverner ainsi sa mobilité dans les milieux physiques ou biologiques (Gauthier *et al.*, 1984).

Les aspects les plus importants des interactions entre le cadmium et les bactéries résident dans la fixation du métal par les cellules, son accumulation et sa transformation sous une forme plus ou moins accessible et utilisable par les autres organismes. De ce point de vue, les espèces à Gram négatif se caractérisent généralement par une capacité d'accumulation moins grande que celle des espèces à Gram positif (Galdiero *et al.*, 1968; Beveridge, Koval, 1981; Macaskie, Dean, 1982), bien que les sites de fixation qu'elles portent soient qualitativement plus variés (régions hydrophiles des phospholipides, polysaccharides, protéines).

En fait, les voies de fixation et d'accumulation du cadmium par les bactéries peuvent être diverses : précipitation extracellulaire par des phosphatases alcalines (Macaskie, Dean, 1984; Aiking *et al.*, 1984), complexation par des exopolymères (Corpe, 1975; Brown, Lester, 1979), liaison à certains éléments constitutifs des enveloppes cellulaires (Beveridge, Koval, 1981; Hoyle, Beveridge, 1984; Flateau *et al.*, 1985), incorporation cytoplasmique après transport transmembranaire dépendant de l'énergie (Tynecka *et al.*, 1981 *a*; Perry, Silver, 1982) et fixation intracellulaire sur des biopolymères (Khazaeli et Mitra, 1982) ou sous forme de précipité inorganique (Aiking *et al.*, 1982). Certaines observations ont en outre suggéré une liaison entre cette incorporation et la production d'énergie au niveau membranaire (chaîne respiratoire) (Tynecka *et al.*, 1981 *a*; 1981 *b*; Perry, Silver, 1982), ceci cependant pour un nombre restreint d'espèces, toutes terrestres et souvent à Gram positif. Par contre, Gauthier *et al.* (1985) ont mis en évidence une relation significative entre l'accumulation du zinc par un grand nombre de bacilles à Gram négatif marins et leur type respiratoire ou leur sensibilité au métal. Le but de ce travail était la mise en évidence d'une éventuelle relation entre l'accumulation du cadmium par des souches marines à Gram négatif et leur sensibilité au métal ou leur dépendance à l'oxygène moléculaire.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Provenance, isolement et sélection des souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées au cours de ce travail ont été isolées de l'eau ou des huîtres (*Crassostrea gigas*) d'un parc ostréicole de l'île Bergère (baie de Bourgneuf, Loire-Atlantique, France) peu contaminé par le cadmium (0,02 à 0,2 µg par litre d'eau au cours d'un cycle annuel). L'isolement des souches a été effectué par étalement sur milieu Marine Agar (MA, Difco) de 100 µl d'eau ou de 10 µl de broyat d'huîtres (masses viscérales de trois individus âgés de 3 à 4 ans, broyées dans 10 ml d'eau de mer stérile pendant 5 minutes à 20°C, broyeur Retsch). Les colonies prélevées au hasard après 10 jours d'incubation à 23°C, ont ensuite été purifiées par repiquage alterné sur milieu MA et en bouillon Marine Broth (MB, Difco).

Chaque souche a fait l'objet d'un contrôle par examen direct à l'état frais (mesure des dimensions de

30 cellules en moyenne), coloration de Gram et test de croissance en anaérobiose : seules les bactéries à Gram négatif, acapsulées, asporulées et de forme bacillaire ont été conservées. Parmi les 520 souches pures initialement isolées sans préoccupation taxonomique et en grande partie utilisées pour analyser leur résistance au zinc et leur pouvoir d'accumulation de ce métal (Gauthier *et al.*, 1985), six groupes de huit souches, toutes à colonies lisses, ont été sélectionnées selon leur sensibilité au cadmium (sensibles : concentration minimale inhibitrice (CMI) < 30 mg Cd/l; tolérantes : CMI de 30 à 60 mg Cd/l; résistantes : CMI > 60 mg Cd/l) et leur type respiratoire : leur caractère physiologique et leur provenance sont donnés dans le tableau 1.

Tableau

Provenance des souches bactériennes sélectionnées, groupées selon leur type respiratoire et leur niveau de résistance au cadmium.

Origin of selected strains, classified according to their respiratory type and their resistance to cadmium.

|                   | N°  | Provenance | N°                | Provenance |
|-------------------|-----|------------|-------------------|------------|
|                   | 383 | eau        | 23                | eau        |
|                   | 393 | eau        | 193               | eau        |
|                   | 398 | eau        | 229               | eau        |
| AS <sup>(1)</sup> | 424 | eau        | AF <sup>(1)</sup> | 230        |
| S <sup>(2)</sup>  | 441 | huîtres    | S <sup>(2)</sup>  | 357        |
|                   | 446 | huîtres    |                   | 420        |
|                   | 447 | huîtres    |                   | 488        |
|                   | 521 | eau        |                   | 505        |
|                   | 39  | eau        |                   | 421        |
|                   | 153 | eau        |                   | 423        |
|                   | 162 | huîtres    |                   | 425        |
| AS <sup>(1)</sup> | 171 | huîtres    | AF <sup>(1)</sup> | 427        |
| T <sup>(2)</sup>  | 176 | huîtres    | T <sup>(2)</sup>  | 461        |
|                   | 233 | eau        |                   | 462        |
|                   | 454 | huîtres    |                   | 463        |
|                   | 456 | huîtres    |                   | 466        |
|                   | 202 | huîtres    |                   | 143        |
|                   | 204 | huîtres    |                   | 145        |
|                   | 205 | huîtres    |                   | 146        |
| AS <sup>(1)</sup> | 206 | huîtres    | AF <sup>(1)</sup> | 152        |
| R <sup>(2)</sup>  | 212 | huîtres    | R <sup>(2)</sup>  | 157        |
|                   | 213 | huîtres    |                   | 158        |
|                   | 215 | huîtres    |                   | 159        |
|                   | 216 | huîtres    |                   | 182        |

(<sup>1</sup>) AS, souches aérobies strictes; AF, souches aérobies-anaérobies facultatives.

(<sup>1</sup>) AS, strictly aerobic strains; AF, facultatively aerobic strains.

(<sup>2</sup>) S, souches sensibles (CMI < 30 mg Cd/l); T, souches tolérantes (CMI comprise entre 30 et 60 mg Cd/l); R, souches résistantes (CMI > 60 mg Cd/l).

(<sup>2</sup>) S, sensitive strains (CMI < 30 mg Cd/l); T, tolerant strains (CMI between 30 and 60 mg Cd/l); R, resistant strains (CMI > 60 mg Cd/l).

### Mesure de la résistance des souches au cadmium

La sensibilité des souches au métal (sous forme de chlorure) a été mesurée à l'aide de la technique des dilutions en milieu solide (MA) selon Chabbert (1963), décrite antérieurement (Gauthier *et al.*, 1985).

### Mesure de l'accumulation du métal par les bactéries

L'accumulation du cadmium par les 48 souches sélectionnées a été étudiée en culture dans le bouillon MB et en suspension non proliférante en eau de mer artificielle stérile (Lyman, Fleming, 1940) tamponnée à pH 7,6 à

l'aide de 10 ml d'une solution 1M de tris hydroxyméthyl aminométhane — HCl (TRIS-HCl) par litre (EMAS). Afin de pouvoir comparer les capacités d'accumulation des souches, les conditions de ces cultures et la préparation de ces suspensions ont été standardisées.

Pour les tests sur cellules en croissance, chaque bactérie a été d'abord cultivée en bouillon MB pendant 18 heures à 27°C; 6 ml de cette culture ont ensuite été inoculés dans 140 ml de ce même milieu additionné de 1 mg Cd/l. Les cellules ont été incubées à 27°C sous agitation jusqu'à la dixième heure après la fin de leur phase de croissance (période déterminée par l'étude préalable de la croissance au biophotomètre Bonet-Maury-Jouan). Elles ont été récoltées par centrifugation (20 000 g, 20 mn, 10°C), rincées deux fois en EMAS et lyophilisées.

Les suspensions non proliférantes ont été préparées à partir de cultures des bactéries en bouillon MB sans cadmium, incubé jusqu'à 10 heures après la fin de la phase de croissance; les cellules ont alors été récoltées par centrifugation (20 000 g, 20 mn, 10°C), rincées deux fois en EMAS et suspendues en EMAS additionnée de cadmium (1 mg/l). Après incubation de la suspension pendant 18 heures à 27°C sous agitation, les cellules ont été récoltées par centrifugation (mêmes conditions) puis rincées et lyophilisées.

Dans le cas des souches aérobies-anaérobies facultatives, ces suspensions non proliférantes ont également été testées en anaérobiose, sous atmosphère de CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> (procédé Gaspak, Mérieux-France), en jarres à anaérobiose préalablement purgées par un courant de gaz carbonique. Après 18 heures d'incubation à 27°C, les bactéries ont été récoltées, rincées et lyophilisées comme pour les tests en aérobiose.

### Dosage du cadmium

Il a été réalisé par voltamétrie de redissolution anodique (ESA 2011) sur les culots cellulaires préalablement lyophilisés, pesés et minéralisés dans un mélange nitroperchlorique (2:1) pendant 48 heures à 120°C. Les résultats ont été exprimés en µg de cadmium par gramme de cellules sèches.

### Analyse statistique des données

La variabilité des mesures d'accumulation a été évaluée sur un lot de huit souches prises au hasard, testées trois fois dans les mêmes conditions.

Un traitement statistique a été effectué pour évaluer l'influence du milieu, du métabolisme respiratoire et de la sensibilité au cadmium sur l'accumulation du métal par les souches sélectionnées. Il a consisté en une analyse de variance selon un plan à trois facteurs, en séries appariées selon le cas.

## RÉSULTATS

L'analyse de variance appliquée aux tests de contrôle effectués en triple exemplaire à l'aide de 8 souches témoins a montré que la variabilité intrinsèque de l'ex-

périmentation n'était pas significative, aussi bien pour les tests en culture que pour les suspensions non proliférantes. Toutes souches confondues, l'accumulation du cadmium était systématiquement plus faible pour les cellules en culture dans le milieu complexe (différence significative au seuil 0,1%, fig. 1).

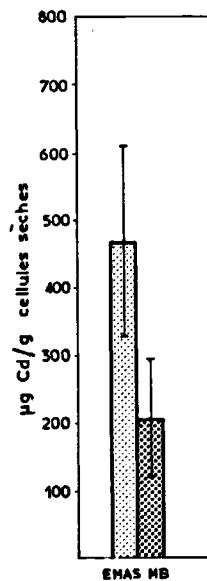


Figure 1

Influence de la composition du milieu sur l'accumulation du cadmium par les 48 souches sélectionnées. EMAS, suspension non proliférante en eau de mer artificielle tamponnée; MB, culture en bouillon Marine Broth.

*Influence of the composition of the medium on cadmium accumulation by the 48 selected strains. EMAS, resting cells in buffered artificial seawater; MB, culture in Marine Broth.*

En aérobiose, l'accumulation était plus élevée pour les souches aérobies facultatives (significatif au seuil 5%), aussi bien dans les cultures en milieu MB que dans les suspensions non proliférantes (fig. 2).

En anaérobiose, cependant, elles ont accumulé moins de métal qu'en aérobiose (significatif au seuil 5%, fig. 3) indépendamment de leur niveau de sensibilité.

Enfin, la quantité de métal accumulée était significativement corrélée à la sensibilité des souches au métal: tous milieux confondus, la quantité de métal accumulée a décliné suivant la séquence: souches sensibles > souches tolérantes > souches résistantes (significatif au seuil de 3%, fig. 4). Dans le cas des souches aérobies strictes, les souches sensibles ont accumulé plus de métal que les tolérantes et les résistantes. Parmi les souches aérobies facultatives, les souches résistantes ont moins accumulé de métal que les sensibles et les tolérantes (fig. 5).

## DISCUSSION

La diminution de l'accumulation du cadmium dans le milieu MB, riche en éléments organiques (peptone, extrait de levure), est en accord avec les données de la littérature. On sait en effet que les composés de milieux nutritifs complexes forment des complexes chimiques avec les cations métalliques (Ramamoorthy, Kushner, 1975) et peuvent augmenter ou réduire leur fixation par les bactéries selon qu'ils sont eux-mêmes respectivement utilisés ou non par ces microorganismes (Sterritt, Lester, 1980; Baldry, Dean, 1980a; 1980b; Macaskie, Dean, 1982). Une plus forte accumulation du cadmium par des bactéries en suspen-

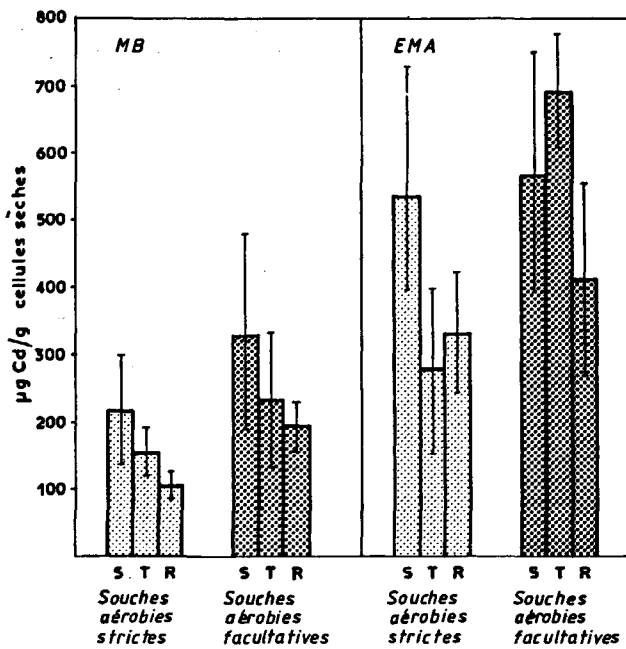


Figure 2 Accumulation du cadmium par les 48 souches sélectionnées selon leur type respiratoire et leur sensibilité au métal (S, sensibles; T, tolérantes; R, résistantes), testée par culture en milieu complexe (MB) ou en suspension non proliférante en eau de mer artificielle (EMAS).

*Cadmium accumulation by the 48 selected strains, according to respiratory type (AS, strictly aerobic; AF, facultatively aerobic) and sensitivity to the metal (S, sensitive; T, tolerant; R, resistant), tested by culture in a complex medium (MB) or with resting cells in artificial seawater (EMAS).*

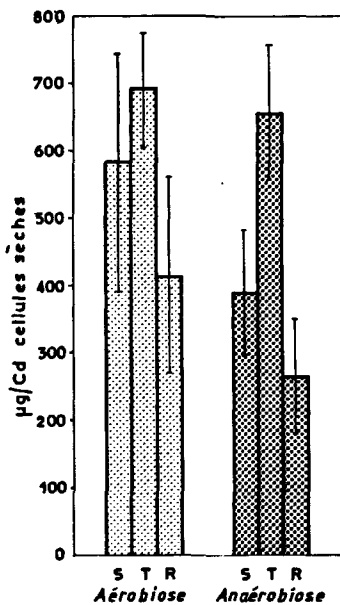


Figure 3 Accumulation du cadmium par les souches aérobies facultatives sensibles (S), tolérantes (T) ou résistantes (R) au métal, testée à l'aide de suspension non proliférante (EMAS) en aérobiose ou en anaérobiose.

*Cadmium accumulation by resting cells of facultatively aerobic strains, sensitive (S), tolerant (T) or resistant (R) to the metal, incubated under aerobic or anaerobic conditions.*

Figure 4 Accumulation du cadmium par les 48 souches sélectionnées selon leur niveau de sensibilité au métal (S, sensibles; T, tolérantes; R, résistantes) tous types respiratoires et tous milieux confondus.

*Cadmium accumulation by the 48 selected strains according to sensitivity to the metal (S, sensitive; T, tolerant; R, resistant) irrespective of respiratory type and medium.*

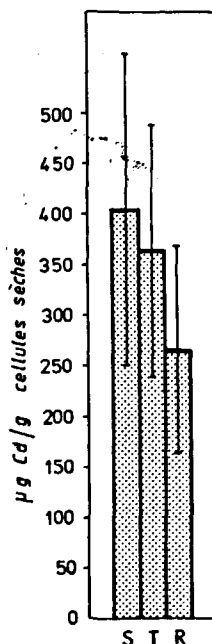
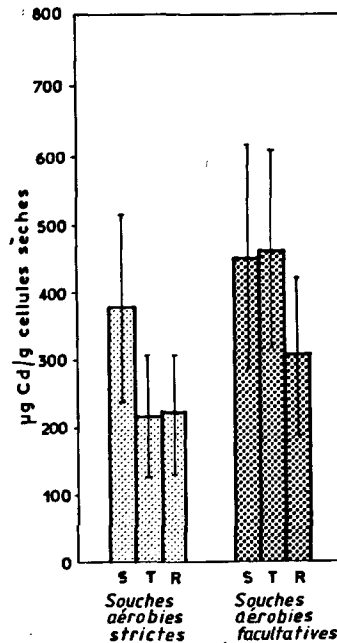


Figure 5 Accumulation du cadmium par les 48 souches sélectionnées selon leur niveau de sensibilité au métal (S, sensibles; T, tolérantes; R, résistantes) et leur type respiratoire (AS, souches aérobies strictes; AF, souches aérobies facultatives).



*Cadmium accumulation by the 48 selected strains, according to their sensitivity to the metal (S, sensitive; T, tolerant; R, resistant) and respiratory type (AS, strictly aerobic; AF, facultatively aerobic).*

sions non proliférantes, après développement en milieu complexe, a été constatée pour des espèces telluriques par Macaskie et Dean (1982).

En dehors de cet effet dû à l'environnement physico-chimique, les résultats de cette étude, obtenus dans des conditions relativement homogènes, suggèrent fortement une relation entre les mécanismes qui assurent la résistance des souches au cadmium, les mécanismes qui sont responsables de l'accumulation du métal et le métabolisme énergétique. Une relation de ce type a été précédemment établie pour le zinc (Gauthier *et al.*, 1985). Le fait que les souches aérobies strictes aient été plus sensibles au métal tout en l'accumulant moins que les souches aérobies facultatives (Gauthier *et al.*, 1985) pourrait s'expliquer par l'influence directe de l'incorporation du métal sur le métabolisme des cellules : dans la mesure où ces souches ont tiré leur énergie exclusivement des phosphorylations oxydatives, elles pourraient avoir rapidement incorporé une quantité de métal suffisante pour inhiber ensuite le métabolisme et, par voie de conséquence, ralentir l'accumulation. La toxicité du cadmium pour les cellules bactériennes est en effet bien établie (Babich, Stotzky, 1978; Walker, Houston, 1981; Roberts, 1983); ce métal pourrait en outre découpler les phosphorylations oxydatives (Vallée, Ulmer, 1972; Bond *et al.*, 1976).

La résistance plus élevée des souches aérobies facultatives, ainsi que leur plus grande capacité à accumuler le métal pourrait, selon cette même hypothèse, découler

de la possibilité qu'ont ces souches de produire de l'énergie en dehors de la respiration et de maintenir ainsi leur métabolisme à un niveau permettant l'accumulation. L'augmentation de leur résistance et la diminution de l'accumulation en anaérobiose supportent assez bien cette hypothèse. Les données de la littérature citées plus haut montrent cependant que les voies d'accumulation du cadmium par les cellules bactériennes peuvent être multiples et qu'une partie plus ou moins importante du métal accumulé peut être fixée aux enveloppes cellulaires; selon les auteurs, le phénomène d'adsorption serait insignifiant (Gadd, Griffiths, 1978) ou au contraire prépondérant (Bollag, Duszota, 1984). Quoi qu'il en soit, du point de vue toxicologique, il faut probablement accorder plus d'importance à la fraction de métal incorporée au cytoplasme après transfert transmembranaire dépendant de l'énergie : on peut en effet penser que cette fraction, si elle n'est pas neutralisée dans le cytoplasme par précipitation ou

fixation sur des ligands organiques détoxifiants (ou d'autres mécanismes), est en grande partie responsable des effets toxiques observés. Il faut en outre noter que, au sein de chacun des groupes de souches définis par le type respiratoire ou la sensibilité au métal, le taux d'accumulation était très variable, bien que l'analyse statistique ait mis en évidence des différences significatives entre ces groupes. Cette hétérogénéité découle vraisemblablement de l'existence de ces divers modes de fixation et d'accumulation du métal, plus ou moins variés ou efficaces selon les souches. Une étude détaillée des voies d'accumulation et de pénétration du cadmium est en cours pour une souche type de chaque groupe.

#### Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat du Ministère de l'Environnement (N° 83-187).

#### RÉFÉRENCES

- Aiking H., Kok K., Van Heerikhuizen H., Van'T Riet J., 1982. Adaptation to cadmium by *Klebsiella aerogenes* growing in continuous culture proceeds mainly via formation of cadmium sulfide, *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 938-944.
- Aiking H., Stijnman A., Van Garderen C., Van Heerikhuizen H., Van'T Riet J., 1984. Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 374-377.
- Babich H., Stotzky G., 1978. Effects of cadmium on the biota: influence of environmental factors, in: *Advances in applied microbiology*, edited by D. Perlman, Academic Press, New York, 55-118.
- Baldry M. G. C., Dean A. C. R., 1980a. Copper accumulation by *Escherichia coli* strain FE 12/05. I. Uptake during batch culture, *Microb. Lett.*, **15**, 83-87.
- Baldry M. G. C., Dean A. C. R., 1980b. Copper accumulation by *Escherichia coli* strain FE 12/05. II. Uptake by resting organisms, *Microb. Lett.*, **15**, 105-111.
- Beveridge T. J., Koval S. F., 1981. Binding of metals to cell envelopes of *Escherichia coli* K12, *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 325-335.
- Bollag J. M., Duszota M., 1984. Effects of the physiological state of microbial cells on cadmium sorption, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **13**, 265-270.
- Bond H., Lighthart B., Shimabuku R., Russel L., 1976. Some effects of cadmium on coniferous forest soil and litter microcosms, *Soil Sci.*, **121**, 278-287.
- Brown M. J., Lester J. N., 1979. Metal removing in activated sludge: the role of bacterial extracellular polymers, *Wat. Res.*, **13**, 817-837.
- Chabbert Y. A., 1963. *L'Antibiogramme*, La Tourelle, Saint-Mandé, pp. 78-81.
- Corpe W. A., 1975. Metal-binding properties of surface materials from marine bacteria, *Dev. Indust. Microbiol.*, **16**, 249-255.
- Flatau G. N., Clément R. L., Gauthier M. J., 1985. Cadmium binding sites on cells of a marine pseudomonad, *Chemosphere*, **14**, 3, 1409-1412.
- Gadd G. M., Griffiths A. J., 1978. Microorganisms and heavy metal toxicity, *Microbiol. Ecol.*, **14**, 303-313.
- Galdiero F., Lembo M., Tufano M. A., 1968. Affinity of various cations for *Staphylococcus aureus* cell wall, *Experientia* (Basel), **24**, 34-36.
- Gauthier M. J., Flatau G. N., Breittmayer J. P., Mathieu A., Clément R. L., 1984. Influence de bactéries aérobies ou anaérobies sur la fixation du cadmium et du vanadium par un sédiment artificiel en eau de mer, *Environ. Technol. Lett.*, **5**, 441-452.
- Gauthier M. J., Breittmayer V. A., Clément R. L., Flatau G. N., 1985. Tolérance au zinc et au cadmium et accumulation du zinc par les bactéries marines à Gram négatif. Relations avec leur type respiratoire, *Can. J. Microbiol.*, **31**, 793-798.
- Hoyle B. D., Beveridge T. J., 1984. Metal binding by the peptidoglycan sacculus of *Escherichia coli* K12, *Can. J. Microbiol.*, **30**, 204-211.
- Khazaeli M. B., Mitra R. S., 1981. Cadmium-binding component in *Escherichia coli* during accommodation to low levels of this ion, *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 46-50.
- Lyman J., Fleming R. H., 1940. Composition of sea water, *J. Mar. Res.*, **3**, 134-146.
- Macaskie L. E., Dean A. C. R., 1982. Cadmium accumulation by microorganisms, *Environ. Technol. Lett.*, **3**, 49-56.
- Macaskie L. E., Dean A. C. R., 1984. Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp., *J. Gen. Microbiol.*, **130**, 53-62.
- Nelson A., Donkin P., 1985. Processes of bioaccumulation: the importance of chemical speciation, *Mar. Pollut. Bull.*, **16**, 164-169.
- Perry R. D., Silver S., 1982. Cadmium and manganese transport in *Staphylococcus aureus* membrane vesicles, *J. Bacteriol.*, **150**, 973-976.
- Ramamoorthy S., Kushner D. J., 1975. Binding of mercury and other heavy metals ions by microbial growth media, *Microb. Ecol.*, **2**, 162-176.
- Roberts P. B., 1983. Interactions between cadmium and radiation in the killing of *Escherichia coli*, *Environ. Res.*, **31**, 221-228.
- Sterritt R. M., Lester J. N., 1980. Influence of bacterial growth on the forms of cadmium in defined culture media, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, 196-203.
- Tynecka Z., Gos Z., Zajac J., 1981a. Reduced cadmium transport determined by a resistance plasmid in *Staphylococcus aureus*, *J. Bacteriol.*, **147**, 305-312.
- Tynecka Z., Gos Z., Zajac J., 1981b. Energy-dependant efflux of cadmium coded by a plasmid resistance determinant in *Staphylococcus aureus*, *J. Bacteriol.*, **147**, 313-319.
- Vallee B. L., Ulmer D. D., 1972. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead, *Ann. Rev. Biochem.*, **41**, 91.
- Walker Jr. C. W., Houston C. W., 1981. Toxicity of cadmium to bacteria, *Biotechnol. Lett.*, **3**, 437-442.