

Cuivre  
Complexation du cuivre  
Zinc  
Cadmium  
Gastéropodes

Copper  
Copper complexation  
Zinc  
Cadmium  
Gastropods

# La teneur en cuivre et son degré de complexation chez quatre Gastéropodes marins. Données sur le cadmium et le zinc

J.M. Bouquegneau <sup>a</sup>, M. Martoja <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Océanologie, Université de Liège, B 4000 Sart Tilman, Liège, Belgique.

<sup>b</sup> Institut Océanographique, 195, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.

Reçu le 15/10/81, révisé le 22/12/81, accepté le 4/1/82.

## RÉSUMÉ

La teneur en cuivre, cadmium et zinc de quatre espèces de Gastéropodes (*Monodonta crassa*, Archaeogastropode; *Littorina littorea*, Mésogastropode; *Thais lapillus* et *Murex brandaris*, Néogastropodes) provenant de régions non polluées, a été étudiée. En ce qui concerne le cuivre, une technique de minéralisation a été mise au point. Elle permet de distinguer le cuivre simplement complexé à la matière organique de celui qui est fortement lié et qui correspond en tout ou en partie au SCu décelé par méthodes spectrographiques sur coupes histologiques.

Chez *Monodonta crassa* et chez les jeunes *Thais lapillus*, il n'y a pas de corrélation entre la teneur totale en cuivre et le poids. On ne trouve pas non plus de CuS chez ces individus. Au contraire, chez *Littorina littorea*, chez les *Thais lapillus* plus âgés et chez *Murex brandaris*, il y a une augmentation significative de la teneur en cuivre avec l'âge. Parallèlement, chez ces mêmes individus, du CuS a pu être mis en évidence à la fois par dosage chimique et par méthode histologique. La présence de CuS est essentiellement limitée à la masse viscérale et elle est responsable de l'augmentation de la teneur en cuivre des individus les plus âgés.

De l'ensemble de ces résultats confrontés aux données disponibles dans la littérature à ce sujet, il ressort que le métabolisme du cuivre est fondamentalement différent chez les Archaeogastropodes et dans les deux autres ordres de Prosobranches, Méso- et Néogastropodes. Chez ces derniers, le cuivre résultant du catabolisme de l'hémocyanine est fossilisé dans des cellules à sulfure cuivrique dispersées dans le tissu conjonctif de la masse viscérale; le nombre des cellules et leur charge en SCu augmentent avec l'âge. Chez les Archaeogastropodes, ce cuivre est soit réutilisé, soit excrété hors des tissus mous de l'animal.

Les auteurs suggèrent que ces phénomènes ont deux implications écotoxicologiques importantes : 1° les Méso- et Néogastropodes doivent être considérés comme de mauvais indicateurs de pollution par le cuivre puisque la majeure partie du métal concentré dans leurs tissus mous provient d'un processus métabolique naturel; 2° le danger de contamination de la chaîne alimentaire par ce type de stockage ne pourra être évalué que lorsque de nouvelles recherches auront déterminé dans quelle mesure les prédateurs assimilent le sulfure cuivrique.

Par ailleurs, le cadmium et le zinc ont été dosés dans les tissus mous de ces mêmes animaux. Il apparaît qu'en dehors de toute pollution connue par le cadmium au niveau des sites où ils ont été prélevés, les Néogastropodes concentrent ce métal de manière appréciable.

*Oceanol. Acta*, 1982, 5, 2, 219-228

## ABSTRACT

## Copper content and its degree of complexation in four marine Gastropods. Data concerning cadmium and zinc

The copper, cadmium and zinc content of four species of Gastropods (*Monodonta crassa*, Archaeogastropod; *Littorina littorea*, Mesogastropod; *Thais lapillus* and *Murex brandaris*, Neogastropods) collected in non-polluted areas has been investigated.

When considering copper, a mineralization technique has been used which allows to separate the most strongly bound copper (which was identified as CuS in a previous paper) from copper complexed to organic matter. There is no correlation between soft tissue weight and copper concentration in *Monodonta crassa* and young *Thais lapillus*. In these animals, no copper sulphide was found either.

On the contrary, in *Littorina littorea*, *Murex brandaris* and aged *Thais lapillus*, there is a significant correlation between copper content and age. Moreover, copper sulphide has been both chemically and histologically detected in their tissues. However, copper sulphide has been detected only at the visceral mass level and is responsible for the increase of the copper content of oldest animals.

From those results and from literature data, it appears that copper metabolism in Archaeogastropods is quite different from that in Meso- and Neogastropods. In the two latter, copper from hemocyanin catabolism is stored as copper sulphide in conjunctive cells which are situated in the visceral mass of the animal, and the number of these cells increases with age. In Archaeogastropods, copper from hemocyanin catabolism is either used again or excreted out of the soft tissues.

We suggest that the described phenomenon have two important ecotoxicological implications : 1° Meso- and Neogastropods are to be considered bad copper pollution biological indicators because most of the copper load results of a natural metabolic process; 2° the ability of predators to assimilate CuS should be studied in order to evaluate the importance of such a storage for the food web contamination.

Finally, cadmium and zinc analyses have been performed in soft tissues of those animals. It appears that, even caught in unpolluted waters, *Thais lapillus* and *Murex brandaris* accumulate cadmium at high concentrations.

*Oceanol. Acta*, 1982, 5, 2, 219-228.

## INTRODUCTION

Il est bien connu que les tissus mous des Gastéropodes Prosobranches peuvent être très riches en cuivre (voir Vinogradov, 1953). Il apparaît maintenant que ce cuivre est engagé non seulement dans l'hémocyanine et les cuproenzymes mais aussi dans des métallothionéines (Howard, Nickless, 1977; Noël-Lambot *et al.*, 1978) ou dans du sulfure cuivrique (Martoja *et al.*, 1980). Confondue depuis toujours avec une pigmentation, l'accumulation de CuS, sel noir particulièrement insoluble, se fait dans des cellules conjonctives dispersées ou groupées selon les familles (Martoja, Thiriou-Quévieux, 1980). Elle représente le processus physiologique normal de la dégradation de l'hémocyanine et, par conséquent, elle est indépendante du milieu. Elle semble progresser avec l'âge, ce qui est en relation avec le fait que le sulfure cuivrique n'est pas réutilisable, contrairement à la ferritine des Vertébrés.

L'examen histologique qui permet de dénombrer les cellules contenant du sulfure visible au microscope et l'analyse par spectrographie des rayons X, qui permet d'apprécier les teneurs ponctuelles relatives, suggèrent que les taux de sulfure cuivrique sont très divers selon les individus. Nous avons donc cherché à préciser

l'importance quantitative du sulfure cuivrique par rapport au cuivre total contenu dans des espèces représentatives des trois ordres de Prosobranches : troques, *Monodonta (Trochocochlea) crassa* (Archaeogastropode), littorines, *Littorina littorea* (Mésogastropode), pourpres, *Thais (Nucella) lapillus* et murex, *Murex (Bolinus) brandaris* (Néogastropodes). Pour ce faire, nous avons mis au point une technique de minéralisation des tissus mous qui permet d'estimer le rapport entre le cuivre fortement lié (cas du CuS) et celui qui l'est plus faiblement (cas du Cu complexé à de la matière organique). Nous avons recherché, en outre, les concentrations en cadmium et zinc de ces mêmes animaux.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les troques, les littorines et les pourpres ont été récoltés à Roscoff, en avril 1980; les murex ont été ramassés en plongée, au large de Banyuls-sur-Mer, en mai 1980. Une fois extraits de leurs coquilles, les animaux ont été pesés et congelés. Sur certains, un fragment de masse viscérale, aussi petit que possible, a été prélevé pour examen histologique.

## Méthodes chimiques

### Mise en évidence du cuivre « fortement lié »

Les précipités naturels de sulfure cuivrique (CuS) sont entièrement remis en solution par l'eau régale (HCl-HNO<sub>3</sub> concentrés). Par contre, ils ne sont pas solubilisés (moins de 1 %) suite à une attaque par HCl 0,1N, alors que celui-ci libère la totalité du Cu complexé à la matière organique. En effet, chez les Vertébrés, où la présence de cuivre sous forme de précipité inorganique n'a jamais été décelée, les deux types de minéralisation libèrent une quantité identique de cuivre. Nous avons vérifié ce fait au niveau de foies d'anguilles.

Les tissus étudiés ici ont été finement hachés, homogénéisés et divisés en deux parties. Chaque partie a été traitée par l'une des deux méthodes suivantes :

1° attaque à l'eau régale : 2 ml d'un mélange d'HCl 12N et HNO<sub>3</sub> 14N sont ajoutés par gramme de tissu frais. Les métaux sont dosés dans une partie aliquote de la solution obtenue après 24 heures de minéralisation;

2° attaque à l'acide chlorhydrique : les tissus sont séchés pendant 12 heures à 110°C, puis 2 ml d'HCl 0,1N sont ajoutés par gramme de tissu frais à la matière sèche. Les métaux sont dosés dans une partie aliquote de la solution obtenue après 48 heures de ce traitement.

La teneur en cuivre, cadmium et zinc a été déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme (Perkin Elmer 370 A équipé d'un brûleur air-acétylène). Les solutions-étalon ont été préparées dans une matrice acide similaire à celle des échantillons. La limite de détection des métaux dans les solutions est de l'ordre de 0.01 ppm, ce qui correspond à une teneur dans les tissus d'environ 0,4 ppm.

Les teneurs en cadmium et en zinc totaux ont été déterminées après minéralisation dans l'eau régale.

En ce qui concerne le cuivre, nous conviendrons d'appeler « concentration en cuivre faiblement lié », la concentration en cuivre des tissus traités par l'attaque à l'acide chlorhydrique, l'attaque à l'eau régale nous permettant de connaître la « concentration totale en cuivre ». De même, nous conviendrons d'appeler « concentration en cuivre fortement lié », la différence entre les deux concentrations obtenues suite aux deux traitements précités. Nous conviendrons de considérer dans la suite de ce travail que le cuivre fortement lié est principalement constitué par le précipité de CuS, étant donné la caractérisation précise de ce composé par méthode histochimique, et étant bien entendu que d'autres formes de cuivre complexé pourraient y être incluses, mais n'ont pas été déterminées.

## Méthodes histologiques

Les pièces prélevées sur certains des individus soumis aux traitements chimiques décrits ci-dessus ont été fixées par le mélange de Carnoy, incluses et coupées à la paraffine. Les coupes ont été ou bien colorées par une méthode topographique courante (rouge-solide-picroindigo-carmin; érythrosine-orangé G sans coloration nucléaire), ou bien analysées par spectrographie des rayons X (analyse dispersive en longueur d'ondes;

microsonde Cameca MS 46; cristaux KAP et LIF), de manière à détecter les éléments S et Cu. Précisons, en effet, que la présence de CuS a été établie précédemment dans les cellules dites pigmentaires du tissu conjonctif de la littorine, par spectrométrie Raman, à l'aide d'une microsonde Jobin et Yvon Mole 77 (Martoja *et al.*, 1980). Des dosages ayant été réalisés sur les mêmes animaux, les teneurs ponctuelles, exprimées en chocs/seconde, ne sont données qu'à titre indicatif et n'ont qu'une valeur comparative.

Chez *Thais* et *Murex*, nous avons pu éviter le prélèvement histologique systématique et le remplacer par un examen à la loupe; le tortillon, qui est blanc laiteux, peut être ou non marbré de noir (*voir* fig. 2), et la comparaison entre l'aspect macroscopique et l'image histologique montre que les veinules correspondent à des files de cellules à CuS. Celles-ci sont nombreuses sous le tégument et leur couleur noire, due à l'accumulation du sel de cuivre, contraste avec la teinte pâle des organes voisins. La localisation moins superficielle des cellules à CuS chez *Littorina*, doublée d'une pigmentation générale plus importante, ne permet pas ce diagnostic macroscopique. L'étude histologique de *Monodonta* n'a pas été abordée.

## RÉSULTATS

### Données quantitatives

Les tableaux 1 à 5 relatent le détail des teneurs en cuivre, cadmium et zinc de *Monodonta* sp. (Archéogastéropode), *Littorina littorea* (Mésogastéropode), *Thais lapillus* et *Murex brandaris* (Néogastéropodes). Dans le lot de *Littorina littorea* étudié ici, aucune trace de CuS n'a pu être mise en évidence par des techniques histologiques. Par contre, du CuS a été mis en évidence chez tous les *Murex brandaris* étudiés. En ce qui concerne *Thais lapillus*, le lot a été divisé en deux parties selon que du CuS avait été décelé (CuS+, tab. 4) ou non (CuS-, tab. 3) à la loupe (cf. 2° partie de ce travail). Rappelons qu'il n'y a pas d'observations histologiques

Tableau 1

Concentrations (exprimées en µg/g de poids frais) en cadmium, zinc et cuivre dans les tissus mous de *Monodonta crassa* et pourcentage de cuivre fortement lié.

*Cd, Zn and Copper concentrations (ppm FW) in soft tissues of Monodonta crassa and percentage of strongly bound copper.*

| Poids de l'animal (en g) | Cadmium total (ppm PF) | Zinc total (ppm PF) | Cuivre total (ppm PF) | Cuivre faiblement lié (ppm PF) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,4                      | 1,1                    | 30,8                | 15,9                  | 14,2                           |
| 0,8                      | 0,3                    | 25,7                | 9,8                   | 7,7                            |
| 1,0                      | 1,0                    | 24,0                | 9,9                   | 7,6                            |
| 1,1                      | 0,4                    | 23,1                | 10,2                  | 9,9                            |
| 1,2                      | 0,5                    | 23,6                | 16,8                  | 15,8                           |
| 1,5                      | 0,5                    | 25,2                | 11,7                  | 9,8                            |
| 1,8                      | 0,4                    | 23,4                | 10,9                  | 10,9                           |

Moyennes ± ES :

0,6 ± 0,1    25,1 ± 1,0    12,2 ± 1,1    10,8 ± 1,2

Pourcentage de cuivre fortement lié : n.s. : P > 0,2 (t-test)

Tableau 2

Concentrations (exprimées en µg/g de poids frais) en cadmium, zinc et cuivre dans les tissus mous de *Littorina littorea* et pourcentage de cuivre fortement lié.

*Cd, Zn and Cu concentrations (ppm FW) in soft tissues of Littorina littorea and percentage of strongly bound copper.*

| Poids de l'animal (en g) | Cadmium total (ppm PF) | Zinc total (ppm PF) | Cuivre total (ppm PF) | Cuivre faiblement lié (ppm PF) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,26                     | 0,6                    | 35,3                | 9,1                   | 8,2                            |
| 0,31                     | 0,6                    | 31,7                | 17,1                  | 14,4                           |
| 0,36                     | 0,4                    | 29,8                | 9,8                   | 6,1                            |
| 0,37                     | 0,1                    | 37,8                | 11,8                  | 7,8                            |
| 0,38                     | 0,7                    | 33,2                | 18,0                  | 15,6                           |
| 0,40                     | 0,7                    | 40,2                | 19,0                  | 5,3                            |
| 0,40                     | 1,4                    | 29,0                | 23,2                  | 21,7                           |
| 0,42                     | 0,6                    | 31,4                | 12,0                  | 2,9                            |
| 0,43                     | 0,9                    | 49,2                | 7,9                   | 8,0                            |
| 0,45                     | 0,6                    | 38,2                | 21,6                  | 20,7                           |
| 0,46                     | 0,7                    | 41,5                | 19,5                  | 14,2                           |
| 0,48                     | 0,9                    | 35,8                | 16,5                  | 12,6                           |
| 0,50                     | 0,9                    | 31,9                | 15,7                  | 9,1                            |
| 0,51                     | 1,2                    | 37,0                | 9,8                   | 2,9                            |
| 0,52                     | 1,6                    | 35,0                | 6,4                   | 4,7                            |
| 0,64                     | 0,5                    | 32,5                | 12,1                  | 8,4                            |
| 0,65                     | 0,3                    | 49,8                | 23,5                  | 11,3                           |
| 0,70                     | 0,4                    | 39,6                | 11,3                  | 10,0                           |
| 0,72                     | 1,4                    | 39,0                | 11,2                  | 9,4                            |
| 0,76                     | 0,4                    | 36,1                | 16,8                  | 6,5                            |
| 0,77                     | 0,6                    | 38,2                | 25,4                  | 11,3                           |
| 1,16                     | 1,3                    | 40,1                | 31,1                  | 15,1                           |

Moyennes ± ES :

0,8 ± 0,1    36,9 ± 1,2    15,8 ± 1,4    10,3 ± 1,1

Pourcentage de cuivre fortement lié : 35 % P < 0,005 (t-test)

Tableau 3

Concentrations (exprimées en µg/g de poids frais) en cadmium, zinc et cuivre dans les tissus mous de *Thais lapillus* où la présence de CuS n'a pas été décelée et pourcentage de cuivre fortement lié.

*Cd, Zn and Cu concentrations (ppm FW) in soft tissues of Thais lapillus where CuS was not histologically detected and percentage of strongly bound copper.*

| Poids de l'animal (en g) | Cadmium total (ppm PF) | Zinc total (ppm PF) | Cuivre total (ppm PF) | Cuivre faiblement lié (ppm PF) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,16                     | 9,5                    | 182                 | 26,9                  | 25,2                           |
| 0,19                     | 9,7                    | 242                 | 4,3                   | 4,1                            |
| 0,21                     | 7,0                    | 397                 | 8,9                   | 4,4                            |
| 0,22                     | 6,7                    | 132                 | 7,7                   | 0,9                            |
| 0,22                     | 8,4                    | 190                 | 11,9                  | 5,6                            |
| 0,24                     | 8,6                    | 123                 | 12,1                  | 13,6                           |
| 0,27                     | 14,4                   | 156                 | 8,7                   | 3,9                            |
| 0,28                     | 7,9                    | 144                 | 4,2                   | 2,9                            |
| 0,30                     | 12,4                   | 163                 | 33,1                  | 31,9                           |
| 0,30                     | 10,4                   | 161                 | 21,0                  | 6,6                            |
| 0,30                     | 4,3                    | 113                 | 7,3                   | 10,6                           |
| 0,30                     | 5,8                    | 134                 | 7,1                   | 7,7                            |
| 0,32                     | 5,6                    | 96                  | 9,0                   | 8,4                            |
| 0,32                     | 10,9                   | 148                 | 29,7                  | 22,6                           |
| 0,32                     | 4,9                    | 115                 | 10,6                  | 6,7                            |
| 0,33                     | 10,6                   | 157                 | 38,3                  | 37,0                           |
| 0,34                     | 9,0                    | 93                  | 40,8                  | 38,4                           |
| 0,36                     | 4,6                    | 157                 | 6,8                   | 2,8                            |
| 0,37                     | 5,9                    | 535                 | 9,3                   | 6,9                            |
| 0,38                     | 4,7                    | 142                 | 7,3                   | 5,9                            |
| 0,40                     | 6,0                    | 101                 | 9,3                   | 8,5                            |
| 0,45                     | 7,4                    | 322                 | 12,2                  | 10,6                           |
| 0,45                     | 9,4                    | 86                  | 12,0                  | 11,6                           |
| 0,45                     | 20,7                   | 66                  | 28,2                  | 21,2                           |
| 0,46                     | 13,4                   | 122                 | 13,5                  | 12,0                           |
| 0,46                     | 24,1                   | 91                  | 6,6                   | 3,7                            |
| 0,52                     | 12,2                   | 73                  | 29,5                  | 2,3                            |
| 0,54                     | 19,6                   | 104                 | 47,3                  | 50,7                           |
| 0,62                     | 28,5                   | 104                 | 31,0                  | 27,2                           |

Moyennes ± ES :

10,4 ± 1,1    160 ± 19    17,1 ± 2,3    13,6 ± 2,4

Pourcentage de cuivre fortement lié : n.s. : P > 0,1 (t-test)

relatives à *Monodonta crassa*. L'ensemble des résultats est synthétisé dans le tableau 6.

Il y apparaît que les individus chez qui le CuS n'a pas été décelé sont ceux qui contiennent, et de loin, le moins de cuivre. Dans ce cas, les deux méthodes de minéralisation ne mettent pas en évidence d'excédent significatif de cuivre total par rapport au cuivre faiblement lié (P > 0.1 chez *Thais lapillus* CuS- et P > 0.2 chez *Monodonta crassa*, t-test). Chez les autres individus,

Tableau 4

Concentrations (exprimées en µg/g de poids frais) en cadmium, zinc et cuivre dans les tissus mous de *Thais lapillus* où la présence de CuS a été décelée et pourcentage de cuivre fortement lié.

*Cd, Zn and Cu concentrations (ppm FW) in soft tissues of Thais lapillus where CuS was histologically detected and percentage of strongly bound copper.*

| Poids de l'animal (en g) | Cadmium total (ppm PF) | Zinc total (ppm PF) | Cuivre total (ppm PF) | Cuivre faiblement lié (ppm PF) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 0,27                     | 12,5                   | 116,7               | 30,6                  | ?                              |
| 0,39                     | 8,4                    | 115,5               | 27,5                  | 21,8                           |
| 0,42                     | 10,2                   | 54,8                | 94,0                  | 76,6                           |
| 0,46                     | 11,1                   | 96,5                | 32,1                  | 7,7                            |
| 0,54                     | 3,1                    | 140,0               | 19,5                  | 12,6                           |
| 0,59                     | 4,6                    | 121,0               | 45,9                  | 39,0                           |
| 0,60                     | 4,2                    | 72,6                | 42,4                  | 7,7                            |
| 0,60                     | 13,1                   | 112,0               | 99,2                  | 11,0                           |
| 0,61                     | 8,9                    | 66,2                | 105,0                 | 94,0                           |
| 0,61                     | 4,2                    | 83,3                | 46,5                  | 32,6                           |
| 0,76                     | 6,7                    | 56,4                | 88,9                  | 50,1                           |
| 0,82                     | 19,2                   | 106,0               | 54,1                  | ?                              |
| 0,83                     | 6,4                    | 102,0               | 135,0                 | 113,0                          |

Moyennes ± ES :

7,4 ± 1,0    92,8 ± 8,5    66,9 ± 11,6    42,4 ± 11,2

Pourcentage de cuivre fortement lié : 31 % : P < 0,05 (t-test)

Tableau 5

Concentrations (exprimées en µg/g de poids frais) en cadmium, zinc et cuivre dans les tissus mous de *Murex brandaris* et pourcentage de cuivre fortement lié.

*Cd, Zn and Cu concentrations (ppm FW) in soft tissues of Murex brandaris and percentage of strongly bound copper.*

| Poids de l'animal (en g) | Cadmium total (ppm PF) | Zinc total (ppm PF) | Cuivre total (ppm PF) | Cuivre faiblement lié (ppm PF) |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|
| 4,04                     | 1,4                    | 185,0               | 24,3                  | 14,4                           |
| 6,52                     | 4,0                    | 193,0               | 88,7                  | 27,5                           |
| 8,20                     | 5,3                    | 159,0               | 68,4                  | 25,0                           |
| 8,30                     | 2,8                    | 247,0               | 113,0                 | 32,7                           |
| 10,66                    | 32,2                   | 285,2               | 240,7                 | 18,9                           |

Moyennes ± ES : 9,1 ± 5,8    213,8 ± 22,9    107,0 ± 36,5    23,7 ± 3,2

Pourcentage de cuivre fortement lié : 78 % : P < 0,05 (t-test)

Tableau 6

Concentrations en cuivre, cadmium et zinc (en µg/g de poids frais) dans les tissus mous de quatre espèces de Gastéropodes et présence (+) ou absence (-) de sulfure de cuivre chez ces espèces (synthèse des tableaux 1, 2, 3, 4, 5). *Copper, cadmium and zinc concentrations (ppm FW) in soft tissues of four Gastropod species. Presence (+) or absence (-) of CuS.*

| Espèce                    | n  | Cu CuS (ppm) | Cu fortement lié | Cd (ppm) | Zn (ppm) |     |
|---------------------------|----|--------------|------------------|----------|----------|-----|
| <i>Monodonta crassa</i>   | 7  | ?            | 12,2             | n.s.     | 0,6      | 25  |
| <i>Littorina littorea</i> | 4  | —            | 15,8             | 35 %     | 0,8      | 37  |
| <i>Thais lapillus</i>     | 29 | —            | 17,1             | n.s.     | 10,4     | 160 |
| <i>Thais lapillus</i>     | 13 | +            | 67               | 31 %     | 7,4      | 93  |
| <i>Murex brandaris</i>    | 5  | +            | 107,0            | 78 %     | 9,1      | 214 |

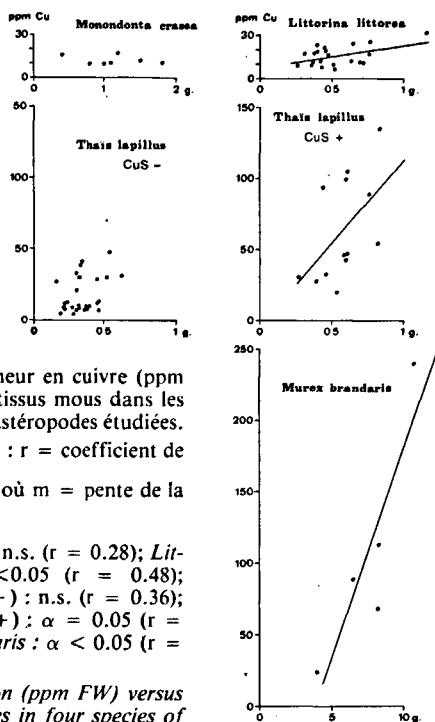


Figure 1

Relation entre la teneur en cuivre (ppm PF) et le poids des tissus mous dans les quatre espèces de Gastéropodes étudiées.

Régressions linéaires :  $r$  = coefficient de corrélation =  $\frac{m\sigma_x}{\sigma_y}$ , où  $m$  = pente de la droite.

*Monodonta crassa* : n.s. ( $r = 0.28$ ); *Littorina littorea* :  $\alpha < 0.05$  ( $r = 0.48$ ); *Thais lapillus* (CuS-) : n.s. ( $r = 0.36$ ); *Thais lapillus* (CuS+) :  $\alpha = 0.05$  ( $r = 0.53$ ); *Murex brandaris* :  $\alpha < 0.05$  ( $r = 0.88$ ).

Copper concentration (ppm FW) versus weight of soft tissues in four species of Gastropods.

ceux qui contiennent des cristaux de CuS, on observe une différence significative ( $P < 0.05$ , t-test) et le pourcentage de cuivre fortement lié a dès lors pu être estimé en moyenne à 31, 35 et 78 % respectivement chez *Thais lapillus* (CuS+), *Littorina littorea* et *Murex brandaris*.

La figure 1 montre les relations entre le poids de chaque individu et sa concentration en cuivre total. Dans deux lots où on a décelé du CuS (*Murex* et *Thais* [CuS+]), on constate une augmentation importante et significative ( $\alpha < 0.05$ ) de la teneur en cuivre en fonction du poids. Chez *Monodonta* et chez *Thais* (CuS-), aucune corrélation de ce type n'a pu être observée. Par contre, chez *Littorina littorea*, il y a une corrélation significative entre le poids du corps et sa teneur en cuivre, mais la pente de la droite de régression est très faible.

La comparaison entre le taux de cuivre total dans le « tortillon » et le « reste du corps » (tab. 7) montre que les fortes concentrations se trouvent dans les masses viscérales, sites privilégiés d'accumulation des cellules à CuS. Ces concentrations varient selon les espèces. A l'inverse, dans le reste du corps, la concentration varie peu selon l'espèce. En ordre de grandeur, elle correspond au taux de cuivre faiblement lié. Sur ce point

encore, *Monodonta crassa* se distingue des autres espèces. La teneur en cuivre de sa masse viscérale n'excède pas celle du reste du corps et équivaut, en valeur, à la concentration en cuivre faiblement lié. Il n'existe pas de corrélation entre le poids des animaux et la concentration en Cd et en Zn. Néanmoins, il ressort de nos résultats que les teneurs en cadmium et en zinc sont plus élevées chez les deux Néogastropodes, *Murex* et *Thais*, que chez *Littorina* et *Monodonta*. D'autre part, le cadmium et le zinc sont plus concentrés dans la masse viscérale que dans le reste du corps, sauf chez *Monodonta*. Ces deux constatations rappellent celles qui ont été faites pour le cuivre.

**Données morphologiques et spectrographiques**

L'identification spectrographique de sulfure cuivrique chez *Littorina littorea* a été relatée dans un travail précédent (Martoja *et al.*, 1980). L'espèce étant reprise dans le présent travail, nous rappellerons l'essentiel des résultats. Dans certaines cellules conjonctives, la spectrographie des rayons X décèle l'accumulation conjointe de cuivre et de soufre, le spectre d'émission ionique secondaire y identifie les deux isotopes stables du cuivre,  $^{63}\text{Cu}$  et  $^{65}\text{Cu}$ , dans une proportion qui correspond au pourcentage naturel et, en spectrométrie Raman, le composé accumulé émet une raie à  $474\text{ cm}^{-1}$ , caractéristique des liaisons intermoléculaires S-S du sulfure cuivrique, CuS. Le sulfure cuivrique se présente sous forme d'amas d'aiguilles noires incluses dans les lysosomes. L'organisation de la paroi cellulaire prouve qu'il y a filtration de matériaux à partir de l'hémolymphe et la pinocytose de molécules d'hémocyanine est visible sur micrographies électroniques.

Les cellules à sulfure cuivrique font partie du tissu conjonctif vésiculeux et sont intercalées entre des cellules à sphérocristaux. Chez *Littorina*, elles sont abondantes autour des vaisseaux et du tractus digestif, mais il s'en trouve aussi entre les tubes de la glande digestive et de la gonade. Les masses musculaires, à l'exception du myocarde, en sont dépourvues. Chez les Néogastropodes, *Thais* et *Murex*, les cellules à CuS, qui manquent dans le myocarde, sont nombreuses entre les tubes de la glande digestive. Beaucoup sont localisées juste sous le tégument et sont responsables des marbrures noires qui apparaissent sur le « tortillon » de certains individus (fig. 2). Cette particularité permet d'estimer, en première approximation, l'importance de l'accumulation de CuS, selon que les marbrures sont

Tableau 7

Concentrations en cuivre, cadmium et zinc (en  $\mu\text{g/g}$  de poids frais) du tortillon et du reste du corps de quatre espèces de Gastéropodes.

Copper, cadmium and zinc concentrations (ppm FW) in visceral mass compared to the metal concentration in the rest of the body in four Gastropod species.

| Espèce                    | n | CuS | Cuivre    |                | Cadmium   |                | Zinc      |                |
|---------------------------|---|-----|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|
|                           |   |     | Tortillon | Reste du corps | Tortillon | Reste du corps | Tortillon | Reste du corps |
| <i>Monodonta crassa</i>   | 7 | ?   | 11,2      | 12,8           | 0,6       | 0,6            | 25,1      | 25,1           |
| <i>Littorina littorea</i> | 4 | —   | 27,0      | 11,5           | 1,6       | 1,0            | 63,2      | 29,3           |
| <i>Thais lapillus</i>     | 6 | —   | 74,2      | 12,2           | 23,7      | 8,2            | 311,0     | 102,9          |
| <i>Thais lapillus</i>     | 5 | +   | 258,2     | 12,1           | 13,3      | 5,0            | 112,8     | 73,5           |
| <i>Murex brandaris</i>    | 4 | +   | 398,3     | 14,3           | 14,7      | 1,7            | 269,6     | 137,8          |

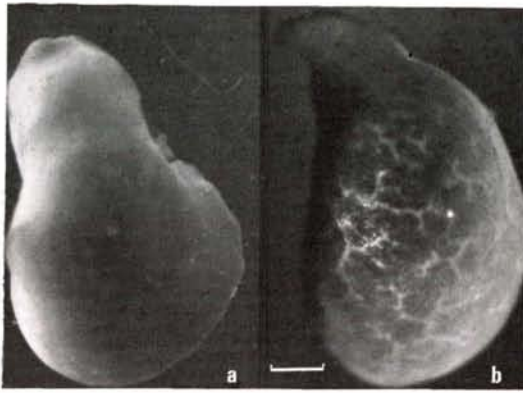


Figure 2  
Extrémités de la masse viscérale de deux murex, *Murex brandaris*. L'animal *a* est blanc et dépourvu de sulfure cuivrique. Les marbrures noires visibles sur l'animal *b* sont constituées par des files de cellules à sulfure cuivrique (échelle = 0,5 mm).

*Tips of visceral mass in two winkles, Murex brandaris. The animal a is white and devoid of sulphid copper. The visible black marblings on animal b consist of rows of sulphide copper cells (scale = 0,5 mm).*

absentes, décelables à la loupe ou visibles à l'œil nu. La quantité de CuS incluse dans les cellules présente, en effet, une large variabilité individuelle.

Nos observations relatives aux Néogastropodes sont résumées et illustrées par la figure 3, qui concerne quatre individus de l'espèce *Murex brandaris*. Les données quantitatives relatives à ces mêmes individus sont détaillées dans le tableau 5. Dans l'individu *a* (fig. 3 *a*), les cellules chargées de CuS visible au microscope photonique sont très rares et, dans chacune d'elles, les grains noirs de CuS sont petits et bien distincts les uns des autres (fig. 3 *e*). La teneur ponctuelle en cuivre décelable à la microsonde électronique, exprimée en chocs/seconde et correspondant à une surface approximative de  $1 \mu\text{m}^2$  est de 500. Cet animal avait une masse viscérale jaune non veinée de noir et pesait 4,0 g (coquille enlevée). Sa teneur en cuivre fortement lié était de  $9,9 \mu\text{g.g}^{-1}$ , soit 40 % du cuivre total. Dans l'individu *b* (fig. 3 *b*), les cellules renfermant du CuS visible sont assez nombreuses sous le tégument, mais rares entre les tubes de la glande digestive. Les grains sont encore assez petits (fig. 3 *f*). La teneur ponctuelle en Cu est de 600 chocs/s. Des veinules grises étaient visibles à la loupe sur le tortillon. L'animal pesait 8,2 g. Sa teneur en cuivre fortement lié était de  $43,4 \mu\text{g.g}^{-1}$ , soit 63 % du cuivre total. Dans l'individu *c* (fig. 3 *c*), les cellules à CuS visible sont nombreuses entre les tubes de la glande digestive. Les grains noirs y sont plus gros mais encore distincts (fig. 3 *g*). La teneur ponctuelle en cuivre est de 720 chocs/s. Le tortillon présentait des veinules grises visibles à la loupe. L'animal pesait 8,3 g et renfermait  $80,3 \mu\text{g.g}^{-1}$  de Cu fortement lié, soit 70 % du Cu total. Dans l'individu *d* (fig. 3 *d*), les cellules à CuS sont très nombreuses et leurs grains sont assez gros pour confluer en une masse compacte (fig. 3 *h*). La teneur ponctuelle en cuivre atteint 1 200 chocs/s. Les marbrures noires de la masse viscérale apparaissent bien à l'œil nu. Ce spécimen de 10,6 g contenait  $221,8 \mu\text{g.g}^{-1}$  de Cu fortement lié, représentant 92 % du cuivre total.

Dans cet exemple, nous observons donc le parallélisme suivant :

- poids de l'animal :  $a < b < c < d$ ;
- teneur ponctuelle en cuivre :  $a < b < c < d$ ;
- teneur en cuivre fortement lié :  $a < b < c < d$ ;
- pourcentage de cuivre fortement lié par rapport au cuivre total :  $a < b < c < d$ .

En raison de la petite taille des prélèvements, nous ne pouvions appliquer de façon rigoureuse les méthodes traditionnelles de numération cellulaire, mais l'appréciation des images indique que l'on obtiendrait le même parallélisme si l'on considérait le nombre de cellules chargées de CuS par unité de surface.

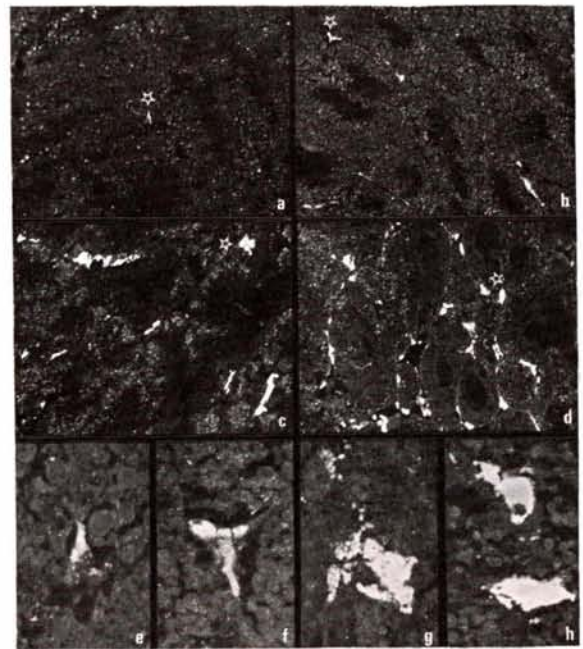


Figure 3  
Répartition et aspect des cellules à sulfure cuivrique chez quatre murex, *Murex brandaris* (voir texte; fixation par le mélange de Carnoy; coupes à la paraffine colorées par l'érythrosine orange G; afin de mieux faire ressortir les cellules à SCu, on s'est abstenu de colorer les noyaux).

*a à d* : glandes digestives : on remarquera que les cellules à sulfure cuivrique sont situées entre les tubes glandulaires et non intégrées au tissu hépato-pancréatique proprement dit (1 cm = 75  $\mu\text{m}$ ).

*e à h* : détail des cellules repérées par des astérisques sur les clichés précédents (1 cm = 15  $\mu\text{m}$ ).

*Distribution and aspect of sulphide copper cells in four winkles, Murex brandaris (see text; erythrosin orange G staining in Carnoy fixed paraffin sections; in order to set off the naturally black SCU cells, the nuclei have not been stained).*

*a to d* : digestive glands : note that the sulphide copper cells are located between glandular tubules and not enclosed in hepatopancreatic tissue (1 cm = 75  $\mu\text{m}$ ).

*e to h* : details of cells marked by asterisks in preceding photographs (1 cm = 15  $\mu\text{m}$ ).

## DISCUSSION

Les espèces très communes que nous avons étudiées ont déjà été examinées par de nombreux auteurs (Wang Tai Si, 1928; Segar *et al.*, 1971; Topping, 1973; Stenner, Nickless, 1974; Boyden, 1977; Ireland, Wootton, 1977; Howard, Nickless, 1977; Noël-Lambot *et al.*, 1978; Ireland, 1979 *a*; Wilson, Mc Mahon, 1981). Des données

de ces auteurs, comme des nôtres, il ressort que, globalement, la concentration en cuivre des Prosobranches s'élève parallèlement à la série évolutive Archaeo-Méso-Néogastropodes. C'est Wang Tai-Si (1928) qui, pour la première fois semble-t-il, a attiré l'attention sur le cas des Archaeogastropodes en signalant que le cuivre était indosable par ses méthodes chez le Troque et la Patelle, alors que la Pourpre et le Murex en étaient très riches. Plus tard, Vinogradov (1953) a tiré de son importante compilation la conclusion que les Aspidobranches (Archaeogastropodes) ne contiennent que peu de cuivre, sinon pas du tout. Sauf accroissement résultant d'une pollution massive (175 ppm/poids sec, chez *Tegula funebris*, Graham, 1972; 282 ppm/poids sec, chez *Patella vulgata*, Romeril, 1977) et impliquant la synthèse de métallothionéines (Howard, Nickless, 1977; Noël-Lambot *et al.*, 1978), les valeurs publiées depuis 1953 confirment cette donnée.

L'accumulation du cuivre en fonction du poids, et de ce fait très probablement en fonction de l'âge, s'effectue en effet de manière différente selon les espèces de Gastéropodes que nous avons étudiées et qui ont vécu dans des milieux non pollués. Chez l'Archéogastropode *Monodonta crassa*, nous n'avons observé aucune augmentation de la teneur en cuivre des tissus mous avec l'âge. Chez le Mésogastropode *Littorina littorea*, par contre, une faible augmentation a pu être décelée, augmentation pourtant bien moins importante que celle que nous avons observée chez les Néogastropodes *Murex brandaris* et *Thais lapillus*. Notons que dans cette dernière espèce, l'augmentation de la concentration en cuivre n'a pu être décelée qu'au niveau des individus d'un certain poids qui sont ceux chez qui la présence de CuS a été mise en évidence par des techniques histologiques.

Lorsqu'on observe une augmentation de la teneur en cuivre, celle-ci résulte en fait d'une accumulation du métal sous une forme fortement liée au niveau de la masse viscérale (cf. tab. 7).

Il convient de remarquer que l'adoption du poids comme critère de l'âge ne peut constituer qu'une approximation assez grossière. Un troque ou une littorine atteignant en quelques mois une taille proche de leur maximum et vivant une vingtaine d'années (voir Franc, 1968), il est certain que les plus gros individus présentent des écarts d'âge importants. D'autre part, il serait bon de tenir compte d'autres facteurs tels que le sexe; Ireland (1979 a) a, en effet, montré que les mâles de *Thais (Nucella)* étaient plus riches en cuivre que les femelles, mais il semble que ce soit l'inverse chez *Busycon* (Betzer, Pilson, 1974) et *Littorina* (Boyden, 1977), alors que l'examen morphologique suggère qu'un « pigment noir » (CuS) se forme lors du vieillissement de *Viviparus (Paludina)* (Cuénot, 1899). Quand ces difficultés n'existent pas, les conclusions sont tout autres. Ainsi, chez la Limace, animal hermaphrodite dont la longévité n'excède pas deux ans (Lusis, 1961), la relation âge/teneur en cuivre a été perçue très tôt (Severy, 1923). Elle est également reconnue chez l'Escargot (Marks, 1938; Coughtrey, Martin, 1977). Par contre, chez la Patelle, la concentration en cuivre décroît avec la taille (Boyden, 1974; Noël-Lambot *et al.*, 1980).

L'existence d'un stock de cuivre stable, indépendant des facteurs externes et peut-être même internes, explique bon nombre de constatations qui ont conduit Betzer et Pilson (1975) à affirmer « The small degree of regulation of this highly concentrated and (theoretically) metabolically important trace metal ». Histologiquement, l'accumulation se traduit par une augmentation du nombre et de la taille des cellules chargées de grains de sulfure cuivrique visibles au microscope photonique, par une augmentation de la taille des grains à l'intérieur de chaque cellule, et par une augmentation de la teneur ponctuelle en cuivre déterminée par spectrographie des rayons X. Les valeurs ponctuelles, qui vont jusqu'à 1 200 chocs/s chez les Néogastropodes, sont les plus fortes que nous ayons obtenues jusqu'ici. Elles plafonnent à 500 chez *Littorina* et sont plus faibles chez les Mésogastropodes terrestres et dulcicoles *Pomatias*, *Valvata* et *Viviparus* (Martoja, non publié). L'extension zoologique du processus physiologique conduisant à la formation de sulfure de cuivre reste à préciser. Cependant, on sait que 90 % du cuivre de la glande digestive et de la glande de l'albumine de l'Escargot est si fortement lié qu'il ne peut être libéré que par incinération (Moser, Wieser, 1979). Ce pourcentage correspond à celui que nous avons trouvé pour le sulfure cuivrique de *Murex*. Donc, bien que Moser et Wieser envisagent une liaison avec des protéines spécifiques, l'existence de sulfure cuivrique chez les Pulmonés est une éventualité à considérer.

La répartition des cellules à CuS explique que la masse viscérale renferme la majeure partie du cuivre. Il y est jusqu'à 28 fois plus concentré chez *Murex*; chez *Busycon*, c'est 82 % du cuivre qui y est contenu (Betzer, Pilson, 1974). Bien qu'il n'y ait pas un tel site privilégié dans l'accumulation du cuivre chez les limaces et escargots (Ireland, 1979 b; Moser, Wieser, 1979), cette particularité a conduit les auteurs à attribuer à l'hépatopancréas lui-même, la propriété de stocker le cuivre. Un rôle dans le transport des métaux a toutefois été attribué récemment aux cellules hémocoeliennes (Ireland, 1979 a). Nos résultats tendent à minimiser le rôle de l'hépatopancréas, mais non à l'exclure. Sur ce point, encore, une comparaison entre les Prosobranches et les Pulmonés s'impose. Certaines cellules de l'hépatopancréas de l'Escargot contiennent du cuivre décelable par spectrographie des rayons X (Martoja, non publié).

Lorsqu'on considère le reste du corps (céphalopodium + manteau), on constate que la teneur en cuivre est faible et extrêmement constante, quelle que soit l'espèce considérée. Il est remarquable que dans les masses musculaires, qui constituent l'essentiel du céphalopodium et du manteau, on ne trouve pas de cellules à sulfure de cuivre.

En ce qui concerne la littorine, il semble à première vue que l'on ait affaire à un cas intermédiaire entre les Archéo- et les Néogastropodes. En effet, au niveau du lot que nous avons étudié au cours de ce travail, bien que nous ayons montré une augmentation de la teneur en cuivre en fonction de l'âge, aucune trace de CuS n'était visible sur coupes histologiques. Cependant, dans un autre lot précédemment étudié par l'une d'entre nous, la présence de CuS avait été décelée chez

la littorine (Martoja *et al.*, 1980). Vraisemblablement, le lot étudié ici était constitué d'individus plus jeunes, comparables aux jeunes *Thais lapillus* où le CuS n'a pas été décelé non plus.

Au cours de ce précédent travail réalisé chez la littorine, Martoja *et al.* (1980) ont montré que le CuS était le produit cuivré final résultant de la dégradation de l'hémocyanine.

Chez l'Archéogastropode que nous avons étudié (*Monodonta crassa*), il ne semble pas y avoir d'accumulation de ce type au niveau de la masse viscérale. D'autre part, Segar *et al.* (1971) ont montré que la coquille d'un autre Archéogastropode, *Patella vulgata*, est près de six fois plus riche en Cu que les tissus mous (42 ppm poids sec contre 7.7), contrairement à ce qui se passe chez les Prosobranches supérieurs (0.29 contre 150 chez *Thais* par exemple, selon les mêmes auteurs). Les tissus mous de cette espèce, par contre, sont très pauvres en cuivre, même chez des individus récoltés dans la région très polluée du Canal de Bristol, où une partie de ce cuivre est fixée à des métallothionéines (Noël-Lambot *et al.*, 1978).

L'ensemble de ces résultats suggère, à titre d'hypothèse de travail, que le métabolisme de l'hémocyanine serait différent chez les Archéogastropodes et dans les autres ordres de Gastéropodes prosobranches. Ceci est en accord avec le fait que chez les Archéogastropodes, il y a une relation inverse entre la teneur en Cu et l'âge des animaux (Boyden, 1974; Noël-Lambot *et al.*, 1980). Chez les Prosobranches supérieurs, le catabolisme de l'hémocyanine conduirait à un stockage du cuivre sous forme de CuS dans la masse viscérale. Chez les Archéogastropodes, le cuivre résultant de ces processus aurait une autre destinée. Il pourrait par exemple être accumulé au niveau de la coquille. On sait, en effet, qu'un moyen d'éliminer les métaux lourds présents dans les tissus des mollusques consiste en une excrétion de ces métaux par le manteau dans la coquille au cours de la production de cette dernière (Cunningham, 1979). Chez l'Escargot, d'autre part, des variations réciproques entre la quantité d'hémocyanine et le taux de cuivre de l'hépatopancréas témoignent d'une réutilisation saisonnière (Weischer, 1965). Ce cuivre réutilisable n'a certainement pas de rapport avec le sulfure cuivrique et pourrait constituer un troisième type de métabolisme du cuivre.

Quoi qu'il en soit, nos observations nous amènent à poser deux questions importantes au point de vue écotoxicologique. D'abord, les Méso- et les Néogastropodes pouvant présenter des niveaux en cuivre extrêmement élevés résultant d'un processus physiologique normal, et donc tout à fait indépendant d'une contamination du milieu dans lequel ils vivent (cf. Martoja *et al.*, 1980), quelle peut être la valeur de ces espèces considérées *in toto* en tant que bio-indicateurs de pollution par le cuivre?

En effet, une augmentation de la concentration en cuivre due à une contamination du milieu serait vraisemblablement masquée, en tout cas chez les individus les plus âgés, par le stockage important de ce métal provenant de la dégradation de l'hémocyanine. Le choix

d'éventuels indicateurs de pollution (espèces ou tissus à analyser) par le cuivre chez les mollusques devrait donc être discuté à la lumière de ces résultats. En effet, une corrélation doit exister entre la teneur en métal d'un organisme et la concentration de celui-ci dans le milieu environnant pour que cet organisme puisse être considéré comme un bio-indicateur de pollution. Ce n'est certes pas le cas des Méso- et Néogastropodes que nous avons étudiés. Cunningham (1979) souligne par ailleurs la difficulté d'utiliser certains mollusques comme indicateurs de pollution pour le cuivre et le manganèse.

La deuxième question soulevée par nos observations concerne la qualité alimentaire des mollusques qui contiennent d'aussi importantes quantités de cuivre. Ce métal, lorsqu'il est complexé sous forme de sulfure cuivrique, est-il en fait assimilable par ses consommateurs? Si non, la concentration en cuivre à envisager du point de vue toxicologique serait seulement celle du cuivre faiblement lié. De nouvelles recherches sont entreprises dans nos laboratoires afin de répondre à ces questions.

En ce qui concerne les teneurs en cadmium des quatre espèces étudiées, celles de *Monodonta crassa* et de *Littorina littorea* sont relativement faibles. Par contre, elles sont très élevées, compte tenu de l'absence de pollution du milieu où les animaux ont été prélevés, chez *Thais lapillus* et chez *Murex brandaris*.

Les teneurs en cadmium des littorines et des pourpres de Roscoff sont comparables à celles déterminées par Noël-Lambot *et al.* (1978) pour les mêmes espèces vivant au Cap Gris-Nez et à Polperro, deux milieux également exempts de pollution par ce métal. D'autres auteurs (Mullin, Riley, 1956; Segar *et al.*, 1971; Graham, 1972; Peden *et al.*, 1973; Stenner, Nickless, 1974) ont également mis en évidence des teneurs élevées en cadmium chez *Thais* provenant de sites pollués ou non, alors que les concentrations mentionnées chez *Littorina* sont nettement moindres (Mullin, Riley, 1956; Topping, 1973; Howard, Nickless, 1978). A notre connaissance, *Monodonta* n'a pas encore fait l'objet de recherches à cet égard, mais les autres Trochidés étudiés, *Gibbula* (Mullin, Riley, 1956) ou *Tegula* (Graham, 1972), sont beaucoup plus pauvres en cadmium que les *Thais* examinés par ces mêmes auteurs. Il apparaît donc que les teneurs en cadmium diffèrent selon les espèces et qu'elles sont naturellement élevées chez *Thais*. De telles observations suggèrent que le cadmium pourrait être un métal essentiel dans certains groupes zoologiques. Une étude approfondie de la spéciation intracellulaire du cadmium représente, bien sûr, l'une des étapes indispensables des recherches à mener pour vérifier cette hypothèse.

Lorsque le milieu est contaminé par le cadmium, Noël-Lambot *et al.* (1978) ont montré une augmentation importante de la teneur en cet élément chez *Thais lapillus*; il est alors lié à des métallothionéines. Chez les *Thais* non exposés à une contamination (Cap Gris-Nez : Noël-Lambot *et al.*, 1978; Roscoff : Martoja, Bouquegneau, résultats non encore publiés), le cadmium n'est pas ou très peu lié à des métallothionéines, malgré leur teneur relativement importante. La présence de Cd-thionéine dans cette espèce pourrait donc



ainsi être considérée comme un indice de contamination du milieu.

En ce qui concerne le zinc, sa teneur est relativement stable au sein de chaque espèce, mais elle est très variable d'une espèce à l'autre, et, en fait, les espèces qui contiennent beaucoup de Cu (et du CuS) sont celles qui contiennent également beaucoup de zinc et de cadmium (cf. tab. 6). Des corrélations significatives entre les teneurs en cuivre, cadmium et zinc existent dans diverses espèces marines. Comme l'ont souligné Martin et Flegal (1975), plusieurs interprétations sont possibles, mais il faut admettre que le phénomène reste, pour le moment, inexplicable.

## CONCLUSIONS

Alors que l'analyse chimique indique que les Archaeogastropodes n'accumulent pas de sulfure cuivrique, chez les Mésogastropodes et les Néogastropodes que nous avons étudiés, nous avons pu mettre en évidence une forme de cuivre particulièrement insoluble que nous avons appelée fortement liée. Ces résultats concordent avec l'identification histologique de sulfure cuivrique et introduisent, en outre, deux notions nouvelles : 1) la fraction CuS peut être très supérieure à la fraction liée à des protéines et représenter plus de 90 % du cuivre total; 2) dans des conditions de milieu identiques, elle constitue la composante variable du stock de cuivre alors que la fraction faiblement liée est à peu près constante; en d'autres termes, c'est l'accumulation de sulfure cuivrique qui est responsable de l'enrichissement en cuivre total qui se produit chez certains individus.

La teneur en cuivre des Gastéropodes est donc très variable d'une espèce à l'autre. Cette variabilité résulte principalement d'un stockage de cuivre sous forme de CuS dans la masse viscérale des Mésogastropodes, stockage d'autant plus important que l'animal est âgé. Un tel stockage de cuivre, qui provient de la dégradation de l'hémocyanine, résulte de ce fait d'un processus physiologique normal, et fait par conséquent de ces espèces de très mauvais bio-indicateurs de pollution par le cuivre.

La possibilité pour les prédateurs de ces espèces d'assimiler une telle forme de cuivre mériterait d'être étudiée en détail afin d'en déterminer le danger potentiel pour la chaîne alimentaire.

La présence de cadmium en concentration très importante chez *Thais lapillus* et chez *Murex brandaris*, alors que les individus appartenant à ces deux espèces ont été prélevés dans des milieux non pollués par les métaux lourds, est particulièrement étonnante et suggère que ce métal pourrait avoir une fonction physiologique chez les Néogastropodes. A ce sujet, une étude approfondie de la forme sous laquelle le cadmium se trouve dans ces animaux mériterait d'être entreprise.

## Remerciements

Nous remercions R. Biondo pour son assistance technique, le Professeur P. Tarte (Université de Liège), qui

nous a fourni du CuS purifié, Ph. Cals, maître-assistant à l'Université Pierre-et-Marie-Curie, ainsi que Y. Bodiou, responsable des sorties en mer du laboratoire Arago (Banyuls-sur-Mer), qui nous ont procuré le matériel biologique.

Cette recherche a été partiellement financée par les Actions Concertées en Océanologie des Universités belges et par le contrat FRSC d'Initiative Ministérielle (Contribution à l'étude des interactions air-mer).

## RÉFÉRENCES

- Betzer S.B., Pilson M.E.Q., 1974. The seasonal cycle of copper concentration in *Busycon canaliculatum* L., *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 146, 165-175.
- Betzer S.B., Pilson M.E.Q., 1975. Copper uptake and excretion by *Busycon canaliculatum* L., *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 148, 1-15.
- Boyden C.R., 1974. Trace element content and body size in Molluscs, *Nature*, 251, 311-314.
- Boyden C.R., 1977. Effect on size upon metal content of shell-fish, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 57, 675-714.
- Coughtrey P.J., Martin M.H., 1977. The uptake of lead, zinc, cadmium and copper by the pulmonate Mollusc *Helix aspersa* Muller and its relevance to the monitoring of heavy metals contamination of the environment, *Oecologia*, 27, 65-74.
- Cuénot L., 1899. L'excrétion chez les Mollusques, *Arch. Biol., Paris*, 16, 49-95.
- Cunningham P.A., 1979. The use of Bivalve Molluscs in heavy metal pollution research, in : *Marine pollution : functional responses*, edited by W.B. Vernberg et al., Academic Press, New York, 1979, 183-221.
- Franc A., 1968. Classe des Gastéropodes, in : *Traité de zoologie*, édité par P.P. Grassé, Masson, Paris, 1968, vol. 5, n° 3, 1-893.
- Graham D.L., 1972. Trace metal levels in intertidal Molluscs of California, *Veliger*, 14, 365-372.
- Howard A.G., Nickless G., 1977. Heavy metal complexation in polluted Molluscs. I. Limpets (*Patella vulgata* and *Patella intermedia*), *Chem. Biol. Interact.*, 16, 107-114.
- Howard A.G., Nickless G., 1978. Heavy metal complexation in polluted Molluscs. III. Periwinkles (*Littorina littorea*), cockles (*Cardium edule*) and scallops (*Chlamys opercularis*), *Chem. Biol. Interact.*, 23, 227-231.
- Ireland M.P., 1979 a. Distribution of metals in the digestive gland gonad complex of the marine Gastropod *Nucella lapillus*, *J. Mollusc. Stud.*, 45, 322-327.
- Ireland M.P., 1979 b. Distribution of essential and toxic metals in the terrestrial Gastropod *Arion ater*, *Environ. Pollut.*, 20, 271-278.
- Ireland M.P., Wootton R.J., 1977. Distribution of lead, zinc, copper and manganese in the marine Gastropods, *Thais lapillus*, and *Littorina littorea*, *Environ. Pollut.*, 12, 27-41.
- Lüsis O., 1961. Post-embryonic changes in the reproductive system of the slug *Arion ater rufus*, *Proc. Zool. Soc., London*, 137, 433-468.
- Marks G.W., 1938. The copper content and copper tolerance of some species of molluscs of the southern California coast, *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole*, 75, 224-237.
- Martin J.H., Flegal A.R., 1975. High copper concentrations in squids in association with elevated levels of silver, cadmium, and zinc, *Mar. Biol.*, 30, 51-55.
- Martoja M., Thiriou-Quévieux C., 1980. Les cellules à sulfure cuivrique du Rissoidea, *Rissoa ventricosa* Desm. (Gastéropode Prosobranchie) : répartition, caractères, interprétation écotoxicologique, *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 121, 271-278.
- Martoja M., Vu Tan Tue, Elkaïm B., 1980. Bioaccumulation du cuivre chez *Littorina littorea* (L.) (Gastéropode Prosobranchie) : signification physiologique et écologique, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 43, 251-270.
- Moser H., Wieser W., 1979. Copper and nutrition in *Helix pomatia* (L.), *Oecologia*, 42, 241-251.
- Mullin J.B., Riley J.P., 1956. The occurrence of cadmium in seawater and marine organisms and sediments, *J. Mar. Res.*, 15, 103-122.
- Noël-Lambot F., Bouquegneau J.M., Frankenne F., Distèche A., 1978. Le rôle des métallothionéines dans le stockage des métaux lourds chez les animaux marins, *Rev. Inter. Océanogr. Méd.*, 49, 13-20.

- Noël-Lambot F., Bouquegneau J.M., Frankenne F., Distèche A., 1980. Cadmium, zinc and copper accumulation in Limpets (*Patella vulgata*) from the Bristol Channel with special reference to metallothioneins, *Mar. Ecol. Progr. Sci.*, **2**, 81-89.
- Peden J.D., Crothers J.H., Waterfall C.E., Beasley J., 1973. Heavy metals in Somerset marine organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, **4**, 7-9.
- Romeril M.G., 1977. Heavy metal accumulation in the vicinity of a desalination plant, *Mar. Pollut. Bull.*, **8**, 84-87.
- Segar D.A., Collins J.D., Riley J.P., 1971. The distribution of the major and some minor elements in marine animals. Part. II. Molluscs, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **51**, 131-136.
- Severy H.W., 1923. The occurrence of copper and zinc in certain marine animals, *J. Biol. Chem.*, **55**, 79-85.
- Stenner R.D., Nickless G., 1974. Absorption of cadmium, copper and zinc by dog whelks in the Bristol Channel, *Nature*, **247**, 198-199.
- Topping G., 1973. Heavy metals in shellfish from scottish waters, *Aquaculture*, **1**, 379-384.
- Vinogradov A.P., 1953. The elementary chemical composition of marine organisms, *Sears Found. Mar. Res., New Haven, Mém. n° 2*, 647 p.
- Wang Tai Si, 1928. Recherches sur le cuivre, le fer, le manganèse et le zinc chez les Mollusques, *Thèse Doct. État, Univ. Paris*, Jouve éd., Paris, 150 p.
- Weischer M.L., 1965. Stoffwechselfysiologische Untersuchungen zur Bedeutung des Haemocyanins bei *Helix pomatia*, *Zool. Beitr.*, **11**, 517-540.
- Wilson J.G., Mc Mahon R.F., 1981. Effects of high environmental copper concentration on the oxygen consumption, condition and shell morphology of natural populations of *Mytilus edulis* L. and *Littorina rudis* Maton, *Comp. Biochem. Physiol.*, **70 C**, 139-147.
-