



Organotropisme, toxico-cinétique et devenir des contaminants métalliques chez une espèce sentinelle d'eau douce *Gammarus fossarum*

Ophélie Gestin

► To cite this version:

Ophélie Gestin. Organotropisme, toxico-cinétique et devenir des contaminants métalliques chez une espèce sentinelle d'eau douce *Gammarus fossarum*. Ecologie, Environnement. Université Claude Bernard - Lyon I, 2022. Français. NNT : 2022LYO10170 . tel-04368960

HAL Id: tel-04368960

<https://theses.hal.science/tel-04368960>

Submitted on 2 Jan 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

**École Doctorale N° 341
Évolution Écosystèmes Microbiologie Modélisation**

Discipline : Écotoxicologie aquatique

Soutenue publiquement le 09/12/2022, par :

Ophélie GESTIN

Organotropisme, toxico-cinétique et devenir des contaminants métalliques chez une espèce sentinelle d'eau douce *Gammarus fossarum*

Devant le jury composé de :

Gagnaire, Béatrice	Chercheuse (HDR), IRSN, Cadarache	Rapporteuse
Giambérini, Laure	Professeure des Universités, Université de Lorraine	Rapporteuse
Beaudouin, Rémy	Ingénieur de recherche (HDR), INERIS, Verneuil-en-Halatte	Examineur
Charles, Sandrine	Professeure des Universités, Université Claude Bernard Lyon 1	Présidente
Metian, Marc	Chercheur (HDR), IAEA, Monaco	Examineur
Geffard, Olivier	Directeur de recherche (HDR), INRAE Lyon-Villeurbanne	Directeur de thèse
Lacoue-Labarthe, Thomas	Chargé de Recherche CNRS, La Rochelle	Invité
Lopes, Christelle	Maître de Conférences, Université Claude Bernard Lyon 1	Invitée

*« So understand
Don't waste your time always searching for those wasted years
Faces up... make your stand
And realise you're living in the golden years »
Iron Maiden - Wasted years*

Remerciements

Je souhaite remercier en premier lieu celles et ceux qui ont accepté de faire partie de mon jury de thèse : Rémy Beaudouin, Sandrine Charles, Béatrice Gagnaire, Laure Giambérini et Marc Métian. Et je remercie particulièrement les deux rapporteuses qui ont accepté d'évaluer ce manuscrit présentant la majeure partie des travaux scientifiques que j'ai pu effectuer au cours de ma thèse : Béatrice Gagnaire et Laure Giambérini.

Que d'émotions endurées pendant une thèse, surtout pour l'hypersensible que je suis ... mais grâce à un nombre incalculable de personnes : voilà, c'est fini (comme le dit la chanson). Arrivent les remerciements à écrire. Les souvenirs tourbillonnent. Les larmes montent aux yeux et les mots sont plus difficiles à trouver que je ne l'aurais pensé.

Tout d'abord je voudrais remercier ceux grâce à qui j'en suis là : Christelle Lopes, Thomas Lacoue-Labarthe et Olivier Geffard. Merci à vous de m'avoir confié ce sujet de thèse, à moi, qui n'y connaissais pas grand-chose en gammes et en modélisation, mais qui avais envie d'en savoir plus. Merci Christelle pour tous les moments passés ensemble à modéliser en présentiel (et en distanciel). Pas toujours facile pour moi d'appréhender ces nouvelles notions, mais ta patience et ta disponibilité pour me ré-expliquer les choses X fois m'ont aidée à surmonter les craintes que j'avais. Sans oublier tous les moments où ça ne marchait pas (ah oui il y a une erreur de copié-collé ligne 65) et nos discussions sur tout et rien pendant que ça « tourne ». Ça y est, maintenant, c'est fini pour moi, bon courage à toi pour la rédaction de ton HDR. Merci Thomas pour les discussions autour des sources, les coups de pouce pour les comptages et d'avoir été présent dans tous mes moments de doute. Et toi, c'est quand que tu te mets au Bayésien du coup ? Ça y est, tu vas pouvoir récupérer à plein temps ta clé et tu n'auras plus à aller chercher des commandes de 80 L d'eau au drive de Périgny ! Promis après la thèse je trouverai des vrais loisirs pour occuper mes week-end ;) Merci Olivier pour ton humanité, ta jovialité et le temps que tu as su m'accorder malgré toutes tes casquettes et ton agenda de ministre. Je suis heureuse d'avoir pu partager cette aventure avec toi qui as toujours les mots qu'il faut, notamment aux moments où je me questionnais sur la fin de thèse et l'après-thèse. Christelle, Olivier et Thomas, vous avez su tous les trois apporter de la légèreté dans les moments les plus improbables, tout en m'aidant à surmonter mes craintes et en m'épaulant dans les moments les plus difficiles. Merci pour toutes ces discussions scientifiques que nous avons partagées tous les quatre, qui m'ont permis de mieux comprendre mon sujet et tous les tenants et aboutissants ... même si parfois au bout de 4 heures nous en revenions au même modèle. Merci de m'avoir soutenue dans mes envies d'enseigner et de vulgariser mes travaux et de m'avoir laissée y consacrer du temps. Et surtout merci à Christelle et Thomas de ne pas avoir soutenu vos HDR pendant ma thèse ! Sans ça je n'aurais pas pu garder Olivier en directeur de thèse ;)

Je voudrais ensuite remercier l'ANR (Agence Nationale de la Recherche) pour le financement du projet APPROVe qui inclut ma thèse. Ainsi que le CNRS, mes trois équipes, mes trois laboratoires et les deux universités auxquels ils sont rattachés pour m'avoir accueillie. L'équipe MEPS (Modélisation et Écotoxicologie PrédictiveS) du Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive de l'Université Lyon Claude Bernard 1 ; l'équipe AMARE (réponses des Animaux MARins à la variabilité Environnementale) du laboratoire Littoral ENvironnements et Sociétés (LIENSs) et La Rochelle Université ; et enfin l'équipe Écotoxicologie de l'unité de recherche RIVERLY d'INRAE Lyon-Villeurbanne (Institut de Lyon-Grenoble Auvergne-Rhône-Alpes). De plus, je voudrais remercier celles et ceux qui agissent dans l'ombre et m'ont facilité la vie (en présentiel ou en distanciel) dans toutes mes démarches administratives et autres missions : Nathalie Arbasetti, Odile Mulet-Marquis, Johan Guiard, Lucia Picard et Eva Martineau. Un énorme merci également à Armelle Combaud pour le prêt de matériel, tous les conseils en communication et toutes les opportunités de vulgarisation. Merci également pour tous les moments d'HELS et d'organisation du quotidien au LIENSs, pour ta bonne humeur et ton écoute.

Merci à tou.te.s celles et ceux qui ont donné de leur temps pour m'aider dans mes expérimentations : Laura Garnero, Hervé Quéau et Nicolas Delorme à INRAE pour toute la logistique concernant les gammars, les disques de feuille et la stabulation ; et Manu au LIENSs. Merci également à Christine Dupuy, dans ta qualité de PCR du labo de radioc mais aussi pour tes qualités humaines.

Au LIENSs je voudrais dire merci à mes collègues de bureau : les docs 122 ! Clément, Fanny et Margot, pendant un peu plus de 3 ans nous avons partagé ce bureau, mais c'était quand même un peu plus qu'un simple bureau. Déjà c'était le bureau le plus accueillant : thé, café, tisane, tasses, agrafeuse, il y avait tout ! Et puis cette aventure nous l'avons commencée tous ensemble, même si les prolongations COVID font que nous ne finirons pas ensemble. Par contre, je reste jusqu'à Noël donc non Margot tu ne peux pas récupérer mon bureau maintenant ! Et désolée Clément, mais Fanny et moi allons te pourrir les oreilles une année de plus avec les chansons de Noël ! Bon courage à tous les 3 pour la suite, surtout pour la rédaction (n'est-ce pas ;)) Merci également à tous les autres doctorants/postdocs/IR/stagiaires, je pense notamment à Julie, Gauthier, Alic(tch)e, Marta, Jérémy, Miguel, Dimitri, Alexandre, Adrien, Antoine. Tous ces moments et discussions partagés autour de nos repas ou en salle café. Un spécial merci à Justine Reveillas pour le soutien psychologique, les balades en bord de mer, les salades partagées (les cheesecake !!!), ton goût accru pour l'astrologie, sans oublier nos discussions plus ou moins discrètes ;) Merci à l'ADOCs de m'avoir permis de participer à toutes les activités : le film pas trop scientifique, la formation PSC1 entre autres, même si je n'étais pas une doctorante rochelaise sur le papier. Merci à Gilles Radenac et à La Rochelle Université de m'avoir autorisée à faire des enseignements et à Mickaël Airaud de m'y avoir accompagnée. Et merci à tou.te.s les autres collègues du LIENSs que j'ai croisé de près ou de loin. Mais également aux collègues du même

couloir que j'ai également appris à mieux connaître en conférence : merci à Marine Barbarin, Marion Pillot et Héléne Thomas pour m'avoir accompagnée tout au long cette aventure dent-esque de la SETAC 2022.

A Lyon je voudrais remercier tous ceux qui ont fait à INRAE et à l'Université Lyon 1 que, malgré la distance, j'ai pu être incluse dans tous les moments forts et toutes les réunions qui me permettaient de garder le lien avec vous. Pour cela j'aimerais spécialement remercier Sandrine Charles qui a mis un point d'honneur à m'inclure dans toutes les activités lyonnaises, scientifiques ou non. Merci pour ta bienveillance, tes critiques constructives et ton accueil toujours chaleureux. Merci également à tou.te.s celles et ceux de mes collègues lyonnais.es, que j'ai appris à connaître au cours des conférences : Auréline Lalouette, Natacha Koenig, Maxime Lepretre, Rémi Recoura-Massaquant, Davide Degli Esposti Arnaud Chaumot, Laura Kergoat. Merci également à Virgile Baudrot et Thomas Kleiber pour leur présentation de Qonfluens et ce café insolite au milieu d'un parc Copenhaguois. Merci à Dominique Lamonica pour ces moments sympas passés à discuter de tout et de rien, mais toujours avec bienveillance à la SETAC et la SEFA. Merci également à Aude Ratier pour tes conseils.

Enfin, je voudrais remercier les membres de mes comités de thèse : Élise Billoir, Paco Bustamante, Jérémy Lobry et ma tutrice E2M2 Aude Herrera-Belaroussi, pour votre écoute, vos conseils et vos encouragements.

Merci à la SNCF, aux contrôleuses et aux contrôleurs de la ligne 14 du TER Nouvelle-Aquitaine de m'avoir accompagnée quasi quotidiennement tout au long de ma thèse, toujours avec joie et bonne humeur.

Merci à mes amis, ces Brestois.es d'un jour et ceux de toujours qui m'ont accompagnée sur un bout de chemin ou tout au long de cette aventure.

Merci à toi Grégory, qui m'apporte tant au quotidien depuis ce fameux « boudu » où tu as eu pitié de la STF que j'étais. Après avoir mangé des kilomètres nous nous sommes rapprochés au fil des années : Brest-Niort, puis Le Mans-Niort, puis Nantes-Niort ... pour enfin nous retrouver presque immédiatement confinés ensemble. Qu'ils étaient chouettes ces moments de quiétude et de vie au ralenti passés à tes côtés. Tu as ensuite réussi à survivre aux montagnes russes émotionnelles de ma thèse, que tu as vécues si souvent par procuration. Et pendant tout ce temps, tu étais ma constante, toujours là pour moi, dans les bons et les moins bons moments, tel un roc. Merci à ma belle-famille Nathalie & Fernando et Mélinda & Alya (et la petite crevette bientôt là) pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir. C'est toujours un plaisir pour moi de revenir à Brest, sans oublier tous ces instants (un peu plus rudimentaires) à Lília. Merci de faire tant pour m'accueillir tout en veillant à toujours faire attention à mes allergies. Merci à ma mamie et Denis pour les bons moments partagés ensemble et le soutien à chaque nouvelle vidéo, photo ou autre publication de vulgarisation concernant ma thèse, que vous avez si assidûment suivies sur les réseaux. Merci à ma marraine

(qui a toujours su) et qui a toujours cru en moi. Et comment ne pas remercier la Família : vous êtes un peu mes « vaches » à moi, celles qui me ramènent au port malgré la houle et le brouillard ! Tout d'abord, ma maman (« Ta fille a 20 ans (enfin presque 30 !), que le temps passe vite. Madame, hier encore elle était si petite ») et mon papa. Merci à vous, de m'avoir soutenue dans mes choix et dans mes études. Merci d'avoir fait de moi la femme que je suis, qui ne lâche rien (oui, oui, certains pourraient dire têtue !) et qui se bat pour ce qu'elle croit être juste. Banzaï ! Merci à ma sœur Joséphine et mon frère (petit) Paul, qui m'ont tant soutenue, avec qui j'ai tant partagé et dont je suis si fière. Merci à mon grand-père pour tous les souvenirs qu'il a laissés et qui aurait, j'en suis sûre, corrigé avec enthousiasme mon anglais. Merci à ma grand-mère (et à Bernadette) qui apportent tant de « pétillant » dans nos vies. Vivement l'été prochain pour que nous nous envoyions encore quelques cocktails avec plus ou moins de modération (sans oublier les giclettes de citron bien évidemment !). Merci aux parisiens, Monsieur le Maire et toute sa petite famille pour le soutien et les souvenirs partagés ensemble. Enfin merci aux américains (maintenant presque tous briochins/malouins par intérim) et particulièrement à mon parrain, car si j'ai trouvé ma vocation et que j'en suis là c'est aussi beaucoup grâce à toi et au modèle que tu as été pour moi depuis toujours.

Liste des publications et des communications associées

Publications

Acceptées

Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccia, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. Environment International 156, 106625. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>

Astuto M.C., Di Nicola M.R., Tarazona J.V., Devos Y., Liem A.K.D., Kass G.E.N., Bastaki M., Schoonjans R., Maggiore A., Charles S., Ratier A., Lopes C., **Gestin O.**, Roncaglioni A., Robinson T., Carnesecchi E., Dorne J.L.C.M. (2021). *In silico* methods for Ecological risk assessment: principles, tiered approaches, applications and future perspectives. Book chapter. *Methods in Molecular Biology*. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1960-5_23

Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T. 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. Environ. Pollut. 308. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119625>

Charles, S., **Gestin, O.**, Bruset, J., Lamonica, D., Baudrot, V., Chaumot, A., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T., Lopes, C., 2022. Generic solving of physiologically-based kinetic models in support of next generation risk assessment due to chemicals. J. Explor. Res. Pharmacol. <https://doi.org/10.1101/2022.04.29.490045>

Di Nicola, M. R., Cattaneo, I., Nathanail, A. V., Carnesecchi, E., Chiara Astuto, M., Steinbach, M. Williams, A. J., Charles, S., **Gestin, O.**, Lopes, C., Lamonica D., Tarazona, J. V., 2022. The use of new approach methodologies for the environmental risk assessment of food and feed chemicals. Curr. Opin. Environ. Sci. Health. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100416>

Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lopes, C., 2023. Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxicokinetic and fate in *Gammarus fossarum*. Environ. Int. 171. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107673>

En préparation

Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T. In prep. Accumulation efficiency of metals (Ag, Cd and Zn) from two type of food in *Gammarus fossarum*, en préparation pour Peer Community Journal - Ecotoxicology & Environmental Chemistry

Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lopes, C., In prep. Comparison of the organotropism, toxico-cinétique and fate of cadmium between dissolved and trophic pathway in *Gammarus fossarum*, en préparation pour Environmental Science & Technology

Conférences : Présentations orales

2022

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lopes C. (2022). Toxicokinetic modelling to understand the influence of exposure pathways on the distribution, toxicokinetic and fate of cadmium in the organs of *Gammarus fossarum*. Conférence Internationale des Sciences en Écologie, 21-25 Novembre 2022.

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lopes C. (2022). Comparaison de l'organotropisme, de la toxico-cinétique et du devenir du cadmium (Cd)

accumulé par voie dissoute ou trophique chez *Gammarus fossarum*. Réunion plénière du GDR Écotoxicologie Aquatique, 15-17 Novembre 2022.

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lopes C. (2022). Comparaison de l'organotropisme, de la toxico-cinétique et du devenir du cadmium (Cd) accumulé par voie dissoute ou trophique chez *Gammarus fossarum*. Conférence de la Société Française d'Écotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA), 30 Juin-1^{er} Juillet 2022.

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Geffard O., Lopes C. (2022). Comment la modélisation permet de comprendre les processus de bioaccumulation des métaux ? Journée DIPEE (Dispositif de Partenariat en Écologie et Environnement Nouvelle-Aquitaine - Centre-val-de-Loire) à l'Université de Poitiers, 2 Juin 2022.

Gestin O., Lopes C., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2022). Organotropism, bioaccumulation and fate of cadmium (Cd) and zinc (Zn) in *Gammarus fossarum* after exposure to environmental concentrations. 32^{ème} Conférence annuelle européenne de la SETAC, 15-19 Mai 2022.

2021

Gestin O., Lopes C., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2021). Effet de la concentration d'exposition en cadmium (Cd) sur son organotropisme, sa toxico-cinétique et son devenir chez *Gammarus fossarum*. Réunion plénière du GDR Écotoxicologie Aquatique, 23-25 Novembre 2021.

Gestin O., Lopes C., Bourlier V., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2021). L'organotropisme des métaux chez *Gammarus fossarum*, à des concentrations environnementales : modélisation toxico-cinétique multi-compartiments. Conférence de la Société Française d'Écotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA) (virtuel), 28-29 Juin 2021.

Gestin O., Lopes C., Bourlier V., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2021). La modélisation toxico-cinétique pour comprendre et formaliser le devenir de métaux au sein des organes d'un invertébré aquatique, *Gammarus fossarum*. Colloque conjoint (ECOTOQ, Chapitre Saint Laurent, ECOBIM, PURE) en écotoxicologie 2021 : Les enjeux de la contamination urbaine sur la santé environnementale (virtuel), 31 Mai – 03 Juin 2021.

Gestin O., Lopes C., Bourlier V., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2021). Accumulation, fate and effects of metals contaminants in the sentinel species *Gammarus fossarum*. 2^{ème} édition de la Journée des thèse d'INRAE-Lyon Villeurbanne (virtuel), 03-04 Mai 2021.

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Coquery M., Delorme N., Dherret L., Ciccia T., Geffard O., Lopes C. (2021). Use of one and multi-compartments toxico-kinetic modelling to understand Cd and Hg's organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. 31^{ème} Conférence annuelle européenne de la SETAC (virtuel), 03-06 Mai 2021.

Conférences : Présentations de posters

2022

Gestin O., Lacoue-Labarthe T., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lopes C. (2022). Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxico-kinetics and fate in *Gammarus fossarum*. 32^{ème} Conférence annuelle européenne de la SETAC, 15-19 Mai 2022.

Gestin O., Lopes C., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2022). Assimilation efficiency of cadmium (Cd) and influence of the exposure pathways on its distribution, toxico-kinetic and fate in the organs of *Gammarus fossarum*. 32^{ème} Conférence annuelle européenne de la SETAC, 15-19 Mai 2022.

2021

Gestin O., Lopes C., Bourlier V., Delorme N., Garnero L., Geffard O., Lacoue-Labarthe T. (2021). One-compartment toxicokinetic models to predict metals organotropism in *Gammarus fossarum*, at environmental concentrations. 31^{ème} Conférence annuelle européenne de la SETAC (virtuel), 03-06 Mai 2021.

Diffusion pédagogique (également nommée « vulgarisation scientifique »)**2022**

- Participation aux ateliers « Cordée de la réussite - Cap Science » organisés par le pôle de l'orientation et de l'insertion de La Rochelle Université : projection du film réalisé dans le cadre du festival du « Film [pas trop] scientifique » et échanges avec des collégiens et des lycéens
- Participation à la table ronde de l'évènement « Pars en thèse », organisée par l'ED E2M2 (Université Lyon 1) : information des étudiants de Licence et de Master sur la vie en doctorat et réponses aux questions qu'ils se posent

2021

- Réalisation du court-métrage « Un gammare, et ça repart ! » pour la 20^{ème} édition du festival du « Film [pas trop] scientifique », organisé par l'ADOCs (Association des doctorants et jeunes chercheurs de l'Université de La Rochelle) ([Lien](#))
- Enregistrement d'un podcast pour le programme « Littoral, ENvironnement & Sociétés », présenté par Gaëlle de Christen (radio RCF) ([Lien](#))
- Participation à la table ronde de l'évènement « Pars en thèse », organisée par l'ED E2M2 (Université Lyon 1) : information des étudiants de Licence et de Master sur la vie en doctorat et réponses aux questions qu'ils se posent
- Participation au webinar n°2 « Les pieds dans l'eau : du laboratoire au terrain partageons notre savoir » organisé par Réseaux Rivière TV et H2O'Lyon. Titre : « Comment bien mesurer la bioaccumulation des contaminants métalliques en rivière ? TOP CHEF : ce soir c'est gammare fourré au Cadmium ! Faut-il prendre l'aile ou la cuisse ? » ([Lien](#))
- Candidature aux sélections lyonnaises de l'édition 2021 de MT180 ([Lien](#))

2020

- Ouverture d'un compte Instagram ([Lien](#)) et Facebook ([Lien](#)) de vulgarisation et de partage du quotidien de doctorant à destination du grand public, en co-gestion avec 3 doctorants du LIENSs
- Co-organisation et co-animation d'un atelier pour le Festival de la Fête de la Science 2020

Table des matières

REMERCIEMENTS	I
LISTE DES PUBLICATIONS ET DES COMMUNICATIONS ASSOCIEES	V
<i>Publications</i>	V
Acceptées	V
Soumises	Erreur ! Signet non défini.
En préparation	V
<i>Conférences : Présentations orales</i>	V
2022	V
2021	VI
<i>Conférences : Présentations de posters</i>	VI
2022	VI
2021	VII
<i>Diffusion pédagogique (également nommée « vulgarisation scientifique »)</i>	VII
2022	VII
2021	VII
2020	VII
TABLE DES MATIERES	IX
LISTE DES ABBREVIATIONS, SYMBOLES CHIMIQUES & FORMULES DES MOLECULES	XIII
<i>Abréviations</i>	XIII
<i>Symboles chimiques & formules des molécules</i>	XIV
LISTE DES FIGURES	XVII
LISTE DES TABLEAUX.....	XXV
INTRODUCTION	1
<i>Contexte</i>	1
<i>Objectifs</i>	3
<i>Démarche scientifique et organisation du manuscrit</i>	3
CHAPITRE I : ÉTAT DE L'ART	5
I. LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES (ETM)	5
II. LA (BIO)SURVEILLANCE DES ETM DANS LES MILIEUX AQUATIQUES	8
2.1. <i>Surveillance des ETM dans l'eau</i>	9
2.2. <i>Biosurveillance des ETM</i>	11
III. BIOACCUMULATION ET DEVENIR DES ETM CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES	14
3.1. <i>Absorption /Assimilation</i>	15
3.1.1. Voie dissoute	15
3.1.2. Voie trophique	16
3.1.3. Internalisation/accumulation	17

3.2. Élimination.....	18
3.3. Paramètres influençant la bioaccumulation des ETM.....	19
3.3.1. Facteurs abiotiques.....	19
3.3.2. Facteurs biotiques	21
3.4. Distribution, organotropisme et rôle des organes dans le devenir des ETM.....	22
IV. LA MODELISATION TOXICO-CINETIQUE (TK) POUR COMPRENDRE LA BIOACCUMULATION ET LE DEVENIR DES ETM CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES	25
4.1. Principes et généralités concernant les modèles TK.....	26
4.1.1. Modèles TK mono-compartiment.....	29
4.1.2. Modèles TK multi-compartiments	31
4.2. Inférence Bayésienne	33
V. GAMMARUS FOSSARUM, UNE ESPECE SENTINELLE DES MILIEUX D'EAU DOUCE.....	37
5.1. Écologie et caractéristiques biologiques	37
5.2. Intérêt/Utilisation en écotoxicologie.....	45
CHAPITRE II : COMPLEMENTS DE MATERIEL & METHODES	51
I. LE CHOIX DE L'EAU	51
II. QU'EST-CE QU'UN RADIOISOTOPE A EMISSION GAMMA ET POURQUOI LES UTILISER EN ECOTOXICOLOGIE ?.....	53
III. POURQUOI NOUS AVONS PREALABLEMENT EFFECTUE UNE EXPERIMENTATION AVEC DU STABLE.....	57
IV. À LA RECHERCHE DE L'ARGENT PERDU	60
CHAPITRE III : LA MODELISATION TOXICO-CINETIQUE (TK) MONO- ET MULTI-COMPARTIMENTS DU CD, PREUVE DE CONCEPT CHEZ LE GAMMARE.....	63
PREAMBULE	63
Article n°1	64
Résumé illustré.....	64
Faits marquants	64
Résumé de l'article, en français	65
Mots-clés.....	65
Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »	75
Conclusion.....	87
CHAPITRE IV : ORGANOTROPISME, TOXICO-CINETIQUE ET DEVENIR DES METAUX CHEZ LE GAMMARE EXPOSE A DES CONCENTRATIONS ENVIRONNEMENTALES PAR VOIE DISSOUTE : INFLUENCE DU CARACTERE ESSENTIEL OU NON DU METAL ET EFFET DE LA CONCENTRATION D'EXPOSITION	89
PREAMBULE	89
I. INFLUENCE DU CARACTERE ESSENTIEL OU NON D'UN METAL SUR LA CAPACITE DE BIOACCUMULATION DES ORGANES, LEURS TOXICO-CINETIQUES ET LE DEVENIR DES METAUX CHEZ LE GAMMARE : EXEMPLES DU Cd ET DU Zn	92
Article n°2	92
Résumé illustré.....	92

<i>Faits marquants</i>	92
<i>Résumé de l'article, en français</i>	92
<i>Mots-clés</i>	93
<i>Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »</i>	113
<i>Conclusion de l'article</i>	129
II. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION D'EXPOSITION DE Cd SUR SON ORGANOTROPISME ET SON DEVENIR DANS LE GAMMARE ..	130
<i>Article n°3</i>	130
<i>Résumé illustré</i>	130
<i>Faits marquants</i>	130
<i>Résumé de l'article, en français</i>	130
<i>Mots-clés</i>	131
<i>Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »</i>	143
<i>Références</i>	Erreur ! Signet non défini.
<i>Conclusion de l'article</i>	165
CHAPITRE V : ORGANOTROPISME, TOXICO-CINETIQUE ET DEVENIR DU Cd APRES UNE EXPOSITION PAR LA VOIE TROPHIQUE, CHEZ LE GAMMARE	167
PREAMBULE	167
I. ESTIMATION DE L'EFFICACITE D'ASSIMILATION DU Cd CHEZ G. FOSSARUM.....	168
II. INFLUENCE DE L'ACCUMULATION DU Cd PAR LA VOIE TROPHIQUE SUR SON ORGANOTROPISME, SA TOXICO-CINETIQUE ET SON DEVENIR CHEZ LE GAMMARE	171
<i>Article n°5</i>	171
<i>Résumé illustré</i>	171
<i>Faits marquants</i>	171
<i>Résumé de l'article, en français</i>	171
<i>Mots-clés</i>	172
<i>Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »</i>	193
<i>Références</i>	201
<i>Conclusion de l'article</i>	209
CHAPITRE VI : DISCUSSION GENERALE & PERSPECTIVES	211
I. « ALL MODELS ARE WRONG, BUT SOME ARE USEFUL » (GEORGES BOX, 1976)	213
II. ORGANOTROPISME, TOXICO-CINETIQUE ET DEVENIR DES METAUX CHEZ G. FOSSARUM	216
III. SORTIES MAJEURES DE CES TRAVAUX.....	223
IV. PERSPECTIVES	224
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	229
RESUME	262
<i>Mots-clés</i>	262



Liste des Abréviations, Symboles chimiques & formules des molécules

Abréviations

ADME	Assimilation/Absorption, Distribution, Métabolisation/Méthylation et Élimination
ADN (ou DNA)	Acide désoxyribonucléique
AE	Efficacité d'assimilation
BCF	Facteur de bioconcentration
BLM	Biotic Ligand Models
BMF	Facteur de biomagnification
Bq	Becquerel
BUGS	Inférence bayésienne utilisant l'échantillonnage de Gibbs (Bayesian inference Using Gibbs Sampling)
C_f	Concentration dans la nourriture
C_i	Concentration dans l'organe i
CL50	Concentration létale provoquant une mortalité égale à 50% des individus à un temps donné
CRM	Matériel certifié de référence (Certified Reference Material)
C_w	Concentration dans l'eau
DCE (ou WFD)	Directive Cadre sur l'Eau (Water Framework Directive)
DEBtox	Budget énergétique dynamique appliqué à l'(éco)toxicologie (Dynamic Energy Budget applied to (eco)toxicology)
DEBkiss	Budget énergétique dynamique : faites simple, c'est stupide ! (Dynamic Energy Budget « Keep It Simple, Stupid »)
DGT	Gradient de diffusion dans une couche mince (Diffusive Gradient in Thin film)
DIC	Critère d'information sur la déviance (Deviance Information Criterion)
ERE	Évaluation du Risque Environnemental
ETM	Élément Trace Métallique
FDA	Agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration)
GRS	Spectromètre à Rayon Gamma
GUTS	Modèle général unifié de survie (General Unified Threshold model of Survival)
ICP-TQ-MS	Torche à Plasma couplé à un Spectromètre de Masse
IR	Taux d'ingestion (Ingestion Rate)
JAGS	Juste un autre échantillonnage de Gibbs (Just Another Gibbs Sampler)
k_e	Taux d'élimination
k_{el}	Taux d'élimination à long-terme
k_{es}	Taux d'élimination à court-terme
k_f	Taux d'accumulation par la nourriture
k_{ij}	Taux de transfert de l'organe i à l'organe j

k_{ji}	Taux de transfert de l'organe j à l'organe i
k_u	Taux d'accumulation par l'eau
LEMA	Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques
LOQ	Limite de quantification (Limit Of Quantification)
MCMC	Méthode de Monte-Carlo par chaînes de Markov (Markov Chain Monte Carlo)
MOD	Matière Organique Dissoute
MRGs	Granules riches en métaux (Metal-Rich Granules)
MT	Métallothionéines (Metallothionein)
Na^+/K^+ ATPase	Pompe sodium-potassium
NaI	Iodure de sodium
NQE-CMA	Normes de Qualité Environnementales - Concentration Moyenne Admissible
NQE-MA	Normes de Qualité Environnementales - Moyenne Annuelle
NQE (ou EQS)	Normes de Qualité Environnementales (Environmental Quality Standards)
NQE_{eau}	Normes de Qualité Environnementales dans la matrice eau
NQE_{sed}	Normes de Qualité Environnementales dans la matrice sédiment
ODE	Équation différentielle ordinaire (Ordinary Differential Equations)
PBPK	Pharmaco-cinétique basée sur la physiologie (Physiologically Based Pharmacokinetic)
PBTK	Toxico-cinétique basée sur la physiologie (Physiologically Based Toxicokinetic)
PH (ou dw)	Poids Humide (Dry Weight)
PS (ou ww)	Poids Sec (Wet Weight)
RINBIO	Réseau INtégrateurs BIOlogiques
ROCCH	Réseau d'Observation de la Contamination CHimique du littoral
ROS	Espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species)
t_c	Durée de la phase d'accumulation (en jours)
TD	Toxico-dynamique (Toxico-Dynamic)
TK	Toxico-cinétique (Toxico-Kinetic)
TKTD	Toxico-cinétique toxico-dynamique (Toxico-Kinetic Toxico-Dynamic)

Symboles chimiques & formules des molécules

$^{110\text{m}}\text{Ag}$	Radio-isotope de l'argent
Ag	Argent
Al	Aluminium
As	Arsenic
Au	Or
Ba	Baryum
Ca^{2+}	Ions calciques
^{109}Cd	Radio-isotope du cadmium
Cd	Cadmium
CdCl_2	Chlorure de cadmium

CdSO_4	Sulfate de cadmium
CdTe	Tellure de cadmium
Co	Cobalt
Cr	Chrome
Cs	Césium
Cu	Cuivre
Fe	Fer
H_2O	Eau
HCl	Acide chlorhydrique
Hg	Mercure
HNO_3	Acide nitrique
Li	Lithium
MeHg	Méthylmercure
Mn	Manganèse
NaI	Iodure de sodium
Ni	Nickel
O_2	Dioxygène
Pb	Plomb
Rb	Rubidium
Se	Sélénium
Sn	Étain
Sr	Strontium
Ti	Titane
Tl	Thallium
U	Uranium
V	Vanadium
^{65}Zn	Radio-isotope du zinc
Zn	Zinc
ZnCl_2	Chlorure de zinc
ZnSO_4	Sulfate de zinc

Liste des Figures

- Figure I-1. Illustration de l'effet des métaux sur un trait physiologique de l'organisme en fonction de leur concentration dans l'eau, selon qu'ils soient essentiels (à gauche) ou non-essentiels (à droite) pour l'organisme. 7
- Figure I-2. Illustration chronologique des différentes réglementations mises en place dans la protection de l'eau et des milieux aquatiques. Source : <https://www.eaufrance.fr/vers-le-bon-etat-des-milieux-aquatiques>. 8
- Figure I-3. Illustration de la concentration en Cd (a) et en Zn (b) des différents cours d'eau de l'ouest de l'Europe. Une échelle de couleur allant du bleu foncé au rose indique les cours d'eau des moins aux plus concentrés en métal. Source : http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/maps_table.php. 10
- Figure I-4. Illustration de la bioaccumulation au cours du temps. 14
- Figure I-5. Illustration des 4 grandes étapes du processus ADME (Assimilation/Absorption, Distribution, Métabolisation/Méthylation et Élimination) d'un ETM. 14
- Figure I-6. Schématisation des deux parties composant les modèles TKTD, permettant *in fine* de relier la concentration d'un contaminant dans le milieu aux effets observés, au cours du temps. Les parties TK (toxico-cinétique) et TD (toxico-dynamique) sont elles-mêmes des catégories de concepts de modèles. 25
- Figure I-7. Illustration d'un modèle TK un-compartiment (à gauche) et exemple d'une possibilité de modèle TK multi-compartiments prenant en compte les échanges entre deux compartiments (à droite). 27
- Figure I-8. Illustration des différentes phases mises généralement en place lors des expérimentations visant à étudier la bioaccumulation, et les processus biologiques impliqués. 28
- Figure I-9. Illustration du principe global de l'inférence Bayésienne. À partir de données expérimentales, du modèle (EDO déterministes et partie stochastique) et des informations *a priori*, sont obtenues une distribution jointe *a posteriori* des paramètres. Cette distribution jointe permet : i) de simuler le modèle et de superposer ses prédictions aux données ; ii) de définir la distribution *a posteriori* marginale pour chacun des paramètres, qui peut être superposée au prior pour visualiser le gain de précision apportée par les données. Source : (Ratier, 2019). 35
- Figure I-10. Répartition géographique de l'espèce *G. fossarum* à travers l'Europe, délimitée par les lignes en pointillés sur l'Europe continentale et l'Angleterre. Les pays sont nommés selon leurs codes ISO conventionnels et les points représentent les sites d'échantillonnage présentés dans l'étude de laquelle la carte est issue (Wattier et al., 2020). 38
- Figure I-11. Représentation schématique de la diversité morphologique des amphipodes phylogénétiquement proches de l'espèce *Gammarus fossarum*, dont trois autres espèces du genre *Gammarus*. Source : « New amphipod species discovered » (eawag.ch). 39
- Figure I-12. Organisation schématique générale d'un individu appartenant à l'espèce *Gammarus fossarum*. Les lettres situées sur le dernier péréiopode représentent les différents segments d'un péréiopode, avec du haut vers le bas : co pour coxopodite (coxa), b pour basipodite (basis), i pour ischiopodite (ischium), m pour méropodite (mérus), ca pour carpodite (carpe), p pour propodite (propode) et d pour dactylopodite (dactyle). Modifiée d'après le schéma de Vincent VALLI (galerie-insecte.org). 40

Figure I-13. Aperçu de l'anatomie interne d'organisme du genre <i>Gammarus</i> , avec : (a) schématisation d'une coupe longitudinale ; et (b) schématisation d'une coupe transversale de gammare, avec T : le tergite du péréion ; h : le cœur ; mu : les muscles ; go : les gonades ; mg : l'intestin moyen ; dg : les caeca ; nc : les cordons nerveux ; S : la plaque sternale ; LCP les plaques coxales ; et G : les branchies. Source : modifiée d'après « Amphipods » (reefkeeping.com) et Trevisan et al. (2014).	42
Figure I-14. Schématisation de la coupe longitudinale d'un caecum, montrant l'organisation des différents types de cellules épithéliales de la partie proximale du caecum (connectée à l'intestin) à sa partie distale. Source : manuscrit de thèse de Charron (2014).	44
Figure I-15. Photographie de branchies fraîchement prélevées sur un gammare de l'espèce <i>G. fossarum</i> . Source : photographie personnelle.	45
Figure II-1. Système initial de stabulation des gammares mis en place en circuit ouvert.	51
Figure II-2. Gammares morts présentant un noircissement progressif de leur corps.	52
Figure II-3. Système de stabulation des gammares installés au LIENSs dans des seaux placés dans un bain d'eau thermostatée à 12°C.	53
Figure II-4. Schématisation d'une coupe longitudinale d'un détecteur de rayonnements gamma, composé : 1) d'un scintillateur en cristal de NaI(Tl) ; 2) d'une photocathode ; et 3) d'un tube photomultiplicateur.	55
Figure II-5. Spectre d'émission d'un échantillon contenant du ^{109}Cd , montrant un pic d'émission à 88 keV.	56
Figure II-6. Photographies du dispositif mis en place lors du changement d'eau des béciers (à gauche) et du dispositif expérimental (à droite).	57
Figure II-7. Photographies des dispositifs pilotes testés pour séparer les gammares, montrant l'individualisation des organismes par système de tubes percés (à gauche) ou de paniers en tulle (à droite).	58
Figure II-8. Photographie d'un dispositif de paniers comprenant 8 compartiments d'individualisation.	59
Figure II-9. Photographie du processus manuel de fabrication des paniers d'individualisation des gammares.	59
Résumé illustré de l'article n°1 « One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals organotopism and fate in <i>Gammarus fossarum</i> »	64
Figure III-1. General scheme of the multi- compartments model. The large grey outer border represents the medium surrounding the organism, here water, the white box represents the organism and inside it the organs of interest (cecum, cephalon, intestine, and remaining tissues), associated with their respective concentrations C_i ($i = 1$ for intestine, $i = 2$ for caecum, $i = 3$ for cephalon and $i = 4$ for remaining tissues). The different arrows represent the rates of uptake ($k_{u,i}$) and elimination ($k_{e,i}$) of contaminant between water and the organ i , and k_{ij} represents the flux from the organ i to the organ j . All the solid and dotted arrows form the complete model firstly tested (Eqs. (S3) to (S10)). Dotted arrows were successively fixed to	69

zero to obtain, at the end, the “best” multi-compartments model consisting of arrows in solid line only.

Figure III-2. Measured (dots) and predicted (solid and dashed) Cd concentrations with the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) for a) intestines; b) caeca; c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$, during the uptake (days 0-7) and depuration (days 7-21) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d. 70

Figure III-3. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Cd concentrations with the multi-compartments model (Eqs. (4) and (5)) in a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$, during the uptake (days 0-7) and depuration (days 7-21) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d. 72

Figure III-S1. Experimental plan, where $t_{\text{initial}}=0$ is the beginning of the experiment, t_{a1} and t_{a2} are sampling timesteps during the accumulation phase, t_c is the duration of the accumulation phases ($t_c = 4$ days for Hg and 7 days for Cd), t_{e1} , t_{e2} and t_{e3} are sampling timesteps during the depuration phase and t_{final} is the total duration of the experiment ($t_{\text{final}} = 24$ days for Hg and 21 days for Cd). 76

Figure III-S2. Dissection steps. A) cephalon separation from the rest of the body B) thorax and abdomen separation from urosome C) caeca separation from the intestine D) separation between urosome and intestine. 1 = cephalon, 2 = abdomen + thorax, 3 = caeca, 4 = intestine, 5 = urosome, 2 + 5 = remaining. 77

Figure III-S3. Representation of prior (dark grey) and posterior (light grey) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) fitted to each organ data: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons and last line with j), k) and l) for remaining tissues. 82

Figure III-S4. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Hg concentrations with the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) for a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues, during the uptake (days 0-4) and depuration (days 4-24) phases (separated with the black dotted vertical line) for the nominal concentrations of $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g.L}^{-1}$. 84

Figure III-S5. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Hg concentrations with the multi-compartments model (Figure 1 and Table S4) in a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g.L}^{-1}$, during the uptake (days 0-4) and depuration (days 4-24) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d. 86

Résumé illustré de l'article n°2 « Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations » 92

Figure IV-1. Measured (diamonds for Cd; dots for Zn) and predicted (solid line for the median and dashed lines for the 95% credible interval) concentrations of metals with the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) for a) and b) intestines; c) and d) caeca; e) and f) cephalons; g) and h) remaining tissues; and i) and j) gills of gammarids exposed to $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ of Cd (left column in orange) and $416 \pm 264 \text{ ng.L}^{-1}$ of Zn (right column in blue) during the uptake phase (days 0-7) followed by a depuration phase (days 7-28). These two phases are separated by the black dotted vertical line. Please note that the y-scale differs between the plots. 103

Figure IV-2. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens (Figure a. for Cd and b. for Zn) per organ (gills, caeca, cephalons, intestines, and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) for accumulation (days 0–7) and depuration phases (days 8–28). 105

Figure IV-S1. Main parts of the experimental plan. a) Global experimental plan, where $t_{\text{initial}}=0$ is the beginning of the experiment, t_{a1} and t_{a2} are sampling timesteps during the accumulation phase, t_c is the duration of the accumulation phases ($t_c = 7$ days), t_{e1} , t_{e2} and t_{e3} are sampling timesteps during the depuration phase and t_{final} is the total duration of the experiment ($t_{\text{final}} = 28$ days). During the accumulation phase, there will be no food placed. Moreover, the individualized exposure avoids inter-individual cannibalism; b) For water renewal, the baskets were placed in another « transition » beaker and the contaminated water was thrown. To begin, 100 mL of uncontaminated Évian® water was poured into the beaker, then 20 µL of ^{109}Cd or ^{65}Zn D1 solution followed by another 100 mL of uncontaminated Evian water. The basket containing the gammarus was then repositioned in the beaker that had just been prepared. The operation was repeated for each beaker, every 2 days; and c) Monitoring of ^{109}Cd and ^{65}Zn concentrations in real time. To compensate the loss of ^{109}Cd or ^{65}Zn , due to ad- and uptake, and thus keep the exposure concentration as constant as possible, the activity concentration in water was monitored twice a day (Tables S4 and S5). Around every 0.5 days after the last « new spike » (abbreviated NS), 5 samples of 10 mL of water were taken in 5 different beakers for gamma-counting, called « end spike » (abbreviated ES). To control and readjust the contamination pressure, the difference between the theoretical concentration and the average of the measured concentrations at ES, was added in each beaker. The volume of D1 required was calculated according to Eq. (S1): where $V_{NS}(x+1)$ is the volume of D1 solution to be added to the beaker for the $x+1^{\text{th}}$ spike; CR_I is the nominal concentration to be reached (i.e. 15 Bq.mL^{-1}); $CR_{ES}(x)$ is the concentration measured at the end of the x^{th} spike (just before the $x+1^{\text{th}}$ spike); and V_{max} is the maximum volume that can be spiked to reach the CR_I (i.e. $V_{\text{max}} = 0.02 \text{ mL}$). 114

Figure IV-S2. Dissection steps. A) separation of the cephalon from the rest of the organism; B) separation of the thorax and the abdomen from the urosome; C) separation of the caeca from the intestine; D) separation between the urosome and the intestine; and E) separation of the gills from the thorax and abdomen. To recover the organs of interest, with: 1 = cephalon, 2 = caeca, 3 = intestine, 4 = abdomen + thorax, 5 = urosome (4 + 5 = remaining tissues) and 6 = gills. 115

Figure IV-S3. Representation of prior (dark grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Cd data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m) and n) for gills. 121

Figure IV-S4. Representation of prior (dark grey) and posterior (blue) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Zn data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m), n) and o) for gills. 122

Résumé illustré de l'article n°3 « Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxico-kinetic and fate in *Gammarus fossarum* » 130

Figure IV-1. Comparison on the 7th day (i.e. end of the accumulation phase) of the amounts of Cd measured in the pools ($n=4$) of each organ according to the exposure concentration, expressed as: a) bioconcentration factors; and b) relative proportion of Cd compared to the total amount of Cd measured for all the organs of the same pool. 136

Figure IV-2. Final pattern of the best multi-compartment models selected for the three concentrations of exposure. The blue background corresponds to water surrounding the gammarid, the brown pentagon corresponds to the whole organism and the yellow boxes inside correspond to the organs. The parameters $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ linked to the different arrows correspond, respectively, to the rates of uptake and elimination of Cd between water and the organ i , while the flow from an organ i to an organ j is symbolized by the parameters k_{ij} . 138

Figure IV-3. Concentrations of Cd predicted (95% credible interval in dashed lines and median in solid line) with the multi-compartment TK model (Eqs. (S13) to (S22)) and measured (diamonds, dots and crosses) for a), b) and c) intestines; d), e) and f) caeca; g), h) and i) cephalons; j), k) and l) remaining tissues; and m), n) and o) gills of gammarids exposed to $4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$ (left column in purple), $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ (middle column in green) and $350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$ (right column in brown) of Cd during the 7-day accumulation phase followed by a 21-day depuration phase. The dotted black vertical line separates these two phases. The y-scales of the plots may differ from one organ and/or concentration to another. 139

Figure IV-S1. General complete scheme of the multi-compartments model. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the orange pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated with their respective concentrations C_i ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills). The different arrows with the parameters $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ correspond, respectively, to the rates of uptake and elimination of Cd between water and the organ i , and the parameters k_{ij} symbolize the flow from the organ i to the organ j . 152

Figure IV-S2. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens per organ (gills, caeca, cephalons, intestines and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) for accumulation (days 0-7) and depuration phases (days 8-28). a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L^{-1}); and b) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L^{-1}). 154

Figure IV-S3. Representation of prior (grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Cd data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m) and n) for gills. a) For $k_{u,i}$; b) for $k_{e,i}$; and c) for σ_i . 155

Figure IV-S4. Measured (diamonds) and predicted (solid line for the median and dashed lines for the 95% credible interval) concentrations of metals with the one-compartment model (Eqs. (1), (2) and (S1) to (S12)) for a), b) and c) intestines; d), e) and f) caeca; g), h) and i) cephalons; j), k) and l) remaining tissues; and m), n) and o) gills of gammarids exposed to $4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$ (left column in purple), $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ (middle column in green) and $350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$ (right column in brown) of Cd during the uptake phase (days 0-7) followed by a depuration phase (days 7-28). These two phases are separated with the black dotted vertical line. Please note that the y-scale differs between the plots. 158

Figure IV-S5. Representation of prior (dark grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the multi-compartment model (Eqs. (3) and (4)) fitted to each organ for Cd data set with: a), b) and c) for $k_{u,1}$; d) e) and f) for $k_{e,1}$; g), h) and i) for $k_{u,5}$; j), k) and l) for k_{12} ; m) and n) for k_{21} ; o), p) and q) for k_{13} ; r), s) and t) for k_{31} ; u), v) and w) for k_{14} ; x), y) and z) for k_{41} ; aa) ab) and ac) for k_{35} ; ad), ae) and af) for k_{53} ; ag), ah) and aj) for k_{45} ; ak), al) and am) for k_{54} ; an), ao) and ap) for σ_1 ; aq), ar) and as) for σ_2 ; at), au) and av) for σ_3 ; aw), ax) and ay) for σ_4 ; and az), ba) and bb) for σ_5 . 161

Figure V-1. Illustration des différentes étapes des expérimentations effectuées par pulse-chase-feeding, afin de déterminer l'efficacité d'assimilation et les taux d'élimination du cadmium chez *Gammarus fossarum*. 169

Figure V-2. Graphique représentant les pourcentages de ^{109}Cd restant dans les gammarus (%) en fonction du temps écoulé en heures. Les losanges représentent les données obtenues par la mise en place du dispositif de pulse-chase-feeding et la courbe verte représente la médiane prédite par le modèle (Eq. 1). Le tableau en haut à droite du graphique indique les valeurs estimées des paramètres k_{es} , AE et k_{el} , mais également leur écart-type et les valeurs bornant l'intervalle de confiance à 95% (IC 2,5 et IC 97,5%) de chaque paramètre. 170

Résumé illustré de l'article n°5 « Bioaccumulation, organotropism and fate of cadmium in *Gammarus fossarum* exposed through dietary pathway » 171

Figure V-1. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens per organ (gills, caeca, cephalons, intestines and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) during accumulation (days 0-6) and depuration phases (days 8-18) These two phases are separated with the black dotted vertical line. 183

Figure V-2. Measured (diamonds) and predicted, with the final multi-compartments TK model, (Eqs. (S1) to (S10)) (95% credible interval in dashed lines and median in solid line) concentrations of Cd in a) intestines, b) caeca, c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to ^{109}Cd contaminated alder leaves during the accumulation phase (6 days) followed by a depuration phase (12 day). The black dotted vertical line separates the two phases. The y-scales of the plots may differ between the graph a) b) and c) d). 184

Figure V-3. Final pattern of the best multi-compartments models selected. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the nibbled black circle on the right represents a nibbled disc of alder leave (food) contaminated by ^{109}Cd , the beige pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated. The parameters $k_{u,1}$ and $k_{e,1}$ associated to the different arrows correspond, respectively, to the rates of uptake from food to intestines and the rate of elimination of Cd from intestines to water, while the flow from an organ i to an organ j is symbolized by the parameters k_{ij} . 186

Figure V-S1. General complete scheme of the trophic multi-compartments TK model. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the nibbled black circle on the right represent a nibbled disc of alder leave (food) contaminated by ^{109}Cd , the beige pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated with their respective concentrations C_i ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills). The different arrows with the parameters $k_{e,i}$ correspond to the rates of elimination of Cd from the organ i to the water, the parameters k_{ji} symbolize the flow of Cd from the organ j to the organ i , the parameters k_{ij} symbolize the flow of Cd from the organ i to the organ j . 197

Figure V-S2. Representation of prior (grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the most parsimonious multi-compartment model (Eqs. (5) to (7)) fitted to each organ. 198

Figure V-S3. Measured (dots) and predicted (red line) values of ingestion rate ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) of gammarids, during the exposure phase, from alder leaves discs contaminated by ^{109}Cd . 200

Figure VI-1. Comparaison à J7 (fin de la phase d'accumulation) des concentrations de Cd mesurées dans les pools de chaque organe en fonction de la concentration d'exposition. Les données représentées par des ronds gris correspondent aux BCF des concentrations 219

d'exposition de 4, 52 et 350 ng.L⁻¹ (présentées dans le Chapitre IV). Les données représentées par les croix mauves correspondent aux BCF calculés pour la concentration d'exposition de 11 000 ng.L⁻¹ de Cd.

Figure VI-2. Concentrations mesurées (losanges) et prédites (intervalle crédible à 95% en pointillés et médiane en trait plein), à l'aide du modèle TK multi-compartiments final (Eqs (S1) à (S10) Chapitre V, modifiées avec « $AE \cdot IR = k_f$ ») de Cd dans a) les intestins, b) les caeca, c) les céphalons et d) les tissus restants des gammarus exposés à des feuilles d'aulne contaminées au ¹⁰⁹Cd pendant la phase d'accumulation (6 jours), suivie d'une phase de dépuraction (12 jours) avec de la nourriture non contaminée. La ligne verticale en pointillés noires sépare les deux phases. Les échelles des axes y des graphiques diffèrent entre les graphiques a) b) et c) d). 221

Figure VI-3. Comparaison de deux ajustements de modèles TK à un-compartiment aux données de concentration en Cd obtenues après accumulation par la voie trophique au niveau de l'organisme entier. Cette représentation comprend une phase d'accumulation (jour 0 à 6) suivie d'une phase de dépuraction (jour 6 à 18), séparées par la ligne verticale en pointillés noires. Les losanges représentent les concentrations de Cd pour l'organisme entier recalculées à partir des concentrations en Cd des organes analysés (Chapitre V). La ligne continue pour la médiane et les lignes en pointillés pour l'intervalle de crédibilité à 95% représentent les concentrations en Cd prédites avec un modèle TK mono-compartiment, avec en a) un taux d'accumulation par voie trophique k_f et en b) les paramètres $AE \cdot IR$ ont remplacé le k_f . 222

Liste des Tableaux

Tableau I-1. Synthèse des données existantes dans la littérature concernant la distribution du Cd et du Zn dans les tissus de différents organismes aquatiques indiquant la voie d'exposition lorsque les organismes ont été exposés en laboratoire.	24
Tableau I-2. Vue globale de l'utilisation des espèces du genre <i>Gammarus</i> dans l'étude de la bioaccumulation des métaux, précisant l'échelle à laquelle les études ont été menées.	48
Tableau I-3. Vue globale de l'utilisation des espèces <i>Gammarus fossarum</i> et <i>G. pulex</i> dans la mise en place de modèles cinétiques d'accumulation des métaux.	49
Tableau II-1. Spéciation du ^{110m}Ag dans les différents compartiments des milieux dulçaquicoles, proportion relative de chaque compartiment et facteurs abiotiques régissant la spéciation, modifié d'après (Garnier-laplace, 1990).	61
Tableau III-1. Parameters estimates of the TK one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) fitted separately to each organ of <i>Gammarus fossarum</i> exposed to dissolved Cd and Hg for 7 and 4 days, respectively, before being placed for 14 and 20 days, respectively, in depuration conditions.	69
Tableau III-S1. Characteristics of waters used for the experiments: well water for accumulation phases of Cd and Hg and for the depuration phase of Hg and Évian® for the depuration phase of Cd.	75
Tableau III-S2. Measured cadmium (Cd) and mercury (Hg) concentrations in spiked well waters during the 4 and 7 days of exposure, respectively.	79
Tableau III-S3. Measured cadmium concentrations in gammarids sampled for dissections ($\mu\text{g Cd.g gammarids dw}^{-1}$) and weights of these analyzed samples (in grey), estimated for each organ (mg) from the total weights weighed.	80
Tableau III-S4. Measured mercury concentrations in gammarids sampled for dissections ($\mu\text{g Hg.g gammarids dw}^{-1}$) and weights of these analyzed samples (in grey), estimated for each organ (mg) from the total weights weighed.	81
Tableau III-S5. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i}/k_{e,i}$, $k_{u,i}/\sigma_i$ and $k_{e,i}/\sigma_i$ ($i=1$ for intestine, $i=2$ for caecum, $i=3$ for cephalon and $i=4$ for remaining tissues) estimated by one compartment models for $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$ or $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g Hg.L}^{-1}$.	83
Tableau III-S6. Parameters of the TK multi-compartments model (Figure 1) fitted to Hg and Cd data in all organs simultaneously: priors, median and 95% credibility intervals. The parameters $k_{u,2}$, $k_{e,2}$, $k_{u,3}$, $k_{e,3}$, $k_{u,4}$, $k_{e,4}$, k_{23} , k_{24} , k_{32} , k_{34} , k_{42} and k_{43} are fixed to 0.	85
Tableau IV-1. Parameter estimates of the TK one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted separately to each organ of <i>Gammarus fossarum</i> exposed to dissolved Cd and Zn for 7 days before being placed in depuration conditions for 21 days.	104
Tableau IV-S1. Characteristics of the Évian® water used for the experiments.	113
Tableau IV-S2. Measured concentrations of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq.mL^{-1}) and calculated concentrations of Cd in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L^{-1}) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{109}Cd in waters during the 7 days of exposure.	116

Tableau IV-S3. Measured concentrations of ^{65}Zn (Mean $\pm$ SD; Bq.mL $^{-1}$) and calculated concentrations of Zn in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L $^{-1}$) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{65}Zn in waters during the 7 days of exposure. 117

Tableau IV-S4. Data sets of Cd, with for each organ: $n = 5$, except for the last sampling time (day 28) where $n = 4$. a) Measured quantities of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; b) weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and c) concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Cd.g organ in dry weight}^{-1}$). 118

Tableau IV-S5. Data sets of Zn, with for each organ: $n = 5$, except for the last sampling time (day 28) where $n = 6$. a) Measured quantities of ^{65}Zn (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; b) weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and c) concentrations of Zn in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Zn.g organ in dry weight}^{-1}$). 119

Tableau IV-S6. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i}/k_{e,i}$, $k_{u,i}/\sigma_i$ and $k_{e,i}/\sigma_i$ ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) estimated by one compartment models for $52.1 \pm 27.3 \text{ ng Cd.L}^{-1}$ or $416 \pm 264 \text{ ng Zn.L}^{-1}$. 123

Tableau IV-1. Summary of the selected one-compartment TK sub-models for each organ, according to whether or not the concentration depends on the accumulation and/or depuration rates (i.e. k_u and k_e parameters). The selection of the most parsimonious sub-model was made after fitting the different sub-models (Table S4) to the data of each organ separately but simultaneously among the three exposure concentrations tested. 137

Tableau IV-2. Estimated parameters of the selected nested one-compartment TK models (Eqs. (1) and (2)) for each organ of gammarids exposed to dissolved Cd in a 7-day accumulation phase followed by a 21-day depuration phase. 137

Tableau IV-S1. Characteristics of waters Évian® used for the experiments. 143

Tableau IV-S2. Measured concentrations of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq.mL $^{-1}$) and calculated concentrations of Cd in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L $^{-1}$) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{109}Cd in waters during the 7 days of exposure. a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L $^{-1}$); b) for the intermediate concentration tested (i.e. 52.1 ng.L $^{-1}$); and c) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L $^{-1}$). 144

Tableau IV-S3. Data sets of Cd. the measured quantities of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; the weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and the concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Cd.g organ in dry weight}^{-1}$). a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L $^{-1}$); b) for the intermediate concentration tested (i.e. 52.1 ng.L $^{-1}$); and c) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L $^{-1}$). 147

Tableau IV-S4. Summary of all the one-compartment TK sub-models tested for each organ, the values of DIC obtained for each sub-model and the sub-model retained for each organ. 150

Tableau IV-S5. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i,k}/k_{e,i}$, $k_{u,i,k}/\sigma_{i,k}$ and $k_{e,i}/\sigma_{i,k}$ ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) estimated by one compartment models, for $52.1 \pm 27.3 \text{ ng Cd.L}^{-1}$ or $416 \pm 264 \text{ ng Zn.L}^{-1}$. 159

Tableau IV-S6. Parameters estimates of the TK multi-compartment model (Eqs. (S13) to (S22)) fitted simultaneously to all the organs of *Gammarus fossarum* exposed to dissolved Cd 7 days before being placed for 21 days in depuration conditions. The parameters $k_{u,2}$, $k_{e,2}$, $k_{u,3}$, $k_{e,3}$, $k_{u,4}$, $k_{e,4}$, $k_{e,5}$, $k_{1,5}$, $k_{2,3}$, $k_{2,4}$, $k_{2,5}$, $k_{3,2}$, $k_{3,4}$, $k_{4,2}$, $k_{4,3}$, $k_{5,1}$ and $k_{5,2}$ are fixed to 0. 160

Tableau V-1. Estimated parameters of the most parsimonious multi-compartments TK model selected (Eqs. (5) to (7)) for each organ of gammarids exposed in a 6-day accumulation phase to dietary Cd, followed by a 12-day depuration phase.	185
Tableau V-S1. Characteristics of waters Évian® used for the experiments.	193
Tableau V-S2. Data sets of Cd accumulated in gammarids organs in function of the day of sampling, showing the measured quantities of ¹⁰⁹ Cd (Mean ± SD; Bq) in organs of gammarids; the estimated weight of the gammarids organs sampled from dissections (Mean ± SD; mg dry weight ⁻¹) from the total weights weighed; and the concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean ± SD; µg Cd.g organ in dry weight ⁻¹).	194
Tableau V-S3. Ingestion rate of gammarids, sampled during the accumulation phase, calculated from the surface of leaves eaten by gammarids relative to their weight.	195
Tableau VI-1. Résumé de toutes les données présentées dans les différents chapitres de ce manuscrit, reprenant : le métal utilisé (cadmium, mercure ou zinc) ; les concentrations d'exposition ; la voie par laquelle les gammarides ont été exposés (dissoute ou trophique) ; le temps de chaque expérimentation découpé en temps dédiés pour la phase d'accumulation et pour la phase de dépuración ; les matrices dans lesquelles ont été mesurées les concentrations en métal ; les organes dans lesquels ont été mesurées les concentrations internes ; les approches utilisées pour exploiter les données ; et les paramètres estimés lors de la mise en place des différents modèles mathématiques, avec $k_{u,i}$ le taux d'accumulation à partir de l'eau de l'organe i, $k_{e,i}$ le taux d'élimination de l'organe i, k_{ij} le taux de transfert de l'organe i vers l'organe j, k_{ji} le taux de transfert de l'organe j vers l'organe i, σ_i écart-type de la partie stochastique gaussienne associée à l'organe i, AE l'efficacité d'assimilation, k_{es} le taux d'élimination à court terme, k_{el} le taux d'élimination à long terme, IR0 la valeur du taux d'ingestion à t=0 et b la pente de la droite qui estime le taux d'ingestion au cours du temps.	212

“Water, taken in moderation, cannot hurt anybody”
Mark Twain

Introduction

Contexte

Les Éléments Traces Métalliques (ETM), ou métaux, peuvent être retrouvés dans les environnements suite à une contamination naturelle et/ou anthropique (Bertrand et al., 2019; Dendievel et al., 2022; Gouveia et al., 2019; Lanctôt et al., 2017; O'Callaghan et al., 2019; Pery, 2008; Scheibener et al., 2021; Yin et al., 2015; Zhang et Reynolds, 2019). Ces ETM sont ensuite transportés, par des phénomènes de ruissellement, vers les milieux aquatiques qui sont considérés comme étant le réceptacle final de toute contamination (Charron, 2014; Geffard, 2014; Gismondi et al., 2017; Jubeaux, 2012; Lebrun et al., 2020; Penicaud et al., 2017; Tair-Abbaci, 2016; Urien, 2015). Dans les milieux aquatiques, ces métaux peuvent être retrouvés en concentrations plus ou moins fortes selon qu'ils remplissent des fonctions essentielles (p. ex. le zinc, Zn), ou non essentielles (p. ex. le cadmium, Cd) pour les organismes présents dans les écosystèmes (Depledge et Rainbow, 1990; Vijver et al., 2004).

En 2000, l'Union Européenne impose la surveillance du bon état chimique des masses d'eau, en mettant en place la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Cette DCE contient notamment une liste des substances à surveiller composée de molécules organiques, mais également de métaux, dont le Cd et le Zn (Besse et al., 2012; Ciliberti et al., 2017; Dendievel et al., 2022; EC, 2000; Lebrun et al., 2017). Cependant, l'accumulation des métaux dans le biote ne dépend pas seulement de la concentration des métaux dans l'eau, mais également de leur disponibilité pour les organismes (Lebrun et al., 2020; Pellet et al., 2009; Urien, 2015). La biodisponibilité d'un métal va dépendre de sa spéciation et est étroitement liée aux facteurs environnementaux abiotiques (p. ex. : pH, température, salinité, dureté de l'eau, etc.). Il s'avère donc que la biosurveillance par l'utilisation d'espèces bio-indicatrices ou d'espèces sentinelles est beaucoup plus intégrative que l'utilisation de la matrice eau (Zhou et al., 2008).

La bioaccumulation des métaux dans un organisme est la résultante de la différence entre ce qui entre dans l'organisme et ce qui en ressort, au cours du temps. Chez les organismes aquatiques, la bioaccumulation des métaux peut s'effectuer par la voie dissoute ou *via* l'alimentation, plus communément appelée voie trophique (Rainbow, 1997). Une fois les barrières épithéliales branchiales et intestinales franchies, les métaux sont distribués aux différents organes, via le fluide circulatoire. Dans les organes, les métaux pourront y être stockés, détoxifiés ou seulement y passer avant d'être éliminés. Les métaux essentiels pourront également y effectuer leurs fonctions métaboliques, à l'inverse des métaux non-essentiels qui n'en possèdent pas (Nunez-Nogueira et al.,

2006a). Selon leur prise en charge par les différents organes et les différents processus de gestion, les métaux seront à plus ou moins long terme éliminés de l'organisme. Il a déjà été largement décrit que ces processus ADME (d'Absorption, de Distribution, de Métabolisation/Méthylation et d'Élimination) sont métal- et espèce-spécifiques. Mais en plus d'être influencés par la biodisponibilité des métaux, ils peuvent également être influencés par de nombreux facteurs biotiques (p. ex. : âge, taille, sexe, état physiologique, etc.) (Besse et al., 2012; Golovanova, 2008).

In fine, l'effet d'un métal sur un individu va dépendre de la concentration du métal dans le milieu et des processus ADME de l'organisme (Baudrot et Charles, 2019; Ockleford et al., 2018; Wang et Tan, 2019). Les modèles TKTD (Toxico-cinétique toxico-dynamique) permettent de formaliser en fonction de la concentration d'exposition : i) la bioaccumulation et le devenir des contaminants dans l'organisme (partie TK) ; et ii) les effets de ces contaminants sur l'organisme (partie TD). Seulement, le manque de données de bioaccumulation et de connaissances concernant les processus ADME des contaminants chez les organismes aquatiques, particulièrement chez les invertébrés, font qu'actuellement les modèles TKTD utilisent une approximation de la partie TK, extrapolée à partir de la concentration d'exposition. Les modèles TK existants ont été largement développés au niveau des organismes entiers chez beaucoup d'organismes aquatiques, vertébrés et invertébrés (Grech et al., 2019; Wang et Tan, 2019). Cependant, considérer l'individu tout entier comme un compartiment homogène n'est pas réaliste car les contaminants peuvent en effet s'accumuler préférentiellement dans certains organes et leur élimination peut être plus ou moins rapide selon le turn-over organes- et métal-spécifiques. Ainsi, la prise en compte des processus ADME à une échelle sub-individuelle dans les modèles TK est essentielle pour mieux comprendre l'organotropisme et ainsi mieux prédire les effets engendrés.

À ce jour il n'existe pas de données concernant la toxico-cinétique des métaux à l'échelle des organes chez les invertébrés, les seules études concernent principalement les vertébrés comme le poisson (Gao et al., 2019; Wang et Tan, 2019; Wang et al., 2017; Wang et Wang, 2016, 2015; Zhang et al., 2019). Pour l'espèce sentinelle de macro-invertébré d'eau douce, *Gammarus fossarum*, pour qui jusqu'alors la bioaccumulation des métaux a été étudiée au niveau de l'organisme entier (Aamir, 2020; Amyot et al., 1996, 1994; Besse et al., 2013; Dedourge-Geffard et al., 2013, 2009; Fialkowski et al., 2003; Fialkowski et Rainbow, 2006; Geffard et al., 2007; Khan et al., 2011; Kunz et al., 2010; Lacaze et al., 2011; Lebrun et al., 2015, 2014b; Maltby, 1995; Urien et al., 2017), il existe d'importantes lacunes concernant la connaissance des processus ADME, de la gestion et du devenir des métaux au niveau des organes.

Objectifs

L'objectif de ce travail est d'améliorer la compréhension de la bioaccumulation des métaux au niveau des organes d'un invertébré, le gammare. Pour cela, nous avons étudié si l'organotropisme, la toxico-cinétique et le devenir des métaux chez *Gammarus fossarum* dépend : i) du métal, en comparant trois ETM dont deux métaux non-essentiels le mercure (Hg) et le cadmium (Cd), et un métal essentiel, le zinc (Zn) ; ii) de la concentration d'exposition, en utilisant trois concentrations d'exposition en Cd par voie dissoute, à des concentrations d'exposition réalistes d'un point de vue environnemental ; iii) de la voie d'exposition, en étudiant les résultats d'une exposition au Cd par voie trophique et en les comparant à ceux obtenus précédemment lors des expositions par voie dissoute.

Pour répondre à ces questions, différentes approches interdisciplinaires ont été utilisées : i) expérimentales, avec l'utilisation de radioéléments permettant d'étudier la bioaccumulation de métaux radiomarqués à des concentrations relativement faibles (de l'ordre du ng.L^{-1}) dans de très petits organes ; et ii) théoriques, avec le développement de modèles TK et leurs ajustements aux données observées par inférence bayésienne.

Démarche scientifique et organisation du manuscrit

Ce manuscrit de thèse est composé de 6 chapitres. Le chapitre I présente l'état de l'art des différentes disciplines associées dans ce travail de thèse. Il est suivi du chapitre II présentant une partie matériel et méthodes complémentaires à celles déjà existantes dans les différents articles constituant ce manuscrit.

Les chapitres III, IV et V présentent les différents travaux effectués sous forme d'articles scientifiques, comprenant les résultats et les discussions qui y sont associés. Tout d'abord, le chapitre III sera consacré aux résultats (publiés dans « Environment International » en 2021) du développement de modèles TK mono- et multi-compartiments dans le but de comprendre l'organotropisme et le devenir de deux métaux (Cd et mercure, Hg) dans les organes du gammare, après une exposition par la voie dissoute. Le Chapitre IV sera consacré à l'influence du caractère essentiel ou non du métal ou de la concentration d'exposition sur l'organotropisme, la toxico-cinétique et devenir des métaux chez le gammare exposé par la voie dissoute, à des concentrations environnementales. Dans une première sous-partie, les résultats (publiés dans « Environmental pollution » en 2022) portant sur la comparaison de l'accumulation du Cd et du Zn dans les organes du gammare seront présentés. La seconde sous-partie sera, elle, consacrée à l'effet de la concentration d'exposition sur la bioaccumulation du Cd au niveau des organes du gammare (publication actuellement en révision dans « Environment International »). Enfin, dans le Chapitre

V, les résultats concernant la contamination par voie trophique seront présentés, avec dans un premier temps la présentation d'une short-note dédiée à l'estimation de l'efficacité d'assimilation du Cd au niveau organisme entier ; et dans un second temps, la présentation des résultats (qui seront prochainement soumis dans « Environmental Science & Technology ») concernant l'organotropisme, la bioaccumulation et le devenir du Cd après une exposition chronique par la voie trophique.

Le chapitre VI de ce manuscrit consiste en une discussion générale et transversale des différents travaux présentés en amont, et se conclut par la formulation des sorties majeures qui en ressortent et la proposition de perspectives de recherche.

Chapitre I : État de l'art

I. Les éléments traces métalliques (ETM)

Couramment employée dans les domaines scientifiques et populaires, la **dénomination** « métaux lourds » (c.-à-d. éléments caractérisés par une masse volumique (ρ) $> 5 \text{ g.cm}^{-3}$) n'a cependant pas d'application juridique ou de fondement scientifique, car parmi eux certains sont constitués d'atomes dits « légers » ($\rho < 5 \text{ g.cm}^{-3}$), comme l'aluminium ($\rho = 2,7 \text{ g.cm}^{-3}$). C'est pourquoi cette appellation est de plus en plus délaissée et notamment remplacée par le terme plus générique d'**éléments traces métalliques (ETM)**, désignant les éléments métalliques présents à l'état de traces dans la croûte terrestre à une concentration inférieure à 0,1% (Miquel, 2000; Pourret et Bollinger, 2017). Dans ce manuscrit, les deux appellations qui seront utilisées seront donc « éléments traces métalliques (ETM) » ou simplement « métal/métaux », termes plus scientifiques et moins controversés que le terme « métaux lourds » (Nieboer et Richardson, 1980; Pourret et Bollinger, 2017).

L'une des **caractéristiques des ETM** est de posséder la totalité, ou la plupart, des propriétés suivantes : bons conducteurs d'électricité et de chaleur, réagissant avec les acides, solides à température et pression habituelle (à l'exception du mercure), malléables et ductiles, formant des cations. La plupart des éléments chimiques composant le tableau de Mendeleïev sont des métaux. Les ETM sont des éléments persistants dans les écosystèmes car non-dégradables par essence, puisque ce sont des atomes. Ils sont libérés dans les différents compartiments atmosphériques, terrestres et aquatiques *via* des phénomènes naturels physiques (érosion et lixiviation) ou géologiques (volcanisme). Dans ce cas, la quantité de métal libérée dans l'environnement dépend du fond pédogéochimique, composition chimique naturelle d'un sol ou d'une roche (Dayras et al., 2017; Dendievel et al., 2022; Péry et al., 2008; Scheibener et al., 2021; Zhang et Reynolds, 2019). Cependant, les ETMs peuvent également être introduits dans les différents compartiments susmentionnés par les activités anthropiques majoritairement minières, industrielles et agricoles (Bertrand et al., 2019; Dendievel et al., 2022; Gouveia et al., 2019; Lanctôt et al., 2017; O'Callaghan et al., 2019; Pery, 2008; Scheibener et al., 2021; Yin et al., 2015; Zhang et Reynolds, 2019). Ils se dissolvent facilement dans l'eau ce qui facilite leur transport, *via* les lixiviats, les eaux de ruissellement et de précipitations, vers les écosystèmes aquatiques considérés comme étant les réceptacles finaux de toutes les contaminations (Gasperi et al., 2009; Gismondi et al., 2017; Penicaud et al., 2017). La contamination d'un milieu par un ETM se définit par l'augmentation de

la concentration en métal par rapport au bruit de fond pédogéochimique du site. Une contamination peut *in fine* entraîner un phénomène de pollution, c'est-à-dire provoquer un effet toxique sur les écosystèmes. Afin de comprendre et d'évaluer le risque pour les organismes aquatiques de la présence d'ETM dans les écosystèmes, il est également important de prendre en compte leur caractère essentiel ou non-essentiel (Depledge et Rainbow, 1990; Vijver et al., 2004).

Les **métaux** dits « **essentiels** », aussi retrouvés sous la terminologie d'oligo-éléments (catégorie ne comprenant pas seulement des ETMs), sont indispensables au fonctionnement des organismes vivants (Hare, 1992). Parmi eux, le zinc (Zn) est naturellement présent dans la croûte terrestre à une concentration moyenne de $80 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Pichard et al., 2005). Les trois principales sources anthropogéniques d'émission de zinc dans l'environnement sont : i) les secteurs miniers et industriels, où il est communément utilisé dans la galvanisation¹ afin d'obtenir des revêtements non-corrosifs ; ii) l'agriculture, puisque l'alimentation des élevages de porcs est supplémentée en zinc, qui se retrouve éliminé dans le lisier ensuite épandu dans les champs ; et iii) les activités urbaines et le transport routier, notamment par l'usure des toitures et des pneumatiques routiers (Legoff et Bonnomet, 2004; Pichard et al., 2005). Les ETM essentiels ont la particularité de jouer un rôle important dans le métabolisme des organismes, puisqu'ils sont incorporés dans plusieurs enzymes et protéines indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Par exemple, chez les crustacés, les protéines composant l'hémolymphe qui permet le transport de l'oxygène aux différents tissus, appelées hémocyanines, sont composées de cuivre (Cu) (Adams et al., 2010; Rainbow et Luoma, 2011a). Le Zn quant à lui est un activateur et/ou un cofacteur d'enzymes, retrouvé par exemple dans les protéines à doigts de zinc impliquées notamment comme facteur de transcription dans les processus génétiques (Hartwig, 2001; Olmedo et al., 2013). Les métaux essentiels possèdent leurs propres mécanismes de gestion au sein des organismes qui permettent, en condition de concentration optimale, la régulation de ces éléments dans les tissus biologiques par homéostasie. Chez les organismes vivants, l'homéostasie des métaux s'effectue à l'aide de protéines capables de lier les métaux, appelées métallothionéines (Ahearn et al., 2004; Geffard et al., 2007; Huang et al., 2007). Par conséquent, ces métaux doivent être présents dans une gamme de concentration optimale dans les tissus pour permettre la survie des organismes (Chouvelon et al., 2019; Mellinger, 1972). En effet, une concentration en-deçà du seuil optimal entraîne les organismes en état de carence et, inversement, en état d'excès lorsque la concentration dépasse le seuil optimal (Figure I-1, gauche). La carence et l'excès sont deux états induisant des effets nocifs pour les organismes, mais lorsqu'il y a contamination du milieu, c'est logiquement l'état d'excès qui

¹ Pièces en acier recouvertes d'une fine couche de zinc.

prévaut (Lebrun et al., 2014b; Pouil et al., 2016). De plus, avec une production mondiale totale de 14 millions de tonnes de Zn par an, l'exploitation du zinc est également la source principale de l'émission de trois autres ETM non essentiels : le cadmium, le germanium et l'indium².

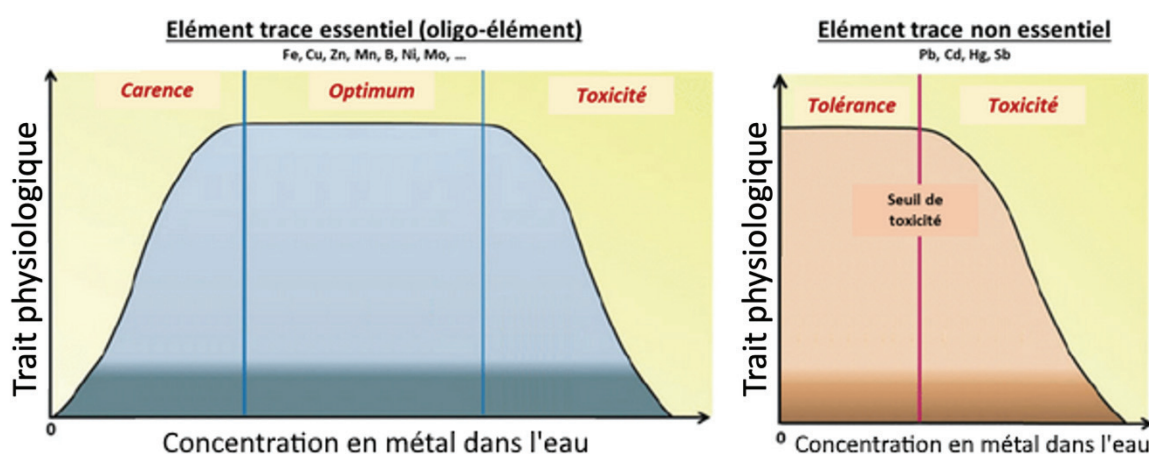


Figure I-1. Illustration de l'effet des métaux sur un trait physiologique de l'organisme en fonction de leur concentration dans l'eau, selon qu'ils soient essentiels (à gauche) ou non-essentiels (à droite) pour l'organisme.

Les **métaux** dits « **non-essentiels** » ne contribuent en aucune manière au processus de fonctionnement des organismes vivants et peuvent être toxiques même à très faibles concentrations (Figure I-1, droite) (Lebrun et al., 2017; Ramiro Pastorinho et al., 2009). Les métaux non-essentiels pourraient en effet se substituer aux métaux essentiels lorsqu'ils possèdent une plus grande affinité pour les structures biologiques, changeant ainsi complètement la géométrie des molécules et entraînant des dysfonctionnements morphologiques et physiologiques (Henry et al., 2017). Par exemple, il a été déterminé qu'un atome de cadmium (Cd) peut venir substituer l'atome de Zn présent dans les structures des protéines en doigts de zinc, changeant ainsi la conformation de ces protéines et diminuant par conséquent son habilité à se lier à l'ADN pour remplir sa fonction métabolique (Hartwig, 2001).

Parmi les ETM non-essentiels les plus communément retrouvés dans les milieux aquatiques européens, le Cd est naturellement présent dans la croûte terrestre à une concentration moyenne de $0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$, où il est le plus souvent associé à d'autres minerais tels que le plomb (Pb), le Cu, le Zn et les phosphates (Bisson et al., 2011). La forte teneur en Cd des roches riches en phosphates, qui sont broyées et utilisées comme intrants phosphatés dans l'agriculture, est l'une des principales sources de contamination environnementale en Cd (Zhang et Reynolds, 2019). Mais la majeure partie de la pollution anthropique au cadmium provient de son utilisation dans la fabrication de batteries nickel-cadmium (Ni-Cd) (UNEP, 2010; Zhang et Reynolds, 2019). Ainsi, les émissions de

² Site gouvernemental Ressources naturelles du Canada, « *Faits sur le zinc* » (consulté le 28/09/2022), <https://www.rncan.gc.ca/nos-ressources-naturelles/mines-materiaux/faits-mineraux-metiaux/faits-sur-le-zinc/20632>

Cd dans l'environnement sont estimées autour de 3 000 tonnes par an, pour une production mondiale totale de 26 000 tonnes par an (UNEP, 2010).

II. La (bio)surveillance des ETM dans les milieux aquatiques

Dans les années 70, l'accès à de nouvelles techniques de quantification en chimie analytique et le développement du domaine de l'écotoxicologie ont permis de démontrer que la présence de métaux dans l'environnement, même en faibles concentrations, peut impacter de façon néfaste les écosystèmes (Tercier-Waeber et al., 2012). La **Directive Cadre sur l'Eau (DCE)** est une directive de l'Union Européenne (Figure I-2) visant à caractériser l'état chimique des masses d'eaux, pour ensuite pouvoir proposer des solutions comme la réduction de leur contamination, afin de protéger les écosystèmes aquatiques (Besse et al., 2012; Ciliberti et al., 2017; Dendievel et al., 2022; EC, 2000; Lebrun et al., 2017). Dans le cadre de la DCE, les états membres de l'Union Européenne se sont engagés à respecter plusieurs critères, en effectuant notamment un suivi régulier de quantification de certaines substances dans la colonne d'eau des milieux aquatiques (EC, 2000). Pour cela, une liste de 41 substances prioritaires métalliques ou organiques a été établie et est régulièrement mise à jour à travers notamment l'ajout de contaminants émergents (Besse et al., 2012). Actuellement cette liste est composée de 53 substances prioritaires pour la surveillance des eaux de surface.

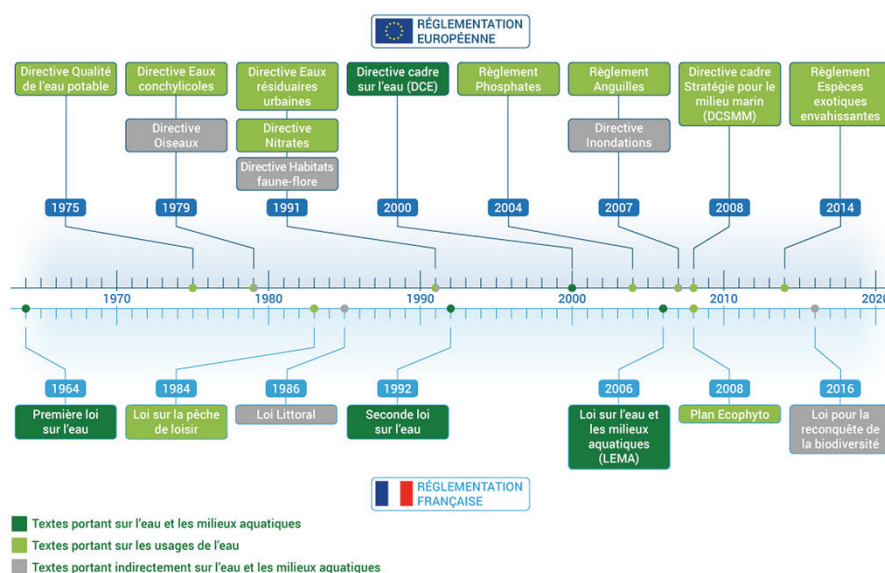


Figure I-2. Illustration chronologique des différentes réglementations mises en place dans la protection de l'eau et des milieux aquatiques. Source : <https://www.eaufrance.fr/vers-le-bon-etat-des-milieux-aquatiques>.

Parmi les substances polluantes listées par la DCE figurent des métaux non-essentiels, dont trois ont été considérés comme étant les plus préoccupants en termes de contamination pour l'environnement : le Cd, le mercure (Hg) et le plomb Pb (Besse et al., 2012; EC, 2000). Cependant, des métaux essentiels y figurent également, avec trois d'entre eux considérés comme étant les plus

préoccupants pour les écosystèmes aquatiques : le Cu, le Ni et le Zn (EC, 2000; Lebrun et al., 2017). Leurs concentrations dans les eaux douces se situent généralement entre quelques dizaines de ng.L^{-1} jusqu'au $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour les ETMs non-essentiels³ et inférieures à quelques dizaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour des ETMs essentiels (Cresswell et al., 2014b; McDonald et al., 2020; Plénet, 1995). Suite à la mise en place de la DCE, l'État français a d'ailleurs promulgué la loi LEMA (Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques), en 2006 (Figure I-2), dont l'un des objectifs premiers était de mettre en place des campagnes prospectives de surveillance chimique des milieux et des actions préventives, afin d'atteindre le « bon état » des eaux fixé par la DCE (Eau de France, 2022).

2.1. Surveillance des ETM dans l'eau

L'une des méthodes utilisées dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau consiste à chercher la présence des contaminants dans la **colonne d'eau**, et à les quantifier. Afin de garantir le bon état chimique des masses d'eau, les concentrations en contaminants doivent être inférieures aux Normes de Qualité Environnementales (NQE). Selon l'article 2 alinéa 35 de la DCE, la NQE correspond à « la concentration d'un polluant ou groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassée, afin de protéger la santé humaine et l'environnement ». Ces NQE consistent en l'établissement de concentrations acceptables, propres à chaque contaminant et à chaque matrice, comme la NQE_{eau} pour la colonne d'eau. Il existe différentes terminaisons de la NQE, la NQE-MA (valeur de NQE Moyenne Annuelle) qui est la plus utilisée et la NQE-CMA (Concentration Moyenne Admissible). Le Cd et le Zn, respectivement classés en tant que substance dangereuse prioritaire et substance pertinente, appartiennent tous deux à la liste des éléments « d'importance écotoxicologique directe » de la DCE 2000/60/EC (Besse et al., 2012; EC, 2000; Lebrun et al., 2017). La NQE-MA des eaux intérieures doit être $\leq 0.08\text{-}0.25 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Cd et comprise dans une gamme de concentrations allant de 60 à $385 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Zn. Les NQE-CMA des eaux intérieures ont, elles, été établies à $\leq 0.45\text{-}1.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Cd et entre 56 et $929 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Zn. Au sein des pays de l'ouest de l'Union Européenne, les concentrations moyennes de Zn retrouvées dans les eaux douces continentales sont généralement inférieures à $50 \mu\text{g.L}^{-1}$. La gamme de concentrations en Zn retrouvée est comprise entre 0,090 et $310 \mu\text{g.L}^{-1}$, avec une médiane située à $2,68 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figure I-3)⁴. Dans cette même région, la concentration de Cd retrouvée dans les eaux douces continentales est généralement inférieure à $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. La gamme de concentrations en Cd retrouvée allant de 0,001 et $1,25 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec une médiane située à $0,010 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figure I-3). Ces données, comme celles de Lebrun et al., (2015), tendent donc à montrer que pour le Cd et le Zn les cours d'eau se situent dans les NQE établies par la DCE. Cependant une autre étude a pu

³ Selon les limites de quantification des instruments analytiques utilisés.

⁴ <http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/article.php?id=15>

montrer pour le Cd que certains sites en France se situent bien au-delà de ces limites, allant jusqu'à $6,9 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Urien et al., 2016).

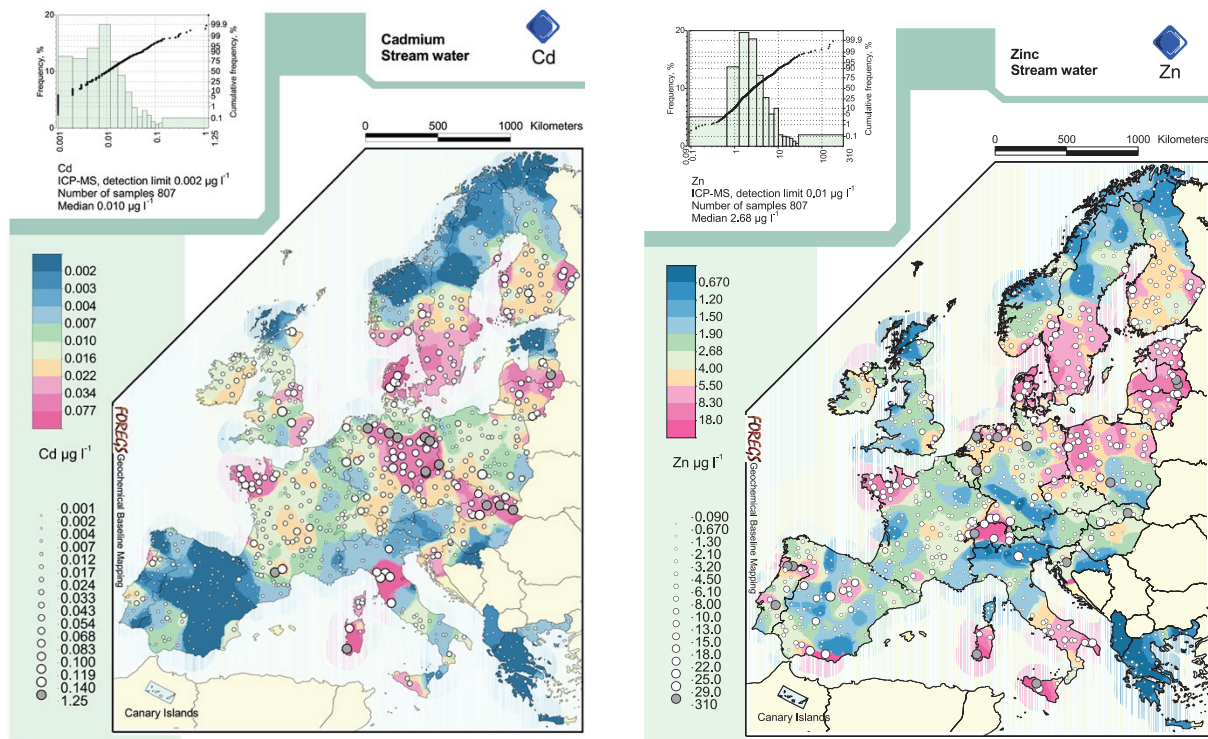


Figure I-3. Illustration de la concentration en Cd (a) et en Zn (b) des différents cours d'eau de l'ouest de l'Europe. Une échelle de couleur allant du bleu foncé au rose indique les cours d'eau des moins aux plus concentrés en métal. Source : http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/maps_table.php.

En eaux douces, la fraction dissoute du Cd et du Zn est principalement retrouvée sous la forme d'ions libres, Cd^{2+} et Zn^{2+} (Wright et Welbourn, 1994). Cependant, et dans une moindre importance, ces ions peuvent également être associés à des ions chlorure, formant du CdCl_2 et du ZnCl_2 , ou des ions sulfate, formant du CdSO_4 et du ZnSO_4 (Wright et Welbourn, 1994). Les ions considérés dans la phase dissoute possèdent une taille inférieure à 1 nm. Cependant une partie des ETM est également retrouvée sous forme colloïdale (1 nm à $0,45 \mu\text{m}$) ou particulaire ($> 0,45 \mu\text{m}$) (Tercier-Waeber et al., 2012). Ces deux dernières formes vont surtout être impliquées dans des processus d'adsorption et/ou de sédimentation des métaux. Les sédiments sont d'ailleurs également une source de contamination pour les organismes puisque les métaux qui y sont piégés peuvent être remobilisés par les organismes (bioturbation) ou par des phénomènes physiques (crues) (Bertrand et al., 2019; Bryan et Langston, 1992; Burnol et al., 2006; Schaller et al., 2011a). L'analyse des contaminants dans les sédiments est d'ailleurs recommandée et intégrée aux programmes de surveillance des milieux aquatiques, notamment par l'établissement de NQE_{sed} (Besse et al., 2012).

L'inconvénient des normes établies pour les matrices physiques est qu'elles ne traduisent pas complètement le risque toxique puisque la spéciation des ions est difficilement prise en compte

lors des analyses de concentration des métaux dans l'eau. Or, la spéciation des ETM est un facteur essentiel à prendre en compte pour évaluer la fraction de métal disponible pour être accumulée ou interagir avec les composés biologiques. Pour cela des techniques d'échantillonnage passif *in situ* évaluant la fraction libre de métal dans l'eau sont utilisées, notamment la technique appelée DGT de l'anglais « Diffusive Gradient in Thin film » (Lebrun et al., 2020; Pellet et al., 2009; Urien, 2015). L'installation de dispositifs de type DGT dans le milieu permet de piéger les ions métalliques labiles⁵ de l'eau dans une résine chélatante afin d'intégrer, au cours du temps, la concentration de métal présente dans l'eau qui sera disponible pour être accumulée par les organismes (Ferreira et al., 2013; Pellet et al., 2009; Tan et al., 2018). Cette technique, par DGT, améliore donc l'évaluation du risque par rapport aux techniques plus classiques d'analyse des matrices. Cependant, elle ne prend pas en compte différents facteurs influant sur la potentielle toxicité des métaux pour les organismes, comme la compétition inter-ions ou la contamination par l'alimentation, comme le font les modèles BLM (Biotic Ligand Models), par exemple (Lebrun et al., 2020; Legoff et Bonnomet, 2004; Pellet et al., 2009; Urien, 2015). La prise en compte de ces paramètres, couplés à d'autres facteurs biotiques ou abiotiques est pourtant essentielle en évaluation du risque. Par conséquent, cela soulève l'intérêt d'utiliser des matrices plus intégratives, notamment au cours du temps.

2.2. Biosurveillance des ETM

La bioaccumulation d'un contaminant (accumulation dans un organisme vivant) est le reflet de l'exposition de l'organisme à un contaminant (Zhou et al., 2008). Dans la biosurveillance, ce sont les organismes eux-mêmes qui sont utilisés comme sonde pour évaluer : i) la biodisponibilité des contaminants ; ii) la capacité de bioaccumulation des organismes ; et iii) la toxicité potentielle du contaminant pour l'écosystème (Zhou et al., 2008). En effet, le fait que les organismes utilisés soient des bioaccumulateurs, et donc qu'ils concentrent les contaminants du milieu, permet de détecter un contaminant là où sa concentration dans la matrice eau est trop faible pour être quantifiée (sous le seuil de détection des appareils d'analyse). Par conséquent, la matrice appelée « matrice biote » a l'avantage d'intégrer les différentes voies d'exposition (dissoute, trophique et sédimentaire), et d'intégrer au cours du temps les variations de la contamination (Fialkowski et Rainbow, 2006). De plus, cette matrice intègre les métaux selon leur biodisponibilité dans le milieu en prenant en compte l'influence des paramètres physico-chimiques du milieu et des différents facteurs biologiques et physiologiques de l'organisme (Jager et Ashauer, 2018).

⁵ Dans le cas des ions formant des complexes possédant des liaisons de très grande polarisabilité, donc facilement rompables, comme le CdCl_2 .

Le **choix des organismes** utilisés en biosurveillance est primordial puisqu'ils doivent répondre à un panel de critères. En effet, pour être considérés comme étant de bons intégrateurs d'un contaminant étudié, l'espèce aquatique choisie doit à la fois : i) pouvoir survivre en accumulant et concentrant dans ses tissus de fortes quantités de contaminants, tout en y étant relativement sensible pour qu'une réponse puisse être caractérisée et graduée selon le niveau de contamination du milieu ; ii) être sessile afin d'être représentative de la contamination locale ; iii) avoir une aire de répartition géographique étendue afin de donner la possibilité de comparer différents sites ; iv) être assez abondante et/ou non-invasive, afin de ne pas altérer la qualité biologique du milieu par prélèvement d'individus autochtones ou transplantation d'individus allochtones ; v) avoir une durée de vie suffisamment longue ; vi) être facilement prélevable, transportable et/ou élevable en laboratoire ; vii) avoir un cycle de vie qui se déroule uniquement dans l'eau ; et viii) occuper une place conséquente dans les réseaux trophiques et les écosystèmes aquatiques auxquels elle appartient (Besse et al., 2012; Zhou et al., 2008). Ainsi les macro-invertébrés de types bivalves (*Dreissena polymorpha*) et crustacés (*Asellus aquaticus*, *Gammarus fossarum* et *Gammarus pulex*) suscitent un réel intérêt dans le cadre de la biosurveillance des milieux aquatiques car ils possèdent la totalité ou la plupart des critères listés ci-dessus (Besse et al., 2012; Chaumot et al., 2015; Kraak et al., 1991; O'Callaghan et al., 2019; Plénet, 1995). D'autant plus que depuis 2014, la Commission Européenne conseille de ne pas utiliser systématiquement les organismes de type poisson et plutôt de trouver des organismes alternatifs afin de diminuer la pression que cela représente sur ce taxon dans les écosystèmes et de préserver la biodiversité des sites étudiés (Ratier, 2019).

Dans la grande majorité des cas, les organismes utilisés en biosurveillance sont des **espèces sentinelles**. Selon la définition du National Research Council établie en 1991, les espèces sentinelles prennent part à « un dispositif destiné à collecter, systématiquement et régulièrement, des données sur des animaux exposés à la pollution environnementale ; ces données sont ensuite analysées pour identifier les dangers potentiels pour la santé de l'homme et de l'environnement » (Rivière, 1993). La notion d'espèces sentinelles correspond à l'analyse du risque toxique environnemental d'un site donné, par rapport à un site témoin de référence. La biosurveillance des milieux aquatiques s'effectue par deux approches différentes. La première est une approche de biosurveillance dite passive, basée sur l'échantillonnage et l'analyse d'organismes prélevés dans les milieux (Besse et al., 2012; Kraak et al., 1991). La seconde est une approche de surveillance dite active, qui consiste à transplanter des organismes sur un site d'intérêt par encagement avant de les récupérer pour les analyser (Besse et al., 2012; Kraak et al., 1991).

Dans les années 70, les premiers **programmes de biosurveillance** ont été mis en place, dans le milieu marin, aux États-Unis et en France. Depuis, les programmes de biosurveillance passive des contaminants : le « MusselWatch » américain et le « ROCCH » (Réseau d'Observation de la Contamination CHimique du littoral⁶) français, reposent sur le prélèvement de moules et d'huîtres (Besse et al., 2012; Geffard, 2014; Rivière, 1993). Par la suite, d'autres programmes ont également vu le jour, notamment des programmes de biosurveillance active comme le programme RINBIO (Réseau INTégrateurs BIOlogiques) utilisant l'encagement de moules en mer Méditerranée (Besse et al., 2012; Geffard, 2014; Urien, 2015). Dans les milieux dulçaquicoles, des programmes de biosurveillance active se développent de plus en plus, avec la mise en place du projet Biosurveillance (2019-2022)⁷ ou de bioessais *in situ* effectués en routine. Qu'elle soit active ou passive, la biosurveillance ne consiste pas seulement à quantifier les contaminants présents dans les organismes, mais également à y analyser des biomarqueurs (Coulaud et al., 2011; Dedourge-Geffard et al., 2009; Gouveia et al., 2019; Lacaze et al., 2011). Selon la FDA (Food and Drug Administration⁸), un biomarqueur est : « une caractéristique définie qui est mesurée comme un indicateur des processus biologiques normaux, des processus pathogènes ou des réactions à une exposition ou une intervention, y compris les interventions thérapeutiques ». En écotoxicologie, les biomarqueurs peuvent être mesurés dans les organismes entiers, leurs tissus ou leurs fluides et constituent un ensemble de paramètres (physiologiques, cellulaires, biochimiques ou comportementaux) qui indiquent une exposition ou un effet d'un ou plusieurs contaminants (Garric et al., 2010). Il existe deux grandes catégories de biomarqueurs : i) les biomarqueurs d'exposition, comme les métallothionéines qui sont surexprimées dans les tissus impliqués dans l'homéostasie des métaux en cas de contamination métallique ; et ii) les biomarqueurs d'effet, comme la diminution de l'intégrité lysosomale ou l'induction de peroxydation lipidique qui ne seront pas forcément spécifiques d'un contaminant (Arce Funck et al., 2013; Chiodi Boudet et al., 2019; Garric et al., 2010; Zhou et al., 2008). En biosurveillance, trois niveaux biologiques peuvent être pris en compte : i) moléculaire et cellulaire, pour une réponse sensible et rapide ; ii) tissulaire, pour évaluer les dommages aux organes ; et iii) l'organisme entier pour évaluer la capacité de survie et l'efficacité de reproduction (Garric et al., 2010). Les deux principales limites de l'utilisation des biomarqueurs résident dans la difficulté à : i) discriminer les réponses adaptatives considérées comme naturelles, des réponses au stress métallique en lui-même ; et ii) extrapoler la réponse d'un niveau biologique à l'autre, d'une espèce à l'autre ou d'une population à l'autre (Gismondi et al., 2017). Actuellement, l'une des bornes de l'utilisation des biomarqueurs est également le manque de

⁶ Anciennement appelé « RNO » pour Réseau National d'Observation.

⁷ <https://umr-sebio.fr/programmes-recherche/biosurveillance-2019-2022>

⁸ En français : administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments

connaissances concernant la biochimie, la physiologie et le comportement des espèces sentinelles, notamment dans le cas d'une contamination (Garric et al., 2010). En effet, pour aller chercher des biomarqueurs au niveau des tissus/organes d'un individu, il faut préalablement savoir quel est le rôle des différents tissus et organes de l'organisme dans la gestion et le devenir des contaminants au sein de l'organisme.

III. Bioaccumulation et devenir des ETM chez les organismes aquatiques

La **bioaccumulation** est la capacité des organismes à absorber et concentrer des contaminants (métaux, molécules organiques, toxines, micro-organismes, etc.) dans tout ou une partie de leurs tissus, au cours du temps (Figure I-4).

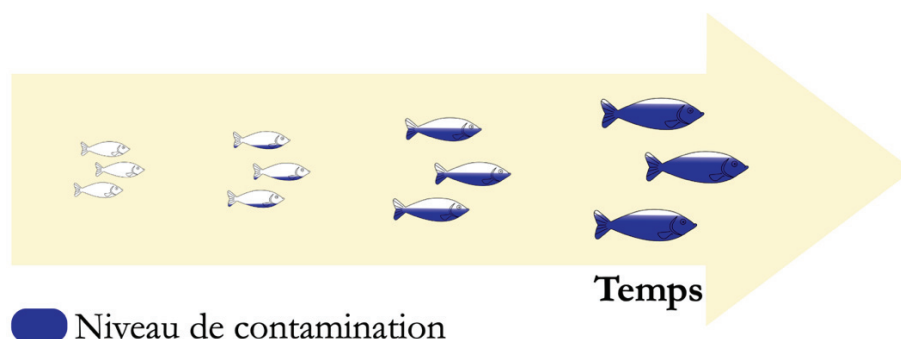


Figure I-4. Illustration de la bioaccumulation au cours du temps.

La bioaccumulation d'un ETM est la résultante de plusieurs processus, appelés plus couramment processus ADME (Figure I-5) : i) Assimilation/Absorption ; ii) Distribution ; iii) Métabolisation/Méthylation ; et iv) Élimination.

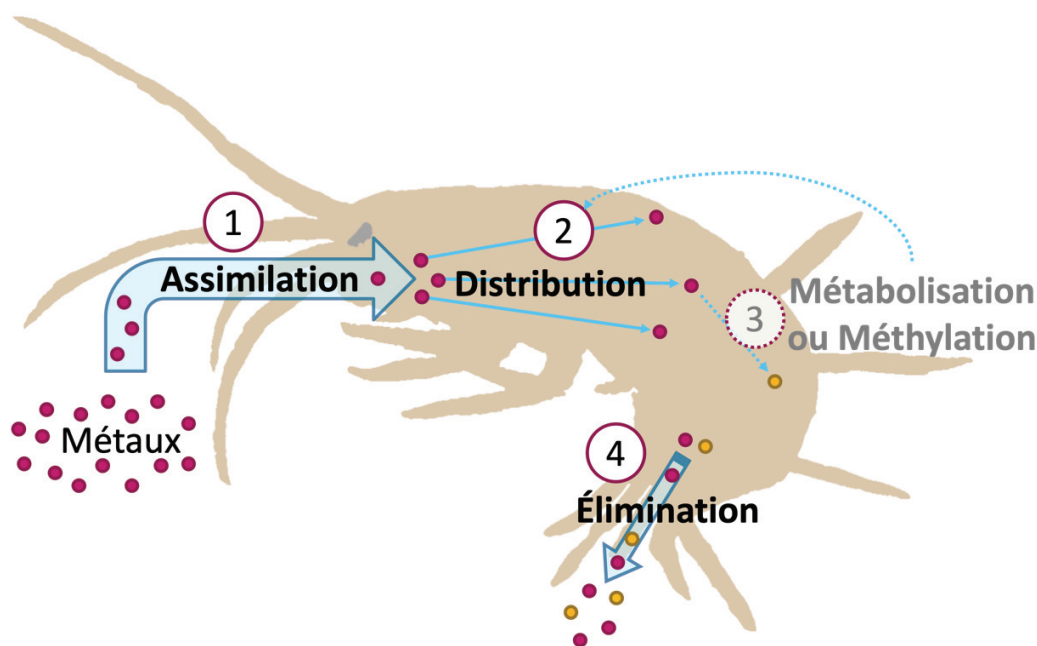


Figure I-5. Illustration des 4 grandes étapes du processus ADME (Assimilation/Absorption, Distribution, Métabolisation/Méthylation et Élimination) d'un ETM.

3.1. Absorption / Assimilation

Les organismes aquatiques exposés aux métaux peuvent les accumuler par deux voies différentes : la voie dissoute et la voie trophique (Rainbow, 1997). Si les études ne sont pas univoques concernant la prépondérance d'une voie par rapport à l'autre dans l'accumulation des métaux, le nombre d'études s'intéressant à l'accumulation par voie trophique reste somme toute très minoritaire.

3.1.1. Voie dissoute

L'accumulation de métaux *via* l'eau constitue une des voies principales de leur internalisation par les organismes aquatiques, qui se réalise à travers toutes surfaces perméables en contact avec le milieu extérieur (Marsden et Rainbow, 2004).

Chez les organismes aquatiques, il est communément admis que les branchies sont la voie d'entrée principale dans l'accumulation des métaux par voie dissoute (Henry et al., 2017; Nunez-Nogueira et al., 2006a). En effet, en raison de leur rôle essentiel dans les mécanismes physiologiques de régulation ionique et osmotique, ainsi que dans la balance acide-base et dans l'excrétion de l'ammonium, les branchies sont des organes remplis de canaux ioniques favorables au passage des ions métalliques (Henry et al., 2012). Les branchies sont connues comme étant un organe sélectif de l'entrée des ions, ainsi qu'un organe de transit pour les métaux avant leur distribution aux autres organes (Henry et al., 2012). Néanmoins, il est bien connu que certains poissons, en majorité marins, accumulent également les métaux dissous au niveau de leur intestin en buvant l'eau qui les entoure, pour réguler leur équilibre osmotique et éviter la déshydratation (Wood et al., 1999; Zhang et Wang, 2007). Au milieu du XXème siècle, l'action de boire de l'eau par l'intestin a été largement décrite chez plusieurs espèces de petits crustacés, qui se divisent en quatre catégories : i) les espèces qui absorbent de l'eau par voie orale et par voie anale ; ii) les espèces qui absorbent de l'eau par voie orale seulement (*Argulus foliaceus* et *Gammarus sp.*) ; iii) les espèces qui absorbent de l'eau par voie anale seulement (*Asellus aquaticus* (L.), *Calanus gracilis* Dana et *Temora stitifer* Dana) ; et iv) les espèces qui n'ingèrent pas d'eau (*Heterocope saliens* Lilljb., *Podon leuckartii* Sars et *Evadne nordmanni* Lov.) (Munro Fox, 1952). À ce jour, un certain nombre d'études a démontré l'implication de ces phénomènes de boisson par voie orale et/ou anale dans l'entrée des métaux (notamment Cd, Hg, Se et Zn) : chez les têtards de grenouille, chez la crevette *Macrobrachium australiense* ainsi que chez les poissons marins *Plectorhynchus gibbosus*, euryhalin *Acanthopagrus schlegelii*, et dulçaquicole *Oncorhynchus mykiss* (Cresswell et al., 2015; Lanctôt et al., 2017; Wang et Wong, 2003; Wood et al., 1999; Zhang et Wang, 2007).

Enfin, chez les crustacés d'eau douce, la cuticule une fois formée est considérée comme étant imperméable au passage de la plupart des ions et donc des métaux. Cela est surtout vrai chez les décapodes d'eau douce, pour lesquels il a été démontré que leur cuticule était plus imperméable que celle de leurs homologues marins, afin de limiter les phénomènes osmotiques (Cresswell et al., 2014a). Dans cette optique, si la cuticule devait constituer une voie d'entrée, elle ne jouerait pas un rôle majeur dans l'accumulation des métaux par l'organisme (Rainbow, 1997; Vellinger et al., 2012b).

3.1.2. Voie trophique

La contamination par voie trophique correspond à l'absorption du contaminant par le système digestif et peut se faire de manière chronique par ingestion de nourriture, mais également de sédiments chez les organismes benthiques (Lee et al., 2015; Szebedinszky et al., 2001). Pour des questions d'ordres méthodologiques et analytiques principalement, le développement d'études concernant la bioaccumulation des métaux à travers l'ingestion de nourriture contaminée n'a connu un intérêt qu'à partir des années 90 pour les organismes aquatiques (Wang et Fisher, 1999a). Pendant longtemps, il a été communément accepté que les organismes aquatiques accumulaient les métaux principalement par la voie dissoute, alors que la voie trophique ou la voie dissoute peuvent chacune être dominante dépendamment de l'espèce, du métal et du type de nourriture pris en compte (Hadji et al., 2016; Metian et al., 2009; Pellet et al., 2014; Wang et Fisher, 1999b). Il a été ainsi déterminé que la voie trophique pouvait jouer un rôle important, voire majoritaire chez beaucoup d'organismes aquatiques, poissons et invertébrés (Dutton et Fisher, 2011; van Hattum et al., 1989). Cependant, l'immense majorité des études par voie trophique s'est intéressée aux organismes marins, principalement les poissons (Pouil et al., 2016; Szebedinszky et al., 2001; Timmermans et al., 1992). En effet, chez les petits organismes, il est difficile de mettre en place des expérimentations avec une contamination *via* la nourriture à une concentration constante, puisque cette constance est mise à mal par les paramètres biologiques et physiologiques contrôlant l'ingestion de la nourriture (Timmermans et al., 1992; Wang et Fisher, 1999a). De plus, certains facteurs physiologiques et biologiques comme le taux d'ingestion et le transit intestinal du bol alimentaire présentent une variabilité inter-individuelle et interspécifique (Van Campenhout et al., 2009). Les données existantes chez les invertébrés ont démontré que si certaines espèces comme *Chlamys varia*, *Carcinus maenas*, *Asellus aquaticus* et *Lymnea truncatua* accumulent plus de Zn par la voie alimentaire, d'autres espèces comme *Daphnia magna* et *Gammarus pulex* se contaminent plus fortement par le Zn dissous dans l'eau (Metian et al., 2009; Xu et Pascoe, 1994). À l'inverse, pour le Cd, il a été montré chez *G. pulex* que la contribution de la voie trophique serait largement dominante (66 à 94%) par rapport à la voie dissoute (Pellet et al., 2014). De même, chez

Hyallela azteca la voie trophique contribue également significativement à la contamination en Cd (Borgmann et al., 1989). D'après certains auteurs, le nombre d'espèces aquatiques présentant une dominance de la voie trophique dans la contamination des organismes serait très limité, mais il n'existe pas de consensus dans la littérature (Borgmann et al., 1989; Pouil et al., 2015). En outre, la contribution de l'une ou l'autre des voies de contamination semble dépendre à la fois de l'élément et de l'espèce considérés, rendant impossible d'en déduire un principe général au sein des espèces aquatiques.

Pour les ETM, il a été déterminé que la capacité d'accumulation par voie trophique chez les organismes aquatiques est directement proportionnelle à son efficacité d'assimilation (ab. AE, de l'anglais « Assimilation Efficiency » ; Croteau et Luoma, 2008; Wang et Fisher, 1999). L'AE représente le pourcentage de la concentration en contaminant présente dans la nourriture ingérée qui pénètre la barrière intestinale (Pellet et al., 2014). Les méthodes les plus couramment employées pour étudier l'AE sont basées sur l'ingestion d'une prise unique de nourriture (pulse-chase-feeding) contaminée à l'aide des traceurs isotopiques stables ou radioactifs (Pellet et al., 2014; Pouil et al., 2015; Wang et Fisher, 1999a). Il a été déterminé que l'AE est un paramètre métal-, nourriture- et espèce-spécifique, critique dans la compréhension du transfert trophique des contaminants au sein des réseaux trophiques (Croteau et Luoma, 2009, 2008; Pouil et al., 2016; Van Campenhout et al., 2009). L'avantage de l'AE est que c'est un paramètre facilement comparable d'un métal, d'une condition ou d'une espèce à l'autre (Croteau et Luoma, 2008; Pouil et al., 2016). Ce manque de connaissances concernant la bioaccumulation des métaux par la voie alimentaire chez les organismes aquatiques fait qu'aujourd'hui : i) l'étude de l'influence de la voie trophique dans la bioaccumulation est très limitée ; et ii) les recommandations des réglementations sont principalement basées sur des scénarii de contamination par voie dissoute (Franklin et al., 2005).

3.1.3. Internalisation/accumulation

Chez les crustacés, la régulation et le transport des ions entre le milieu extérieur (comprenant l'eau, la nourriture et les sédiments) et le milieu intérieur s'effectue au niveau : des branchies, de l'intestin, du tégument et des glandes antennaires⁹ (Ahearn et al., 1999). Avant d'être internalisés, les métaux doivent traverser les différents épithéliums qui constituent une barrière physique ainsi qu'une interface entre les milieux externe et interne de l'organisme. La bicouche phospholipidique constituant la membrane des cellules de l'épithélium n'est cependant pas exempte de sites plus ou moins sélectifs permettant le passage d'ions au travers de cette membrane (Rainbow, 1997). Ainsi le passage d'ions métalliques, selon qu'ils soient présents sous forme libre ou complexée, peut

⁹ Les glandes antennaires présentes chez les crustacés constituent un organe d'excrétion généralement situé à la base des antennes principales portées par le céphalon de l'organisme.

s'effectuer de manières différentes. L'accumulation des métaux chez les organismes aquatiques s'effectue principalement par diffusion facilitée en empruntant les canaux ioniques calciques et sodiques ainsi que des protéines membranaires de transport pour traverser la bicouche phospholipidique (Adams et al., 2010). Les métaux peuvent cependant également traverser la barrière épithéliale par diffusion passive, s'ils sont présents sous forme de complexes lipophiles, ou par endo- et exo-cytose (formation de vésicules à partir de la paroi épithéliale) s'ils sont sous forme précipitée (Rainbow, 1997).

3.2. Élimination

Chez les organismes aquatiques, l'élimination d'un composant de l'organisme vers le milieu peut s'effectuer de différentes manières : l'égestion, l'excrétion, la reproduction et la mue¹⁰ (Cresswell et al., 2020; Franco-uría et al., 2010; Lam et Wang, 2006; MacKay et Fraser, 2000; McCarty et Mackay, 1993; Scheibener et al., 2021; Wang et Fisher, 1999a; Zauke, 2008). Par ailleurs, la diminution de la concentration d'un contaminant dans un organisme liée au fait qu'il grandit, appelée phénomène de dilution par la croissance, est parfois également considérée comme de l'élimination (Ciardullo et al., 2008; MacKay et Fraser, 2000; Rainbow et Luoma, 2011a; Ratier et al., 2021, 2019; Stephenson et Turner, 1993; Wang et Rainbow, 2008).

Tout d'abord l'égestion est un phénomène d'élimination rapide puisqu'elle concerne l'évacuation des métaux présents dans la nourriture contenue dans l'intestin ne faisant que transiter et qui ne sera jamais assimilée. La proportion des métaux concernés par l'égestion sera donc inversement proportionnelle à l'efficacité d'assimilation métal-, nourriture- et espèce-spécifique. L'excrétion, quant à elle, concerne à la fois les métaux assimilés par voie trophique ou absorbés par voie dissoute. Elle peut s'effectuer aussi bien par les glandes antennaires des crustacés, les branchies ou l'intestin (Kim et al., 2004; Rainbow et Luoma, 2011a; Soegianto et al., 2013). Au niveau des branchies, ce seront principalement les métaux sous forme ionique qui seront éliminés. L'intestin expulse également les métaux sous forme ionique mais aussi par les fèces (excréments solides), incluant les ions qui se sont complexés avec des protéines ainsi que les granules riches en métal (métal présent sous forme détoxifiée) provenant du processus de détoxification par les cellules ventrales du caeca (Rainbow, 2002; Rainbow et Luoma, 2011a). Concernant la prépondérance des différentes voies d'élimination, il a été rapporté chez la daphnie *Daphnia magna* que l'élimination de l'argent (Ag) s'effectue entre 83 et 94% sous la forme dissoute (p. ex. *via* l'urine) (Lam et Wang, 2006). Chez cette espèce la mue, l'égestion et le transfert maternel ont un rôle mineur dans le processus d'élimination de l'Ag (Lam et Wang, 2006). Cependant, chez *D. magna*, le transfert

¹⁰ L'excrétion par la mue est un phénomène qui est trouvé uniquement chez les organismes crustacés.

maternel serait une voie importante d'élimination des ETM essentiels et du mercure (Lam et Wang, 2006). Chez la seiche *Sepia officinalis*, il a été démontré que des ETM essentiels comme le Zn et le sélénium (Se) pouvaient être éliminés via la production des oeufs, ainsi que des ETM non-essentiels comme l'Ag (Lacoue-labarthe et al., 2008).

3.3. Paramètres influençant la bioaccumulation des ETM

Les mécanismes d'accumulation et d'élimination des métaux par les organismes aquatiques et leur amplitude ne sont pas toujours constants, puisqu'il existe de nombreux paramètres influençant fortement la biodisponibilité des ETM et/ou la capacité de bioaccumulation par les organismes. Ces facteurs peuvent être : i) d'ordre abiotique, i.e. paramètres physico-chimiques environnementaux ; et/ou ii) d'ordre biotique, à savoir tous les paramètres biologiques et physiologiques liés au métabolisme de l'organisme ou de leur proie/nourriture (Pourang et al., 2004; Zhang et Reynolds, 2019).

3.3.1. Facteurs abiotiques

Les facteurs, ou paramètres, abiotiques, comprennent tous les paramètres physico-chimiques liés directement au milieu dans lequel évolue l'organisme et qui vont impacter, notamment, la biodisponibilité du métal pour l'organisme. Une première catégorie de facteurs va influencer la spéciation des métaux dans le milieu (McDonald et al., 2020; Rainbow, 1995). Ainsi, certains paramètres comme le pH ou la salinité de l'eau vont directement influencer l'état physico-chimique des métaux. Par exemple, le Zn et le Cd auront tendance à se retrouver majoritairement sous la forme d'ions libre dissous dans les eaux peu salines ou plus acides, ce qui augmentera leur potentiel de bioaccumulation (Mason et al., 2000; Rainbow, 1995). À l'inverse, le Zn et le Cd auront tendance à majoritairement se complexer avec des ions chlorure dans les milieux très salés, ce qui diminuera leur potentiel d'accumulation (Mason et al., 2000; Rainbow, 1995). La teneur en matière organique dissoute (MOD) est également un paramètre important car les métaux peuvent s'y complexer et par conséquent devenir moins biodisponibles pour les organismes (Adams et al., 2010). Il a en effet été montré chez la moule dulçaquicole (*Dreissena polymorpha*) et chez le gammare (*Gammarus pulex*) une corrélation négative entre la teneur en MOD de l'eau et la bioaccumulation des métaux par les organismes (Bourgeault et al., 2010; Pellet et al., 2009).

La bioaccumulation des métaux dans les organismes aquatiques peut également être fortement impactée par des phénomènes de compétition ionique, notamment avec la variation des paramètres de composition du milieu, comme par exemple la concentration en Ca^{2+} (Pellet et al., 2009; Wright, 1980). L'un des phénomènes de compétition le plus étudié dans les milieux dulçaquicoles est celui qui se produit entre les ions libres calciques (Ca^{2+}) et le Cd^{2+} . Si le Cd

(élément non-essentiel) ne possède pas de voie d'accumulation lui étant spécialement dédié, sa forme ionique Cd^{2+} et le Ca^{2+} possède des radii¹¹ et des propriétés physico-chimiques analogues (Pedersen et Bjerregaard, 2000). Le Cd peut donc utiliser les voies d'internalisation du calcium pour passer les barrières biologiques, entraînant un phénomène de compétition entre les ions Ca^{2+} et Cd^{2+} (Wood et al., 2006). Ainsi, il a été démontré chez la truite *Oncorhynchus mykiss*, que l'augmentation de la dureté de l'eau (augmentation de la présence d'ions Ca^{2+} dissous dans l'eau) ou qu'une supplémentation en calcium dans l'alimentation diminue la bioaccumulation du Cd (Baldisserotto et al., 2004; Wood et al., 2006). Ce même phénomène a également été rapporté chez des invertébrés dulçaquicoles comme le gammare *G. pulex* (Pellet et al., 2009; Wright, 1980), ainsi que chez le crabe marin *Carcinus mediterraneus* (Lucu et Obersnel, 1996).

La concentration du métal étudié en elle-même peut également impacter son accumulation par l'organisme, puisqu'elle peut conduire à des phénomènes de saturation limitant progressivement les capacités d'accumulation (Frías-Espéricueta et al., 2022; Scheibener et al., 2021). Cette dépendance de l'accumulation vis-à-vis de la concentration externe est une question récurrente dans la littérature (McGeer et al., 2003; Sarabia et al., 2006; Shuhaimi-Othman et Pascoe, 2007; Yen Le et al., 2021). En effet, lorsque la concentration d'exposition des métaux dissous dans l'environnement augmente, il a déjà été démontré que les valeurs de facteurs de bioconcentration (ab. BCF pour BioConcentration Factor en anglais) dans les organismes entiers ont tendance à diminuer (Shuhaimi-Othman et Pascoe, 2007; Van Den Brink et al., 2019). Cette relation négative entre la concentration d'exposition et les valeurs de BCF a d'ailleurs déjà été démontrée pour le Cd chez les organismes entiers pour les amphipodes d'eau douce *Gammarus pulex* et *Hyallela azteca* (Stephenson et Turner, 1993; Vellinger et al., 2012b, 2012c). Ce phénomène pourrait entre autre s'expliquer par une influence de la concentration d'un métal sur les mécanismes régissant sa propre internalisation, ayant pour conséquences la saturation des cellules chlorées ou l'inhibition de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase pour l'exemple du Cd (Birceanu et al., 2008; Vellinger et al., 2012b). Si la plupart des études concernant la dépendance à la concentration ont été effectuées sur des organismes entiers, l'hypothèse d'une dépendance de la concentration au niveau de l'organe peut aussi être faite (Amyot et al., 1996; Pourang et al., 2004). En effet, un phénomène de saturation spécifique peut s'effectuer au niveau de certains organes, notamment ceux impliqués dans les mécanismes d'entrée des ETM, comme les branchies de la truite *O. mykiss* (Birceanu et al., 2008; cf 3.1.1). Ainsi, même si cela n'a pratiquement pas été étudié, il est tout à fait plausible que les organes

¹¹ Le radius ionique est une mesure du rayon des ions utilisée en physique pour caractériser la taille des ions, ayant l'ångström (Å) pour unité. Le radius de Cd^{2+} est de 0,9 Å, tandis que le radius de Ca^{2+} est de 0,99 Å (Schaller et al., 2011b).

de transit ou de stockage, comme les intestins, les branchies ou les caeca puissent avoir une capacité de bioaccumulation, ou montrer un devenir différent pour les métaux selon la concentration à laquelle l'organisme est exposé (Vijver et al., 2004; Wang et Rainbow, 2008).

3.3.2. Facteurs biotiques

Les facteurs, ou paramètres, biotiques comprennent tous les paramètres biochimiques, physiologiques, biologiques et comportementaux d'un individu qui vont directement impacter la bioaccumulation d'un métal (Besse et al., 2012; Golovanova, 2008).

Tout d'abord l'accumulation des métaux au sein d'un organisme va être soumise à l'influence de facteurs physiologiques liés à l'âge, au sexe, à la taille et au stade de développement des organismes (Metian et al., 2019; Pourang et al., 2004; van Hattum et al., 1996). Chez la truite *Oncorhynchus mykiss*, il a été établi que la concentration en Cd était moins importante chez les individus âgés de 14 à 16 mois par rapport aux individus adultes (Camusso et al., 1995). L'une des explications données est que la différence d'accumulation serait liée à la variation du taux d'élimination en fonction de l'âge des individus (Camusso et al., 1995). Chez le poisson d'eau douce *Abramis brama*, une corrélation positive entre la dégradation de la condition physiologique des organismes et leur charge totale en ETM, notamment pour le Cd et le Zn, a également été démontrée (Farkas et al., 2003).

Des facteurs physiologiques d'ordres comportementaux comme la motilité, le taux de respiration, le choix et la qualité des proies ou de la nourriture vont également avoir une forte influence sur la capacité de bioaccumulation des contaminants (Dutton et Fisher, 2011). Chez le bivalve *Corbicula fluminea*, il a été montré qu'un milieu hypoxique entraîne un état d'hyperventilation des palourdes qui induit une augmentation de l'hydrodynamisme de l'eau et donc une augmentation de la bioaccumulation du Cd (Tran et al., 2001). De nombreuses études issues de la littérature soulignent également l'importance de l'influence du type de nourriture sur l'efficacité d'assimilation des métaux et donc leurs processus de bioaccumulation (Dubois and Hare, 2009; Hadji et al., 2016; Nunez-Nogueira et al., 2006; Pouil et al., 2016; Van Campenhout et al., 2009; Wang and Fisher, 1999). Chez le poisson euryhalin et omnivore *Fundulus heteroclitus*, il a été démontré que les AE pour le mercure et le chrome (Cr) sont plus élevées lorsqu'il consomme des vers de l'espèce *Lumbriculus variegatus* que lorsqu'il consomme des gammarus de l'espèce *Leptocheirus plumulosus*. En effet, il s'avère que l'exosquelette de *L. plumulosus* rend moins digestes et moins disponibles les métaux que les tissus mous de *L. variegatus* (Dutton et Fisher, 2011). Cela concorde également avec d'autres résultats obtenus chez les poissons *Menidia menidia* et *Menidia beryllina* pour le Cd, le cobalt (Co) et le Zn (Reinfelder et Fisher, 1994). De plus, il a déjà été établi chez certains crustacés que les métaux accumulés dans les matrices végétales, composées de fibres et d'hémicellulose, étaient

moins bien assimilés par les organismes que ceux contenus dans les matrices animales, car leur digestion est plus complexe (Nunez-Nogueira et al., 2006b; Xu et Pascoe, 1994). L'AE d'un métal dépend aussi de plusieurs autres facteurs biotiques dont la taille du tractus digestif et le taux d'ingestion, mais également de sa répartition subcellulaire dans les particules alimentaires ingérées (Hadji et al., 2016; Nunez-Nogueira et al., 2006b; Wang et Fisher, 1999a). Ainsi, la fraction de métal disponible pour le prédateur serait principalement contenue dans la fraction soluble de la proie, mais pourrait également inclure la fraction contenue dans les organelles (Pouil et al., 2016; Wallace et Lopez, 1996; Wallace et Luoma, 2003). Pourtant, à ce jour, peu d'études abordent l'influence du type de nourriture sur les taux d'accumulation, même chez les espèces les plus étudiées comme les poissons (Pouil et al., 2016).

Des changements phénotypiques (acclimatation) et modifications génétiques (adaptation) inter-populationnels vont également directement impacter la bioaccumulation des contaminants. Par exemple, certaines populations de gammarus exposées chroniquement au Cd ont montré une capacité d'accumulation et de gestion internes différente des métaux par rapport à d'autres populations qui n'ont jamais été exposées (Stuhlbacher et Maltby, 1992; Urien et al., 2017; Vigneron et al., 2015).

Enfin, des interactions inter-espèces, comme le parasitisme, influencent également la bioaccumulation des métaux (Sures, 2008). Par exemple, chez le poisson *Rastrineobola argentea*, il est connu que la présence de *Ligula intestinalis* dans son intestin augmente l'accumulation du Cd, du Cr et du Zn au niveau de l'organisme entier, notamment en modifiant la répartition sub-cellulaire des métaux dans les tissus (Oyoo-okoth et al., 2012).

3.4. Distribution, organotropisme et rôle des organes dans le devenir des ETM

Une fois les barrières biologiques passées, les métaux vont être acheminés vers les différents organes et tissus de l'individu. Selon qu'ils soient essentiels ou non, selon leur spéciation et selon le métal lui-même, les ETM sont différemment pris en charge dans le processus de distribution et de détoxification de l'organisme (Rainbow, 2002). En effet, la bioaccumulation des métaux au niveau des différents organes d'un individu n'est pas homogène et est métal-spécifique (Cresswell et al., 2015). Le terme d'**organotropisme** caractérise le fait qu'un contaminant s'accumule préférentiellement dans un organe plutôt qu'un autre, au cours du temps. La forte concentration de métaux dans certains tissus et/ou organes en particulier est bien souvent directement liée à la composition physico-chimique et au processus métabolique des tissus ainsi qu'à la fonction des organes (Miquel, 2000). Il a ainsi été démontré chez les crustacés que les métaux essentiels et non

essentiels sont distribués dans différents organes en lien avec leur fonction métabolique, de détoxification et/ou de stockage (Nunez-Nogueira et al., 2006a). Il a ainsi été démontré que les intestins peuvent effectivement représenter un site important d'accumulation des métaux *in vivo*, avant de servir de source secondaire permettant une distribution vers d'autres organes, comme c'est le cas pour l'accumulation de Hg chez le poisson marin *Siganus canaliculatus* (Peng et al., 2016). Des organes comme le foie, les reins, les glandes digestives et les caeca, dont le rôle de détoxification et de stockage est aujourd'hui largement connu et démontré chez les poissons, les bivalves et les crustacés, sont souvent des organes accumulateurs privilégiés pour les métaux (Ahearn et al., 2004; Amiard et al., 2006; Cresswell et al., 2017a; Huang et al., 2020; Nassiri et al., 2000; Ortega et al., 2017; Penicaud et al., 2017; Rainbow et Luoma, 2011b; Soegianto et al., 2013; Sterling et al., 2007). Chez la seiche, un grand nombre d'études rapportées par Penicaud et al., (2017) ont montré un fort organotropisme de l'Ag, du Cd, et du Zn pour la glande digestive. Chez le bivalve *Meretrix meretrix*, il a été démontré que les branchies sont un organe cible dans la bioaccumulation du Cd, identifiées comme étant un important organe de stockage pour ce métal (Huang et al., 2007).

Les données disponibles dans la littérature concernant la distribution du Cd et du Zn au sein des organes d'organismes aquatiques ont été compilées dans le [Tableau I-1](#). Ce tableau montre qu'un grand nombre d'études au niveau d'organisation des organes/tissus sont acquises par prélèvements ponctuels d'organismes *in situ* ([Tableau I-1](#)). Il en ressort également que lorsque les organismes sont exposés au Cd par la voie dissoute en laboratoire, celui-ci a plutôt tendance à s'accumuler dans les branchies et l'hépatopancréas pour les crustacés ; et les branchies, les reins et le foie chez les poissons ([Tableau I-1](#)). Or, lors d'une contamination en Cd par la voie trophique ce sont uniquement les organes digestifs (hépatopancréas, foie, reins, intestins) qui présenteront les plus fortes concentrations ([Tableau I-1](#)). Ces études montrent donc une différence de distribution du Cd entre les organes en fonction de la voie de contamination ([Tableau I-1](#)). Pour le Zn, il peut être observé que la tête et les glandes antennaires concentrent fortement cet élément essentiel ([Tableau I-1](#)). L'une des études portant sur *Macrobrachium australiense* montre d'ailleurs que les yeux concentrent fortement le Zn, puisqu'il est connu chez les décapodes cet ETM essentiel joue un rôle métabolique dans les processus de vision de ces organismes (Cresswell et al., 2015). Il est intéressant de noter que pour les organismes prélevés *in situ*, ce sont majoritairement les organes digestifs, avant les branchies, qui sont les plus concentrés.

Tableau I-1. Synthèse des données existantes dans la littérature concernant la distribution du Cd et du Zn dans les tissus de différents organismes aquatiques indiquant la voie d'exposition lorsque les organismes ont été exposés en laboratoire.

Auteurs	Modèle biologique	Métal	Contamination	Voie	Rank des organes considérant l'organe le plus concentré en métal, au moins concentré
Aamir et al. (2020)	<i>Sperata sarwari</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Reins > Foie > Branchies > Muscles > Peau
Amyot et al. (1996)	<i>Gammarus fasciatus</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas ≈ Intestins > Exosquelette ≈ Oeufs ≈ Tissus restants > Ovaires
Amyot et al. (1996)	<i>Gammarus fasciatus</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Intestins > Hépatopancréas ≈ Oeufs > Tissus restants > Ovaires > Exosquelette
Baldissero et al. (2004)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Reins ≈ Foie > Globules rouges > Plasma > Carcasse
Chouvelon et al. (2019)	<i>Sardina pilchardus</i> et <i>Engraulis encrasiolus</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Foie > Gonades > Tissus restants > Muscles
Chouvelon et al. (2019)	<i>Sardina pilchardus</i> et <i>Engraulis encrasiolus</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Gonades > Foie > Tissus restants > Muscles
Cresswell et al. (2015)	<i>Macrobrachium australiense</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Hépatopancréas > Glandes antennaires > Estomac > Tractus gastro-intestinal > exosquelette > Tissus abdominaux
Cresswell et al. (2015)	<i>Macrobrachium australiense</i>	Zn	Laboratoire	Dissoute	Hépatopancréas > Yeux > Branchies > Tissus abdominaux ≈ Exosquelette
Cresswell et al. (2017a)	<i>Macrobrachium australiense</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Hépatopancréas >> Glandes antennaires > Estomac
Darmono et Denton (1990)	<i>Penaeus merguensis</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Branchies > Muscles
Darmono et Denton (1990)	<i>Penaeus monodon</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Branchies > Muscles
Darmono et Denton (1990)	<i>Penaeus monodon</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Branchies > Muscles
Farkas et al. (2003)	<i>Abramis brama</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Foie > Branchies > Muscles
Franklin et al. (2005)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Reins > Foie > Estomac > Carcasse
Franklin et al. (2005)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Trophique	Reins > Estomac ≈ Foie > Branchies > Carcasse
Handy et al. (1993)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Trophique	Foie > Branchies ≈ Reins > Muscles
Hopkin et al. (1982)	<i>Oniscus asellus</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Intestins > Restes
Hopkin et al. (1982)	<i>Oniscus asellus</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Intestins > Restes
Huang et al. (2020)	<i>Meretrix meretrix</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Manteau > Hépatopancréas > Pied
Ma et al. (2008)	<i>Sinopotamon henanense</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Hépatopancréas > Muscles > Ovaires
Mendez et al. (1997)	<i>Penaeus californiensis</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Exosquelette > Hépatopancréas > Muscles
Mendez et al. (1997)	<i>Penaeus californiensis</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Muscles > Exosquelette
Ng et al. (2008)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Trophique	Intestins > Reins > Carcasse > Foie > Branchies
Nunez-Nogueira et al. (2005)	<i>Penaeus indicus</i>	Zn	Laboratoire (phase d'exposition)	Dissoute	Hépatopancréas > Coeur > Exosquelette > Muscle > Branchies > Glandes antennaires > Restes
Nunez-Nogueira et al. (2005)	<i>Penaeus indicus</i>	Zn	Laboratoire (phase de dépuraction)	Dissoute	Branchies > Hépatopancréas > Restes > Muscles > Coeur > Glandes antennaires ≈ Exosquelette
Paez-Osuna et Tron-Mayen (1995)	<i>Penaeus californiensis</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Branchies > Glandes antennaires > Exosquelette > Muscles
Paez-Osuna et Tron-Mayen (1995)	<i>Penaeus californiensis</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Glandes antennaires > Branchies > Exosquelette > Muscles
Pourang et Amini (2001)	<i>Penaeus merguensis</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Carapace (incluant l'hépatopancréas) > Exosquelette > Muscles
Pourang et Amini (2001)	<i>Penaeus merguensis</i>	Zn	<i>In situ</i>	/	Carapace (incluant l'hépatopancréas) > Muscles > Exosquelette
Rocha et al. (2015)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Glande digestive > Branchies > Tissus restants > Hémolymph
Shalini et al. (2020)	<i>Portunus sanguinolentus</i> <i>Charybdis natator</i> et <i>Penaeus semisulcatus</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Glande digestive > Branchies > Manteau
Shalini et al. (2020)	<i>Doryteuthis sibogae</i> <i>Cistopus indicus</i> et <i>Sepia pharaonis</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Glande digestive > Branchies > Muscles
Souid et al. (2013)	<i>Sparus aurata</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Intestins > Foie > Branchies > Muscles dorsaux
Szebedinsky et al. (2001)	<i>Onorhynchus mykiss</i>	Cd	Laboratoire	Trophique	Intestins > Reins > Foie >> Carcasse ≈ Branchies > Cerveau
Van Hattum et al. (1996)	<i>Asellus aquaticus</i>	Cd	<i>In situ</i>	/	Hépatopancréas > Intestins > Tête > Exosquelette
Van Hattum et al. (1996)	<i>Asellus aquaticus</i>	Zn	<i>In situ</i> (site peu contaminé)	/	Hépatopancréas > Tête > Exosquelette > Intestins
Van Hattum et al. (1996)	<i>Asellus aquaticus</i>	Zn	<i>In situ</i> (site contaminé)	/	Intestins > Hépatopancréas > Exosquelette > Tête
Wiech et al. (2018)	<i>Cancer pagurus</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Branchies > Hépatopancréas > Hémolymph ≈ Muscles ≈ Gonades
Wiech et al. (2018)	<i>Cancer pagurus</i>	Cd	Laboratoire	Trophique	Hépatopancréas > Branchies ≈ Gonades > Muscles ≈ Hémolymph
Yesilbudak et al. (2014)	<i>Oreochromis niloticus</i> et <i>Cyprinus carpio</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Reins > Foie > Branchies > Muscles
Zhang et al. (2019)	<i>Danio rerio</i>	Cd	Laboratoire	Dissoute	Foie > Intestins > Branchies > Cerveau > Gonades > Carcasse

S'il existe des études ayant analysé la quantité de métal accumulée dans différents organes au cours du temps chez les poissons, très peu d'études ont été menées dans ce domaine chez les macro-invertébrés d'eau douce (Gao et al., 2019; Grech et al., 2019; Huang et al., 2012; Szebedinsky et al., 2001). En effet, dû au très faible nombre de données chez les invertébrés, obtenues généralement par prélèvements *in situ* et sans suivi cinétique de la bioaccumulation au cours du temps, des conclusions concernant les mécanismes de bioaccumulation, de distribution

et de devenir des métaux au sein des organes n'ont pas pu être établies avec certitude chez les invertébrés d'eau douce (Amyot et al., 1996; O'Callaghan et al., 2019). Pourtant, connaître la cinétique de bioaccumulation des métaux dans les organes au cours du temps permettrait de décrire leurs processus ADME et *in fine* de prédire un schéma global de gestion des ETM, améliorant ainsi la compréhension du devenir des métaux dans les organismes (Grech et al., 2017).

IV. La modélisation toxico-cinétique (TK) pour comprendre la bioaccumulation et le devenir des ETM chez les organismes aquatiques

La modélisation est une approche mathématique de formalisation des processus biologiques, physiques et chimiques connus. Il existe d'ailleurs, en écotoxicologie, une grande variété de modèles dont le choix est caractérisé par : i) la question scientifique posée ; ii) le niveau d'organisation biologique étudié ; et iii) les données disponibles. Les modèles toxico-cinétiques (TK) sont utilisés dans le cadre de l'évaluation du risque environnemental (ERE) pour décrire les processus impliqués dans la bioaccumulation des substances, (Grech et al., 2017; Urien et al., 2015). Cependant, afin que les modèles puissent être utilisés en ERE et éventuellement généralisés à un groupe de substances et/ou un groupe d'espèces, leur application doit respecter un équilibre entre simplicité, réalisme et généricité (Grech et al., 2017; Wang et Tan, 2019).

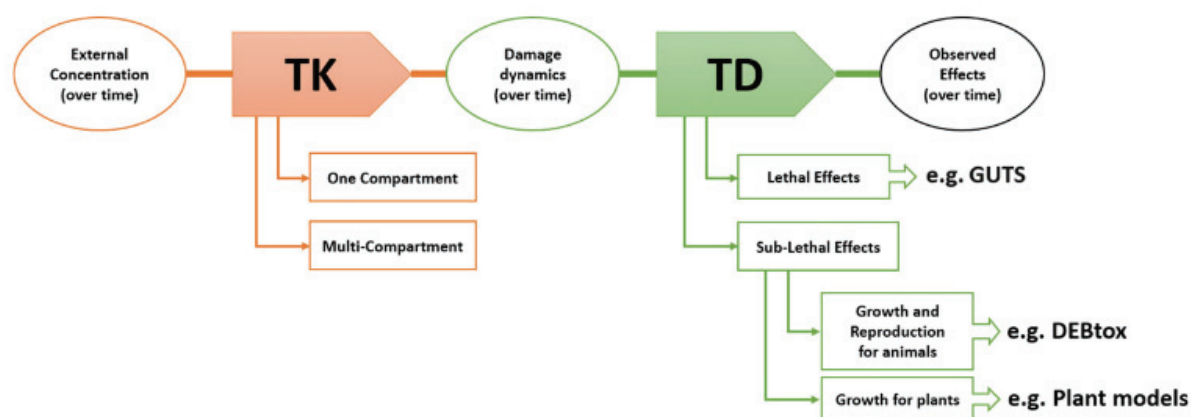


Figure I-6. Schématisation des deux parties composant les modèles TKTD, permettant *in fine* de relier la concentration d'un contaminant dans le milieu aux effets observés, au cours du temps. Les parties TK (toxico-cinétique) et TD (toxico-dynamique) sont elles-mêmes des catégories de concepts de modèles.

Dans les milieux aquatiques, les modèles TKTD (« Toxico-Cinétique Toxico-Dynamique ») sont utilisés pour décrire le lien entre la concentration d'exposition en contaminants, la concentration bioaccumulée et les effets toxiques induits (Baudrot et Charles, 2019; Ockleford et al., 2018; Wang et Tan, 2019). Ces modèles comportent deux parties bien distinctes (Figure I-6) : i) la partie TK, pour toxico-cinétique¹², qui fait le lien entre la concentration d'exposition et la concentration

¹² De l'anglais « Toxico-Kinetic ».

bioaccumulée via les processus ADME et décrit le devenir des contaminants dans l'organisme ; et ii) la partie TD, pour toxico-dynamique, qui caractérise les effets d'un contaminant sur l'individu à partir de la concentration bioaccumulée (p. ex. : mortalité, modulation de la croissance ou de la reproduction) (Baudrot et al., 2018a; Delignette-Muller et al., 2017; Grech et al., 2017; Ratier et al., 2019).

Parmi les modèles TKTD, aujourd'hui les plus aboutis pour une utilisation en ERE sont les modèles GUTS qui décrivent les effets sur la survie des organismes et dans une moindre mesure les modèles DEBtox qui proposent une vision intégrée des effets sur la reproduction et la croissance en fonction du temps et de la concentration externe (Jager, 2020; Jager et Ashauer, 2018). La précision obtenue de la description des effets (partie TD) dépendra, *in fine*, de la précision qui a été apportée au niveau de la partie TK. Or, les modèles de type GUTS et DEBtox actuellement développés ont une partie TK « réduite » basée sur une concentration interne « normalisée », qui est extrapolée à partir de la concentration dans le milieu extérieur (généralement l'eau chez les organismes aquatiques). Cette partie TK simplifiée est due au manque de données existantes sur les cinétiques de bioaccumulation (Baudrot et al., 2018b; Jager et Ashauer, 2018; Ockleford et al., 2018).

Dans les travaux effectués au cours de cette thèse, la question scientifique porte sur l'amélioration de la connaissance des mécanismes de bioaccumulation par la compréhension des processus ADME et du devenir des métaux au niveau des organes d'un organisme dulçaquicole par description de flux de contaminants. La suite du travail bibliographique de cette partie portera donc exclusivement sur la description et l'application de **modèles toxico-cinétiques (TK)** chez les organismes aquatiques, principalement en eau douce.

4.1. Principes et généralités concernant les modèles TK

Les modèles TK utilisés en écotoxicologie aquatique ont été développés par Landrum et al., (1992) au début des années 90, en se basant sur le principe des modèles existants qui étaient jusqu'alors uniquement utilisés en toxicologie humaine. La présente appellation de « modèle toxico-cinétique » est retrouvée dans la littérature sous de nombreux autres termes : modèles bio-cinétiques, modèles biodynamiques et modèles (à base) bioénergétiques, comme référencés dans la revue scientifique de Wang et Tan (2019). Les modèles TK formalisent la variation de concentration d'un contaminant dans un compartiment au cours du temps et en fonction de sa concentration dans le milieu externe (c.-à-d. l'eau, les sédiments et la nourriture pour les organismes strictement aquatiques). Les modèles TK peuvent être composés d'un ou plusieurs compartiment(s), avec un compartiment pouvant correspondre à un organisme entier (seulement

pour les modèles TK à un compartiment), un organe ou un tissu (Figure I-7). Les paramètres cinétiques représentent les processus biologiques à décrire (Figure I-7). Ils dépendent de la question biologique et du niveau d'organisation biologique étudié. Ces paramètres sont le(s) taux d'accumulation du contaminant du milieu vers l'intérieur du compartiment considéré et le(s) taux d'élimination du contaminant de l'intérieur de l'organisme ou d'un organe vers le milieu extérieur (Figure I-7). Mais les modèles TK peuvent également avoir une conception plus physiologique en intégrant des paramètres physiologiques (p. ex. taux de croissance, taux d'ingestion, etc.) ou en représentant les flux de transfert de contaminants d'un organe i vers un organe j (Figure I-7), voire même des flux de transfert entre le liquide circulant¹³ et un organe, pour les modèles toxicocinétiques particuliers (semi-)basés sur la physiologie (PBTk ou PBPK¹⁴). Il est également possible de considérer les phénomènes de biotransformation des contaminants dans les modèles TK, pour décrire la métabolisation de molécules organiques et/ou la (dé)méthylation biotique de métaux (mercure et arsenic) (Ratier et al., 2021). Cependant pour le Cd et le Zn, ces processus n'ont pas lieu d'être étudiés dans les organismes et ils ne seront donc pas approfondis dans la suite de ce manuscrit.

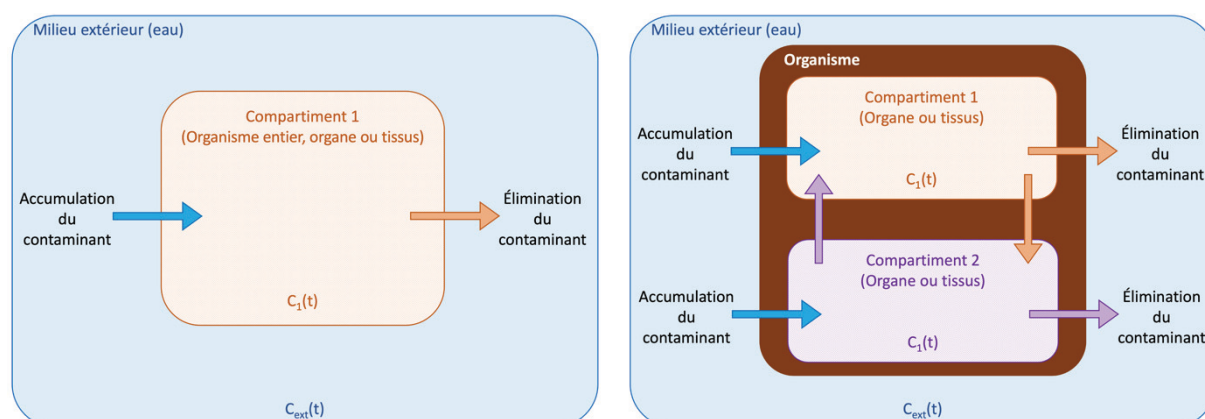


Figure I-7. Illustration d'un modèle TK un-compartiment (à gauche) et exemple d'une possibilité de modèle TK multi-compartiments comprenant en compte les échanges entre deux compartiments (à droite).

Les modèles TK vont donc décrire la variation de la concentration de métal bioaccumulé au cours du temps en fonction de la concentration d'exposition, *via* les paramètres cinétiques qui traduisent les processus d'accumulation et d'élimination du métal considérés. L'estimation de ces paramètres cinétiques nécessite de disposer : i) des données de concentration d'exposition en contaminant dans la(les) matrice(s) considérée(s) (eau et/ou nourriture et/ou sédiments) ; ii) de données de concentrations internes à différents pas de temps durant la phase d'exposition au contaminant ; et iii) si possible, suivies de données de concentrations internes à différents pas de temps en condition

¹³ c.-à-d. le sang, l'hémolymphe ou la sève selon l'organisme étudié.

¹⁴ de l'anglais « Physiologically Based Toxicokinetic » et « Physiologically Based Pharmacokinetic », respectivement.

propre (dépourvue de toute contamination) dans laquelle l'organisme est placé suite à la phase d'exposition. En effet, en phase d'accumulation le contaminant va à la fois s'accumuler et s'éliminer de l'organisme selon les processus considérés, avec un ou plusieurs taux d'accumulation et un ou plusieurs taux d'élimination, respectivement (Figure I-8). La concentration du métal dans l'organisme, à un temps t d'exposition, résulte donc de ces deux processus qui s'opèrent simultanément mais qu'il est impossible de dissocier pendant cette phase d'accumulation. En phase de dépuración, le contaminant va uniquement s'éliminer mais en gardant les mêmes processus que dans la phase d'accumulation (Figure I-8). En prenant en compte les données issues d'une phase d'accumulation suivie d'une phase de dépuración, il sera alors possible de dissocier l'accumulation de l'élimination en phase d'accumulation grâce aux données en phase de dépuración où seuls les processus d'élimination opèrent.

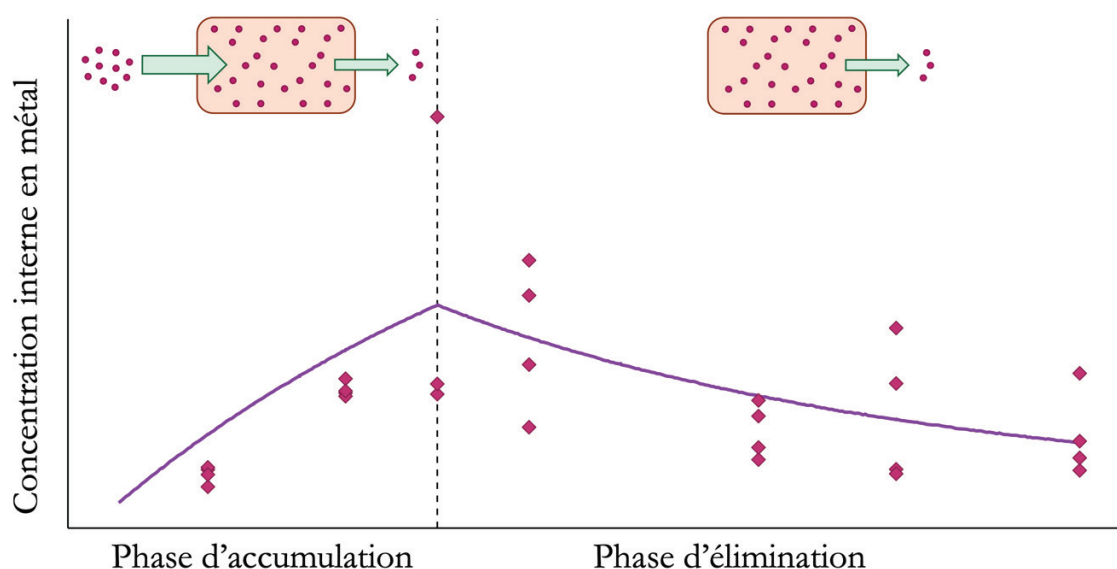


Figure I-8. Illustration des différentes phases mises généralement en place lors des expérimentations visant à étudier la bioaccumulation, et les processus biologiques impliqués.

Dans une revue de la littérature effectuée en 2017, Grech et al. ont montré que sur 349 études 43% des travaux concernaient un métal ou un métalloïde et que seulement 14% des études utilisaient des crustacés aquatiques ou terrestres. La plupart des modèles TK, notamment les plus complexes, tels que les multi-compartiments et les PBTK, ont été développés chez les poissons, organismes pour lesquels l'acquisition de données de concentrations dans différents organes est plus facile. En effet, plus un organisme est petit, plus la dissection est difficile et plus la marge d'erreur autour des variables biologiques (poids des organes) ou chimiques (limites de détection analytiques) mesurées est grande, induisant des difficultés à quantifier les concentrations dans les petits organismes (Grech et al., 2019; Wang et Tan, 2019). Si les modèles TK permettent d'étudier l'importance relative des différentes voies d'accumulation en implantant des données

d'accumulation par voies dissoute et trophique, il existe à ce jour peu de modèles prenant en compte la voie trophique, principalement par manque de données expérimentales (Nichols et al., 2004; Wan et al., 2013; Yang et al., 2013).

4.1.1. Modèles TK mono-compartiment

Le modèle TK mono-compartiment décrit la bioaccumulation au cours du temps d'un contaminant dans un compartiment unique considéré comme étant homogène (Gao et al., 2019; Grech et al., 2017; Ockleford et al., 2018; Ratier et al., 2019; Stadnicka et al., 2012; Wang et Tan, 2019). Si par exemple, une accumulation *via* l'eau et la nourriture et uniquement de l'excrétion comme processus d'élimination sont considérées, alors l'équation décrivant la variation de concentration du métal dans le compartiment unique au cours du temps peut s'écrire selon l'équation 1 :

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = k_u \times C_w(t) + k_f \times C_f(t) - k_e \times C_i(t) \quad (1)$$

avec $C_i(t)$ la concentration interne en métal dans le compartiment i au temps t ; $C_w(t)$ la concentration dans l'eau au temps t , k_u le taux d'accumulation à partir de l'eau, $C_f(t)$, la concentration en contaminant dans la nourriture au temps t , k_f le taux d'accumulation à partir de la nourriture, et k_e le taux d'élimination. Dans le cas où des données d'efficacité d'assimilation et de taux d'ingestion (IR) sont disponibles, k_f est remplacé par « $AE \times IR$ ».

Il est important de noter que l'équation peut être adaptée selon les conditions d'expérimentation utilisées et les processus considérés. Ainsi, elle peut être simplifiée en ne prenant en compte qu'une seule voie d'accumulation, dissoute ou trophique, en fixant alors la concentration dans l'eau ou dans la nourriture à zéro. Cependant, elle peut également être complexifiée en prenant en compte d'autres variables d'accumulation comme le taux d'accumulation de contaminant par les sédiments, k_{sed} , pour les organismes (endo)benthiques (Ratier et al., 2019). De plus, si l'accumulation provenant de différents types de nourriture est testée simultanément, le taux d'accumulation propre à chaque type de nourriture pourra être estimé (Wang et Rainbow, 2008). Cependant dans la plupart des cas, l'utilisation de modèles TK ne considère qu'une voie unique de contamination à la fois (Lebrun et al., 2014a). Concernant les processus d'élimination, ils peuvent être divers : biotransformation, croissance et/ou excrétion, comme vu ci-dessus (section 3). Par l'utilisation des modèles TK mono-compartiment, ces divers mécanismes d'élimination peuvent être pris en compte, à condition d'avoir les données correspondantes : données de croissance au cours de l'expérimentation, données de concentration internes en métabolites, etc. (MacKay et Fraser, 2000;

(Ratier et al., 2021, 2019). L'une des récentes avancées majeures dans l'implémentation des modèles TK mono-compartiment est l'écriture d'un modèle générique couplé à sa résolution analytique dans des conditions de concentration d'exposition constante (Ratier et al., 2019). Ainsi, ces auteurs ont formalisé les modèles TK à un compartiment sous une forme générique, adaptable selon les processus considérés :

$$\begin{cases} \frac{dC(t)}{dt} = \sum_{i=1}^n (k_i \times C_i(t)) - \sum_{j=1}^p (k_j \times C(t)) & \text{si } t \leq t_c \quad (2) \\ \frac{dC(t)}{dt} = - \sum_{j=1}^p (k_j \times C(t)) & \text{si } t > t_c \quad (3) \end{cases}$$

où $C(t)$ est la concentration interne au temps t , n est le nombre de sources de contamination, k_i le taux d'accumulation à partir de la source i ($i=1..n$), $C_i(t)$ la concentration en contaminant dans la source i au temps t , p le nombre de processus d'élimination considérés, k_j le taux d'élimination du processus j et t_c la durée de la phase d'accumulation.

Si, comme tel est souvent le cas en conditions de laboratoire, la concentration d'exposition est considérée comme étant constante au cours temps, les équations (2) et (3) peuvent être résolues analytiquement en séparant les phases d'accumulation (Eq. 4) et d'élimination (Eq. 5) :

$$\begin{cases} C(t) = \frac{\sum_{i=1}^n (k_i \times C_i)}{\sum_{j=1}^p k_j} + \left(C_0 - \frac{\sum_{i=1}^n (k_i \times C_i)}{\sum_{j=1}^p k_j} \right) \times e^{-(\sum_{j=1}^p k_j) \times t} & \text{si } 0 \leq t \leq t_c \quad (4) \\ C(t) = \frac{\sum_{i=1}^n (k_i \times C_i)}{\sum_{j=1}^p k_j} \times e^{-(\sum_{j=1}^p k_j) \times (t-t_c)} + \left(C_0 - \frac{\sum_{i=1}^n (k_i \times C_i)}{\sum_{j=1}^p k_j} \right) \times e^{-(\sum_{j=1}^p k_j) \times t} & \text{si } t > t_c \quad (5) \end{cases}$$

avec C_0 la concentration initiale (à t_0) du contaminant dans l'organisme.

Ces développements mathématiques rendent plus accessible la mise en place de modèles TK mono-compartiment et plus facile l'estimation des paramètres (Charles et al., 2018; Ratier et al., 2022b, 2019).

À ce jour, la quasi-totalité de la littérature concernant la bioaccumulation des métaux chez les invertébrés aquatiques s'est focalisée sur l'**organisme entier** (Hare et al., 2003). Parmi ces organismes, les plus étudiés à l'aide de modèles TK mono-compartiment sont chez les crustacés d'eau douce : la hyalle (*Hyalella azteca*, Golding et al., 2013), la daphnie (*Daphnia magna*, Scheibener et al., 2021; Tan et Wang, 2012), le gammare (*Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum*, Lebrun et al., 2011; Urien et al., 2017) et la lymnée (*Lymnaea stagnalis*, Croteau et al., 2011; Croteau et Luoma,

2008)) ; et chez les bivalves : la moule marine (*Mytilus galloprovincialis*, Rocha et al., 2015) ainsi que la moule d'eau douce (*Dreissena polymorpha*, Bourgeault et al., 2010). Ces études concernent principalement les métaux les plus étudiés : l'argent (Ag), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le mercure (Hg), le nickel (Ni), le plomb (Pb) et le zinc (Zn), mais aussi l'uranium (U). Cependant, dans la plupart des cas, regarder la toxico-cinétique d'un contaminant au niveau de l'organisme entier ne permet pas d'appréhender les processus ADME, le rôle des différents organes/tissus dans ces processus ou le devenir du contaminant dans l'organisme (Gao et al., 2019; Stadnicka et al., 2012).

Même s'ils sont beaucoup moins utilisés de cette manière, les modèles TK mono-compartiment peuvent également s'appliquer à l'échelle d'un tissu/organe (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). Ils permettent alors d'aborder la question de la capacité de bioaccumulation des organes d'un point de vue plus dynamique, mécaniste et physiologique que par l'utilisation de facteurs de bioconcentration (BCF). En effet, l'utilisation de modèles TK mono-compartiment à cette échelle permet d'obtenir les k_u et k_e d'un contaminant pour un compartiment/organe considéré, utiles dans la compréhension du rôle de l'organe ou du tissu dans les processus de gestion des contaminants (p. ex. stockage, élimination, etc. ; Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). Ainsi, à l'aide de modèles TK mono-compartiment chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, il a été démontré qu'un tissu comme la glande digestive, équivalent des caeca pour les crustacés, est un organe jouant un rôle important de stockage du Cd, pour les deux formes de Cd (Cd^{2+} et $CdTe$) testées (Rocha et al., 2015). L'utilisation de modèles TK à un compartiment à l'échelle de l'organe/tissu semble donc être un outil puissant et plus informatif que le BCF concernant la compréhension du devenir des contaminants au niveau des tissus. Il est cependant jusqu'à présent insuffisamment utilisé dans la littérature de cette manière. Ceci est principalement la conséquence d'un manque de données de concentration des contaminants au niveau des organes chez les petits organismes et à la mise en place systématique de modèles (PB)TK multi-compartiments chez les plus gros organismes aquatiques, tels que les poissons.

4.1.2. Modèles TK multi-compartiments

Les modèles TK multi-compartiments reprennent la modélisation des flux d'entrée et de sortie de contaminants au niveau de plusieurs compartiments, comme pour les modèles mono-compartiments, mais formalisent également les flux inter-compartiments (Grech et al., 2017; Stadnicka et al., 2012). Ils peuvent également modéliser le transfert des contaminants *via* le fluide circulatoire le l'organisme, considéré comme un compartiment à part entière dans le cas des modèles PBTK (Grech et al., 2019; Stadnicka et al., 2012; Wang et Tan, 2019; Zhang et al., 2019).

Leur formalisation implique *a minima* deux compartiments internes mis en relation, mais peuvent en comporter beaucoup plus. Estimer leurs paramètres nécessite d'avoir des données de concentration du contaminant dans différents organes, tissus et/ou différentes fractions métaboliques (Grech et al., 2017; Huang et al., 2012; Otero-Muras et al., 2010; Stadnicka et al., 2012; Wang et Tan, 2019). Ainsi les modèles TK utilisés, et le niveau de détail qui y sera associé, dépendront de la question biologique et de la disponibilité des données, souvent elles-mêmes conditionnées par la taille de l'organisme (Grech et al., 2017). Cependant, il faut garder à l'esprit que plus le nombre de compartiments augmente et plus la complexité du modèle augmente également (c.-à-d. le nombre de paramètres), accentuant dans le même temps le nombre de données nécessaires pour assurer la robustesse de l'estimation de l'ensemble des paramètres (Grech et al., 2017). Il est toujours préférable d'appliquer le principe de parcimonie, c.-à-d. utiliser le modèle expliquant au mieux les données avec le moins de paramètres (Spiegelhalter et al., 2002). Contrairement aux modèles TK mono-compartiment, les TK multi-compartiments ne peuvent pas être généralisés car ils dépendent de la physiologie de l'organisme considéré et sont donc spécifiques à l'espèce ou à un groupe d'espèces (Grech et al., 2017). Le nombre de compartiments peut varier selon l'espèce et/ou le contaminant étudié et/ou la question posée. Dans la littérature, les modèles trouvés oscillent entre 4 à 10 compartiments, avec une moyenne de 5 (Chen et Liao, 2014; Garnier-Laplace et al., 2000; Grech et al., 2017). La formalisation de ces modèles multi-compartiments est donc basée sur des équations couplées (une par compartiment et pour chaque phase d'exposition). A ce jour, aucun modèle multi-compartiments de la littérature n'a pu être résolu analytiquement (Wang et Tan, 2019).

Les organismes aquatiques pour lesquels les modèles TK multi-compartiments ont été développés sont les poissons, principalement via l'utilisation de modèles de type PBTK et pour les contaminants organiques (Campbell et al., 2012; Cohen Hubal et al., 2019; Grech et al., 2019, 2017; Stadnicka et al., 2012; Vidal, 2020; Wang et Tan, 2019; Wang et Wang, 2015; Zhang et al., 2019). Un modèle PBTK générique, prenant en compte la variabilité intra-espèces et différents facteurs environnementaux, a été récemment proposé pour quatre espèces de poissons (Grech et al., 2019). Parmi les études existantes, l'application de modèles PBTK a permis de mettre en évidence certains mécanismes ADME jusqu'alors insoupçonnés. Ainsi, à l'aide de modèles PBTK, il a pu être montré que l'intestin serait un site plus important que le foie dans la déméthylation du Hg chez la dorade grise *Aconthopagrus schlegeli* (Wang et al., 2017).

En ce qui concerne les amphipodes d'eau douce, à ce jour, l'étude des processus ADME et du devenir des contaminants au niveau des organes n'a jamais été effectuée et aucun modèle

(PB)TK multi-compartiments développé. En effet, comme vu précédemment, l'implémentation et le développement de ce type de modèle requièrent un minimum de données de concentrations en contaminants dans différents organes au cours du temps. Or, les contraintes liées aux techniques analytiques font qu'il existe moins, voire pas du tout, de données expérimentales de bioaccumulation et d'élimination dans les organes des petits organismes aquatiques, comme les gammarès.

4.2. Inférence Bayésienne

Comme tout modèle mathématique, un modèle TK est composé de deux parties. La première est la **partie déterministe** qui, comme définie plus haut (section 4.1), décrit comment la concentration interne du contaminant varie au cours du temps, en fonction de la concentration d'exposition et des différents paramètres qui reflètent les différents processus d'accumulation et d'élimination considérés. À cette partie déterministe est associée une **partie stochastique**, qui décrit la variabilité (l'aléas) autour de cette variation moyenne :

$$y = f(x, \theta) + \varepsilon \quad (6)$$

avec y représentant la variable observée (i.e. la concentration interne en contaminant), $f(x, \theta)$ étant la partie déterministe qui se compose d'une fonction (f) de la variable contrôlée x (ici la concentration d'exposition) et de θ le vecteur des paramètres devant être estimés. Cette fonction f correspond aux équations mentionnées ci-dessus (p. ex. l'Eq. 1 pour un modèle à un compartiment). Le paramètre ε représente ici la part de résidus stochastique du modèle. La variable considérée dans les modèles TK étant la concentration interne (variable continue), un modèle d'erreur Gaussien peut être utilisé pour décrire cette part aléatoire :

$$\varepsilon \sim \mathcal{N}(0, \sigma) \quad (7)$$

Où $\mathcal{N}$ représente la loi normale, centrée en 0 et d'écart-type σ (encore appelé écart-type résiduel), qui va caractériser la variabilité des données observées autour de la prédiction moyenne de la partie déterministe du modèle. Les équations (6) et (7) peuvent s'écrire en une seule :

$$y \sim \mathcal{N}(f(x, \theta), \sigma) \quad (8)$$

L'inférence statistique consiste à trouver le « meilleur » vecteur de paramètre θ de telle sorte que les prédictions du modèle « collent » le mieux aux données observées. L'inférence des paramètres fait référence à l'ajustement du modèle aux données.

Afin d'estimer les paramètres des modèles TK, différentes méthodes existent dans la littérature. Classiquement, une estimation séquentielle est réalisée : par exemple, les paramètres liés au(x) processus d'élimination sont estimés à partir des données de la phase de dépuration puis fixés pour estimer les paramètres d'accumulation à partir des données de la phase d'accumulation. Au cours de ces travaux, une **estimation simultanée** des paramètres a été utilisée. Cette méthode d'estimation consiste à prendre l'ensemble d'un jeu de données obtenu au cours d'une expérimentation pour estimer en même temps les différents paramètres par ajustement du modèle (p. ex. le modèle TK est ajusté simultanément aux données d'accumulation et de dépuration). L'estimation en simultané possède l'avantage d'obtenir une estimation plus robuste des paramètres en prenant en compte le fait que certains paramètres peuvent être corrélés, comme c'est le cas entre le taux d'accumulation k_u et d'élimination k_e (la corrélation étant structurellement liée au modèle).

L'inférence Bayésienne et l'inférence fréquentiste sont deux méthodes d'inférences statistiques qui possèdent toutes deux des avantages et des inconvénients d'application et d'implémentation déjà décrits dans la littérature (Ratier et al., 2019). Le but du présent travail n'étant pas de les comparer mais de présenter la méthode utilisée dans les différents travaux de cette thèse, seule l'**inférence Bayésienne** sera développée ultérieurement. En complément de la méthode d'estimation simultanée, la méthode d'inférence statistique appelée inférence Bayésienne a été choisie pour estimer l'ensemble des paramètres des différents modèles TK utilisés, à partir des données expérimentales obtenues dans le cadre des travaux composant cette thèse. L'essor de l'utilisation de cette méthode au début des années 2000 succède à la mise en place du projet BUGS¹⁵, fin des années 80, visant le développement de logiciels permettant l'application de cette approche. Le principe de l'inférence Bayésienne découle du théorème de Bayes, formulé selon l'Équation 9.

$$P(\theta|Y) = \frac{P(\theta) \times P(Y|\theta)}{P(Y)} \quad (9)$$

avec $P(\theta)$ la probabilité des paramètres, $P(Y|\theta)$ la probabilité des données connaissant les paramètres θ (i.e. la vraisemblance des données), $P(Y)$ la probabilité des données et $P(\theta|Y)$ la probabilité des paramètres connaissant les données Y , i.e. la distribution *a posteriori* des paramètres. Par conséquent, la distribution de probabilité *a posteriori* des paramètres est proportionnelle au produit de la distribution *a priori* des paramètres et de la vraisemblance des données (Eq. 10).

$$P(\theta|Y) \propto P(\theta) \times P(Y|\theta) \quad (10)$$

¹⁵ Projet BUGS, abréviation de Bayesian inference Using Gibbs Sampling.

Ainsi, l'inférence Bayésienne utilise l'information *a priori* sur les paramètres (tirée de la littérature et/ou d'expérimentations préliminaires) et des données observées pour *in fine* estimer la distribution de probabilité des paramètres (Figure I-9). L'information *a priori* sur les paramètres permet d'apporter du réalisme sur les processus reflétés par ces paramètres, selon les valeurs qu'ils peuvent prendre, et conduit à une estimation plus précise. L'information *a priori* peut être informative ou non informative selon les connaissances du processus, ou juste être basée sur la pertinence biologique. Par exemple, si le taux de croissance d'un organisme à partir de sa taille mesurée au cours du temps est cherché à être estimé, son prior sera forcément supérieur ou égal à 0, puisque la croissance d'un individu ne peut pas être négative. En sortie du processus d'inférence, une distribution *a posteriori* jointe est obtenue sur tous les paramètres, prenant ainsi en compte l'éventuelle corrélation pouvant exister entre eux (Figure I-9). De cette distribution jointe est tirée la distribution marginale pour chacun des paramètres, qui peut être résumée par : sa moyenne, sa médiane, son écart-type et ses quantiles à 2,5 et 97,5% représentant son intervalle de crédibilité à 95% (Figure I-9). Contrairement à l'intervalle de confiance à 95% utilisé dans le cadre de l'inférence fréquentiste (autre méthode d'inférence statistique) et correspondant au fait que la véritable valeur du paramètre estimé est contenue dans 95% des intervalles de confiance à 95% calculés, l'intervalle de crédibilité à 95% utilisé dans le cadre de l'inférence Bayésienne implique qu'il y a 95% de chances que le paramètre estimé se situe dans cet intervalle. L'interprétation de l'intervalle de crédibilité est triviale : pour un paramètre donné, sa « vraie » valeur a une probabilité de 95% d'être dans l'intervalle de crédibilité à 95%.

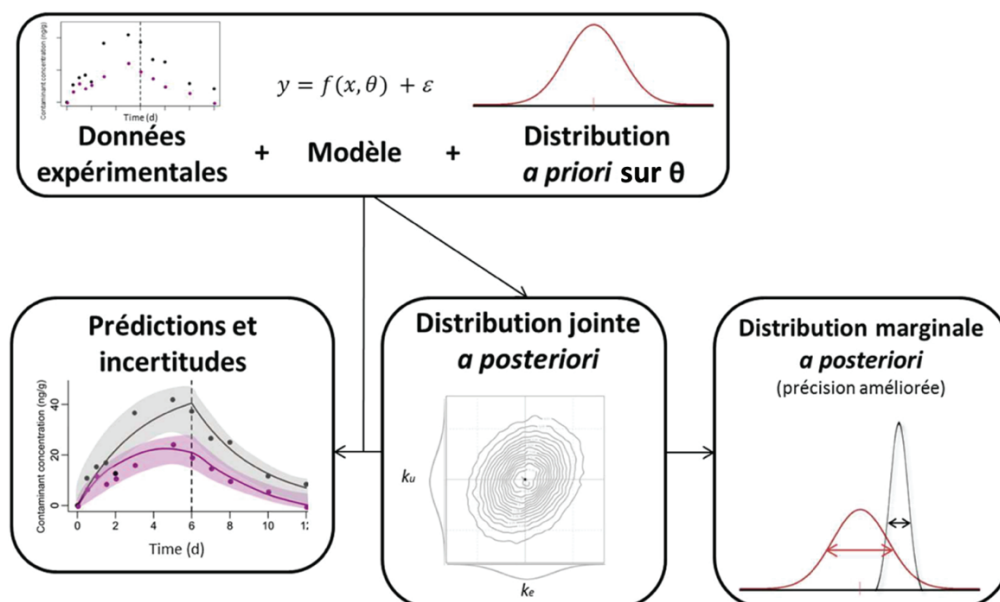


Figure I-9. Illustration du principe global de l'inférence Bayésienne. À partir de données expérimentales, du modèle (EDO déterministes et partie stochastique) et des informations *a priori*, sont obtenues une distribution jointe *a posteriori* des paramètres. Cette distribution jointe permet : i) de simuler le modèle et de superposer ses prédictions aux données ; ii) de définir la distribution *a posteriori* marginale pour chacun des paramètres, qui peut être superposée au prior pour visualiser le gain de précision apportée par les données. Source : (Ratier, 2019).

L'inconvénient principal de la méthode d'inférence Bayésienne est sa plus grande complexité d'implémentation et de mise en œuvre, mais celles-ci sont facilitées depuis quelques années par la mise à disposition d'outils (comme par exemple le package *rjags* du logiciel R). Cet inconvénient est cependant contrebalancé par de nombreux avantages. Tout d'abord, le cadre Bayésien offre la possibilité d'ajuster simultanément différents modèles sur différents jeux de données qui peuvent être de natures différentes (c.-à-d. continues comme les données de bioaccumulation et de croissance et/ou binaires comme les données de survie par exemple), tout en considérant pour chacune une partie stochastique adaptée (« Gaussienne » pour les données continues et « Binomiale » pour les données binaires par exemple). L'implémentation d'une partie stochastique autre que Gaussienne est relativement aisée en Bayésien. Ensuite, l'inférence Bayésienne donne l'opportunité de considérer les informations ou connaissances préalables sous la forme de distribution dite *a priori*. Il est important que les données, ressources et expertises utilisées pour définir les prior ne soient pas celles qui sont à ajuster : les priors doivent être définis avant de regarder les données. Les distributions *a priori* peuvent être : i) informatives, s'il existe déjà des données précises de même nature, ce qui permettra d'avoir une distribution *a priori* gaussienne empruntant la moyenne et la variance des données existantes (voire parfois la variance dans le prior est doublée ou triplée pour prendre en compte une déviation possible plus ou moins grande); ii) semi-informatives, pouvant par exemple être seulement binaires ou positives de par leur raison biologique, chimique, physique ou autre ; ou iii) non informatives, s'il n'existe pas de données ou informations, en définissant un prior sur une loi uniforme large ou sur une échelle logarithmique décimale si l'ordre de grandeur du paramètre n'est pas connu (permettant ainsi d'avoir la même probabilité d'obtenir des petites ou des grandes valeurs). Enfin, la distribution *a posteriori* obtenue après ajustement du/des modèle(s) est une distribution jointe sur tous les paramètres, qui intègre l'éventuelle corrélation entre les paramètres. La distribution *a posteriori* marginale obtenue pour chacun des paramètres peut alors renseigner : i) s'il y a suffisamment d'informations dans les données pour estimer de manière précise les paramètres, en superposant les distributions *a priori* et *a posteriori* ; et ii) sur la corrélation entre les paramètres par représentation des distributions *a posteriori* deux à deux. (Figure I-9).

L'estimation de la distribution jointe *a posteriori*, à partir de l'application du théorème de Bayes aux données expérimentales, est réalisé par échantillonnages successifs selon la méthode de Monte-Carlo par Chaînes de Markov (abrégée MCMC, pour Markov Chain Monte Carlo en anglais). Ainsi, un échantillonnage de valeurs va être effectué par tirages successifs de variables aléatoires allant de θ_1 à θ_i , par le biais d'algorithmes implémentés dans les logiciels WinBUGS ou JAGS (Plummer, 2003), avec une distribution de θ_i qui dépend uniquement de la valeur

précédemment tirée (θ_{i-1}). Ainsi, le processus de tirage de θ_i va parcourir l'espace des possibilités de valeurs de paramètres, défini par le prior. Un tirage correspond à une itération, dont le nombre total est défini en amont. Le choix du nombre d'itérations s'effectue selon un compromis prenant en compte un temps de calcul minimal pour une estimation suffisamment précise de la distribution *a posteriori* de θ , distribution à partir de laquelle les moyennes, variances et percentiles de θ seront estimés. Traditionnellement, trois chaînes MCMC partant de valeurs initiales hétérogènes sont implémentées soit les unes à la suite des autres, soit en parallèle. La convergence des chaînes est toujours vérifiée à la fin du processus d'inférence (Gelman et al., 1995).

Si l'utilisation de l'inférence Bayésienne est considérée comme récente en écotoxicologie et plus particulièrement pour estimer les paramètres cinétiques des modèles TK, les nombreux avantages qu'elle apporte et le récent développement d'interfaces et de packages R, facilitant son utilisation, font qu'elle est de plus en plus utilisée dans la modélisation (PB)TKTD (Bates et al., 2003; Bernillon et Bois, 2000; Billoir et al., 2008; Kon Kam King et al., 2015; Krauss et Schuppert, 2016; Plummer, 2003; Ratier et al., 2022b, 2022a, 2019). La plus-value de l'inférence Bayésienne a d'ailleurs récemment été démontrée dans un article scientifique qui a estimé des paramètres liés à la biotransformation de 22 molécules organiques provenant de 13 publications (Ratier et al., 2021). Les auteurs ont réussi, à l'aide de l'inférence Bayésienne, à estimer des paramètres que les auteurs des publications originales n'avaient pas réussi à estimer, ou qu'ils avaient fixés, tout en obtenant des incertitudes autour des paramètres de biotransformations généralement plus faibles (Ratier et al., 2021).

V. *Gammarus fossarum*, une espèce sentinelle des milieux d'eau douce

5.1. Écologie et caractéristiques biologiques

Gammarus fossarum Koch, 1836, est une espèce faisant partie de l'ordre des Amphipodes (*Amphipoda*) appartenant au sous-embranchement des crustacés (*Crustacea*), lui-même compris dans l'embranchement des Arthropodes (*Arthropoda*). Les espèces du genre *Gammarus* sont principalement présentes dans l'hémisphère Nord du globe terrestre. Plus de 200 espèces composent d'ailleurs ce genre, vivant pour la plupart dans les milieux d'eau douce (dulçaquicoles), mais pouvant également être marines ou terrestres (Kunz et al., 2010; Väinölä et al., 2008). *G. fossarum* est une espèce dulçaquicole autochtone de l'Europe, et largement distribuée de la France (à l'exception de la Bretagne, la Normandie et la Corse) à la Grèce (Figure I-10) (Goedemakers, 1981; Peeters et Gardeniers, 1998; Zivic et Markovic, 2007). Des organismes de l'espèce *G. fossarum* ont également été retrouvés en Asie Mineure (Karaman et Pinkster, 1977). De plus récentes études

ont cependant montré que sa distribution pourrait s'étendre au-delà, puisqu'en 2017 des organismes de l'espèce *G. fossarum* ont été retrouvés dans le sud de l'Angleterre (Blackman et al., 2017; Wattier et al., 2020).

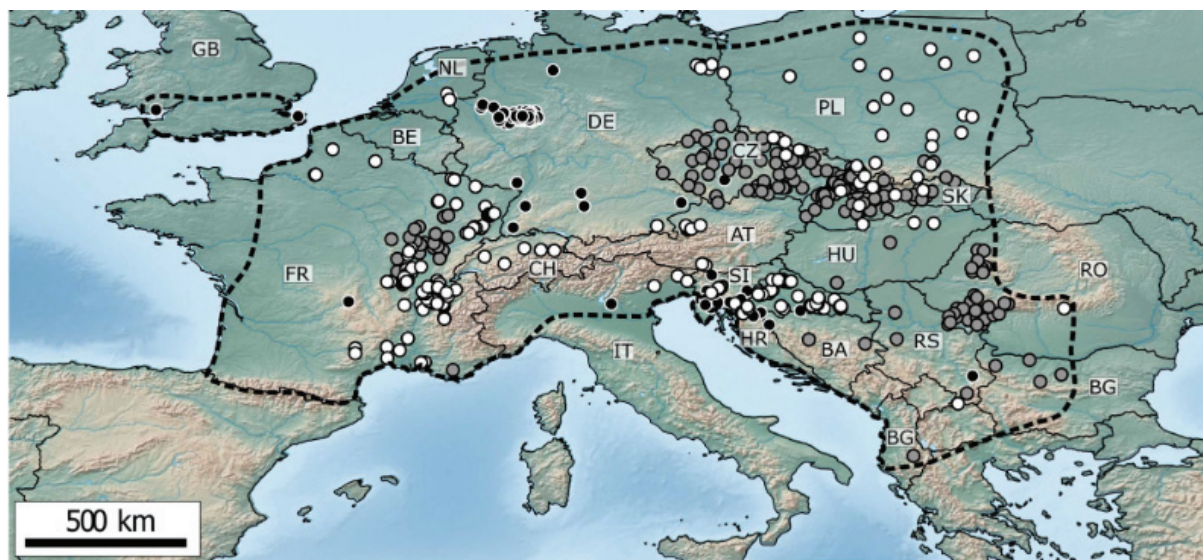


Figure I-10. Répartition géographique de l'espèce *G. fossarum* à travers l'Europe, délimitée par les lignes en pointillés sur l'Europe continentale et l'Angleterre. Les pays sont nommés selon leurs codes ISO conventionnels et les points représentent les sites d'échantillonnage présentés dans l'étude de laquelle la carte est issue (Wattier et al., 2020).

Si les organismes de l'espèce *G. fossarum* sont donc largement et abondamment retrouvés à travers l'Europe, ils peuvent également y co-habiter avec d'autres espèces colonisatrices du genre *Gammarus* : *G. duebeni*, *G. lacustris*, *G. pulex*, *G. roeselii* et *G. tigrinus* (Karaman et Pinkster, 1977; Sutcliffe, 1992). Les gammarus appartenant à l'espèce *G. fossarum* se différencient de leurs congénères par des disparités génétiques mais aussi morphologiques (Figure I-11), visibles sous loupe binoculaire et identifiables (Pinkster, 1972). Une segmentation dorsale non carénée de sa cuticule externe et une absence de rayures les différencient de *G. roeselii*. Ses ocelles petites et ovales les différencient de *G. duebeni*, et sa rame interne du 3^{ème} uropode mesurant un tiers de la rame externe le différencie de *G. pulex* (Karaman et Pinkster, 1977). Sa paire d'antennules *a minima* aussi longue que sa paire d'antennes, sa partie antérieure du corps dépourvue de soies et son céphalon émoussé permettent également de le différencier des autres espèces.

Écologiquement, les gammarus sont présents dans les cours d'eau tout au long de l'année. Étant des organismes ectothermes, les gammarus survivent à des température comprises entre 0 et 25°C, avec une température létale estimée à 25,8°C (Roux et Roux, 1967). Ce sont des organismes benthiques menant une vie épigée, c'est-à-dire qu'ils vivent à la surface des sédiments (Macneil et al., 1999). Ils y sont principalement retrouvés sous des galets ou dans les bryophytes qui leur confèrent une proximité directe avec les divers constituants de leur alimentation mais aussi un abri

les protégeant des prédateurs (Jubeaux, 2012). Ils possèdent un régime omnivore qui leur confère un rôle essentiel dans les réseaux trophiques en tant que prédateurs et détritivores (Felten et al., 2008; Kelly et al., 2002; Macneil et al., 1997; Maltby et al., 2002). En effet, les gammares se nourrissent indifféremment de matières d'origine végétale ou animale, mortes (feuilles et organismes aquatiques) ou vivantes (biofilms et macro-invertébrés) et peuvent également faire preuve de cannibalisme (Kelly et al., 2002; Macneil et al., 1997). Ce sont des déchiqueteurs de débris, déjections et autres éléments organiques présents dans le lit des rivières et, plus globalement, dans les milieux aquatiques (Graça, 2001; Kelly et al., 2002). Par ce processus, ces producteurs secondaires relarguent dans le milieu de la matière organique, essentielle au bon développement des autres organismes présents dans les écosystèmes, participant ainsi au recyclage des éléments nutritifs (Forrow et Maltby, 2000; Graça, 2001; Maltby et al., 2002; Maltby et Crane, 1994; Roussel et al., 2008). Mais les gammares possèdent également un rôle clé dans les réseaux trophiques en tant que proies, pour des prédateurs macro-invertébrés et vertébrés tels que les planaires, les amphibiens, les poissons, et les oiseaux (MacNeil et al., 2002, 2000). Il a d'ailleurs été établi que les gammares constituent une part importante de la ressource alimentaire des truites et des chabots, comptant pour 1/4 de la consommation totale de ces poissons (Macneil et al., 1999).

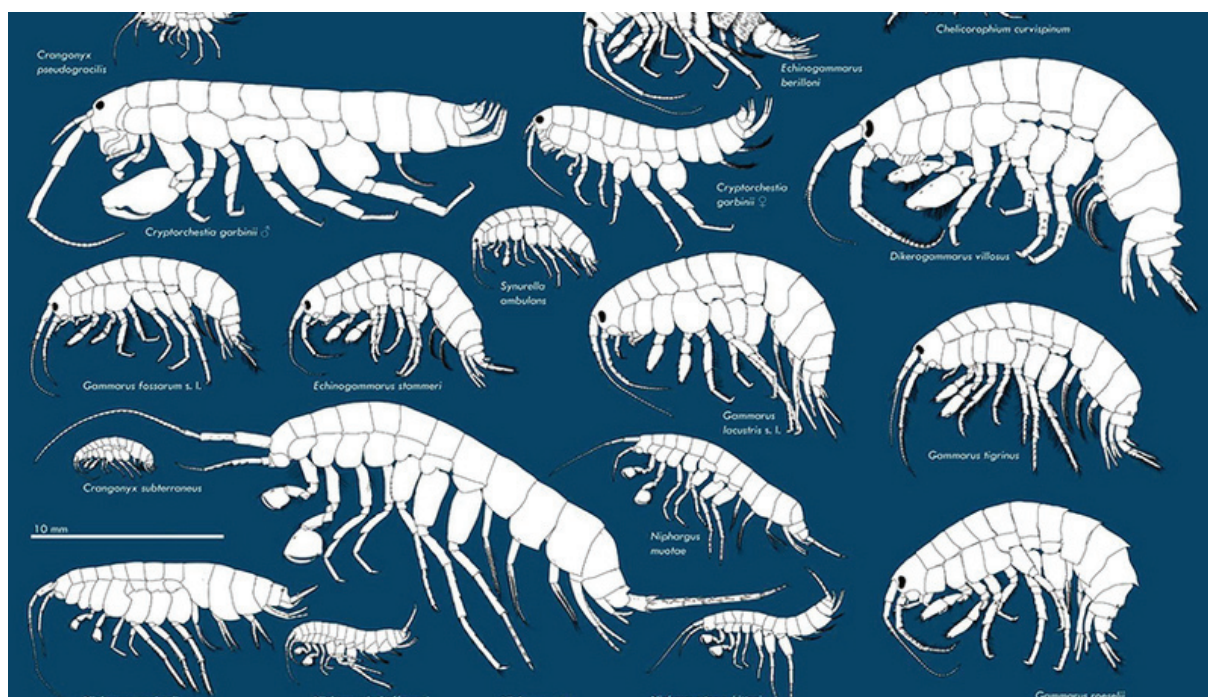


Figure I-11. Représentation schématique de la diversité morphologique des amphipodes phylogénétiquement proches de l'espèce *Gammarus fossarum*, dont trois autres espèces du genre *Gammarus*. Source : « New amphipod species discovered » (eawag.ch).

Morphologiquement, les gammares possèdent un corps symétrique bilatéralement, arqué (convexité dorsale régulière) et aplati latéralement, qui peut être divisé en 4 parties : i) le céphalon ; ii) le péreion ; iii) le pléosome ; et iv) l'urosome (Chevreux et Fage, 1925).

Le céphalon du gammare (segments colorés en jaune sur la [Figure I-12](#)) correspond à sa tête et comporte plusieurs pièces remplissant différentes fonctions. *G. fossarum* possède deux petits yeux composés primitifs non pédonculés, aussi nommés ocelles, et de forme ovale ([Goedemakers, 1981](#)). Il possède également une paire d'antennules portant un flagelle accessoire et une paire d'antennes où sont retrouvés les organes sensoriels. De plus, le céphalon du gammare inclut également ses pièces buccales composées de diverses paires d'appendices masticateurs capables de déchiqueter de la matière animale et végétale : le labium, le labre, les mandibules, les maxilles et les maxillules.

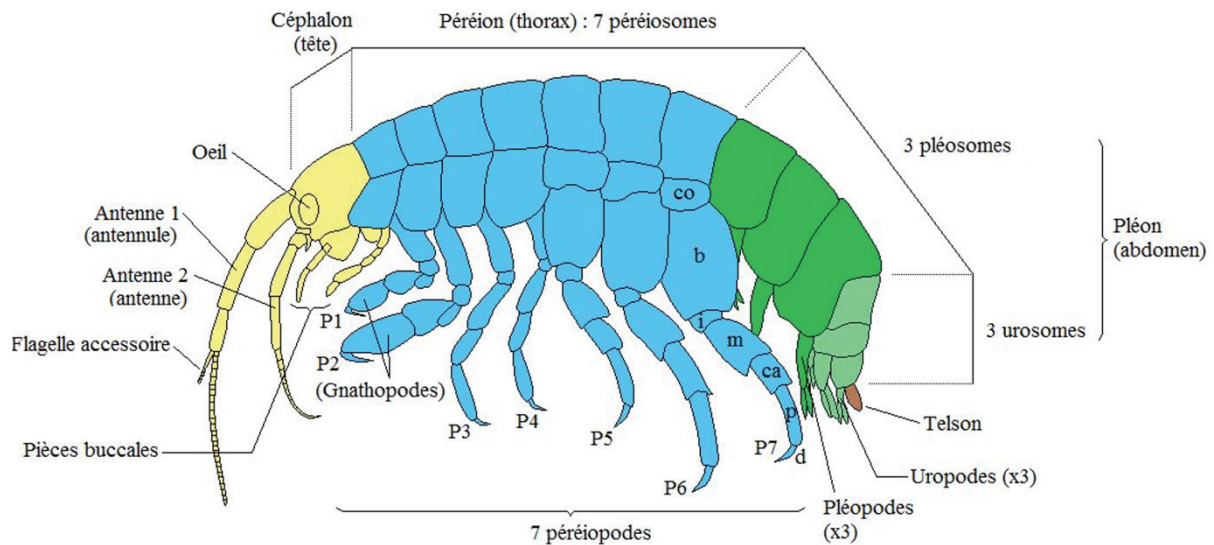


Figure I-12. Organisation schématique générale d'un individu appartenant à l'espèce *Gammarus fossarum*. Les lettres situées sur le dernier péréiopode représentent les différents segments d'un péréiopode, avec du haut vers le bas : co pour coxopodite (coxa), b pour basipodite (basis), i pour ischiopodite (ischium), m pour mérupodite (mérus), ca pour carpodite (carpe), p pour propodite (propode) et d pour dactylopodite (dactyle). Modifiée d'après le schéma de Vincent VALLI (galerie-insecte.org).

Le péréion, ou thorax, se divise en sept péréiosomes comportant chacun une paire de péréiopodes articulés, de sa base à son extrémité (segments colorés en bleu sur la [Figure I-12](#)). Sept métamères composent chaque péréiopode, avec : le coxopodite, le basipodite, l'ischiopodite, le mérupodite, le carpodite, le propodite et le dactylopodite. Les deux premières paires de péréiopodes, nommées respectivement gnathopodes 1 et 2, se sont spécialisées pour être utilisées dans la fixation et la préhension de la nourriture et au moment de l'accouplement pour le mâle, notamment. Les cinq autres paires de péréiopodes (des péréiopodes 3 à 7) servent principalement dans la locomotion de l'organisme.

La partie suivante se compose de trois pléosomes comportant chacun une paire de pléopodes (segments colorés en vert foncé sur la [Figure I-12](#)). Ces dernières, comme c'est le cas chez la plupart des amphipodes, ont un rôle primordial dans la ventilation des branchies, mais également du

marsupium¹⁶ chez les gammare femelles (Brucker, 2016). Enfin, la dernière partie du gammare se compose de trois segments d'urosomes terminés chacun par une paire d'uropodes permettant au gammare de se propulser dans son milieu (segments colorés en vert clair sur la Figure I-12). Ces appendices sont biramés et donc composés de deux parties : i) l'exopodite, partie externe, la plus longue ; et ii) l'endopodite, partie interne, la plus courte. L'urosome du gammare aboutit sur un segment terminal postérieur de petite taille, le telson (segments colorés en marron sur la Figure I-12). L'ensemble des pléosomes et des urosomes compose le pléon (l'abdomen) du gammare (segments colorés en vert foncé et vert clair sur la Figure I-12).

Les organismes mâles et femelles de l'espèce *G. fossarum* présentent également un dimorphisme sexuel qui se caractérise par des gnathopodes plus développées chez les mâles que chez les femelles et une taille plus importante des mâles, sachant que l'adulte mesure entre 1 et 2 cm (Karaman et Pinkster, 1977). Ces dimorphismes sont essentiels à la reproduction du gammare qui va s'effectuer en amplexus, c'est-à-dire que le mâle va venir s'accrocher à la femelle à l'aide de ses gnathopodes jusqu'à ce que la femelle mue pour qu'il puisse y avoir fécondation, au terme de cette période dite de gardiennage pré-copulatoire (Macneil et al., 1997).

Anatomiquement, tout comme la majorité des crustacés, les gammares possèdent un exosquelette externe, qui consiste en une cuticule chitineuse calcique rigide (Cairns et Yan, 2009). Cette cuticule possède tout d'abord une fonction de maintien de l'organisme. Par son imperméabilité, elle joue également un rôle important dans la protection de l'organisme contre les prédateurs et les agressions physico-chimiques du milieu, comme la dessiccation, ainsi que la pénétration des contaminants externes. La cuticule étant une structure rigide, elle ne croît aucunement en même temps que l'organisme qui doit muer pour effectuer correctement sa croissance (Cairns et Yan, 2009; Trevisan et al., 2014). De la libération de l'exuvie (ancienne cuticule) jusque quelques jours plus tard le gammare est sujet aux agressions externes puisque la nouvelle cuticule met quelques jours à se rigidifier *de novo* (Macneil et al., 1999). La température de leur milieu externe impacte ces processus physiologiques, comme le cycle de mue et la reproduction qui se trouvent être directement corrélés chez la femelle (O. Geffard et al., 2010; Trevisan et al., 2014). Le cycle de mue joue d'ailleurs un rôle important dans les mécanismes de reproduction chez la femelle, notamment au moment de la fécondation et celui de la libération des nouveau-nés (O. Geffard et al., 2010). Si ce cycle est bien connu et décrit chez les femelles pour lesquelles il est établi à une durée de 30 jours à 12°C, température optimale pour la reproduction de ces organismes, il

¹⁶ Se situant sur la partie ventrale de la femelle chez les amphipodes, le marsupium dénomme la poche incubatrice de l'organisme renfermant les œufs jusqu'à leur éclosion et la libération des néonates par mue de l'individu parent.

reste à ce jour beaucoup moins bien connu chez le mâle (O. Geffard et al., 2010; Roux et Roux, 1967).

Sous la cuticule se trouvent les muscles, qui entourent les organes internes, avec, en coupes longitudinale et transversale de l'organisme (Figure I-13), du haut vers le bas, respectivement : i) l'appareil circulatoire, ou cœur ; ii) les gonades ; iii) l'intestin ; iv) les caeca, autrement nommés hépatopancréas ou glande digestive dans la littérature ; v) le système nerveux ; et vi) les branchies, qui se situent sous les plaques coxales latérales.

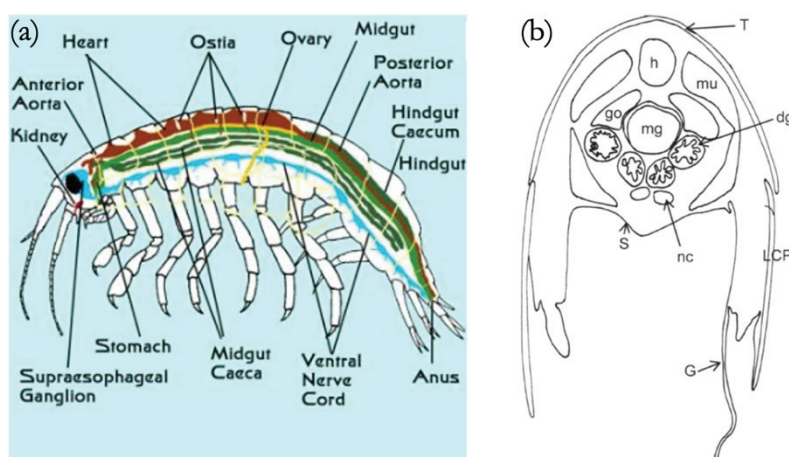


Figure I-13. Aperçu de l'anatomie interne d'organisme du genre *Gammarus*., avec : (a) schématisation d'une coupe longitudinale ; et (b) schématisation d'une coupe transversale de gammare, avec T : le tergite du péréion ; h : le cœur ; mu : les muscles ; go : les gonades ; mg : l'intestin moyen ; dg : les caeca ; nc : les cordons nerveux ; S : la plaque sternale ; LCP les plaques coxales ; et G : les branchies. Source : modifiée d'après « Amphipods » (reefkeeping.com) et Trevisan et al. (2014).

Comme chez la plupart des arthropodes aquatiques, le fluide circulatoire des gammares est appelé hémolymphe, puisqu'il contient de l'hémocyanine, pigment respiratoire de la famille des métalloprotéines, constitué entre autres de cuivre assurant le transport de l'O₂ (Wellborn et al., 2015). Chez le gammare l'appareil circulatoire est un système ouvert, ce qui implique que tous les organes et tissus sont contenus dans une cavité interne, l'hémocœle, et baignent dans l'hémolymphe. Ce système est composé d'un cœur bien spécifique (Figure I-13), puisqu'il s'agit d'un tube allant du céphalon au telson. Il est pourvu d'osties, ouvertures permettant la sortie de fluide, mais pas l'entrée, et est capable de se contracter de manière régulière, permettant ainsi la circulation du fluide circulatoire à travers l'hémocœle (Schmitz, 1967; Wellborn et al., 2015). Ainsi, l'hémolymphe assure d'une part l'apport d'O₂, d'ions, d'hormones et de nutriments aux organes et d'autre part l'élimination des déchets des organes vers le milieu (Henry et al., 2012).

Les gonades (Figure I-13), de forme tubulaire, peuvent être des ovaires ou des testicules selon que l'organisme soit, respectivement, une femelle ou un mâle. Ces tubes rejoignent la partie ventrale grâce à un canal déférent pour le mâle et un oviducte chez la femelle. Les canaux déférents se

terminent par une papille génitale à leurs extrémités, au niveau du périomère n°7, alors que les oviductes situés plus en amont, au niveau du périomère n°5, aboutissent au niveau des oostégites qui sont les plaques lamellaires ventrales présentes uniquement chez la femelle et qui formeront le marsupium (cavité interne où s'effectue le développement embryonnaire des oeufs jusqu'à leur éclosion).

Chez le gammare, l'intestin ([Figure I-13](#)) peut être découpé en 3 parties : le stomodéum, le mésentéron et le proctodéum ([Schmitz, 1967](#)). Le stomodéum, aussi appelé intestin antérieur, comprend : i) la bouche, petite ouverture sur le milieu extérieur, située sur la partie ventrale du céphalon et entourée de différentes paires de pièces buccales : les mandibules, les maxilles et les maxillipèdes ; ii) l'œsophage ; et iii) l'estomac composé lui-même de la chambre cardiaque¹⁷, où s'effectue une digestion mécanique (broyage) des aliments, et de la chambre pylorique, ayant un rôle de filtration des aliments et reliant la chambre cardiaque au mésentéron. Si lorsqu'ils se nourrissent de végétaux, les gammarès vont plutôt choisir des feuilles peu ligneuses et déjà colonisées par les microorganismes (champignons et bactéries) ayant une meilleure digestibilité, l'appareil digestif des gammarès est également composé d'enzymes pouvant dégrader la cellulose ([Bloor, 2011](#)). À l'issue de ces broyages mécaniques et enzymatiques, les particules plus grosses sont filtrées et renvoyées vers la chambre cardiaque afin de subir une nouvelle phase de broyage, puisque seules les particules les plus fines pourront passer le filtre de la chambre pylorique vers le mésentéron. Le mésentéron, également nommé intestin moyen, permet le transit du bol alimentaire. La partie terminale de l'intestin, le proctodéum (aussi appelé intestin postérieur), aboutit sous le telson en une ouverture sur le milieu externe, l'anus. Une cuticule protectrice recouvre l'épithélium des intestins antérieur et postérieur.

Chez les amphipodes, le site prépondérant de digestion secondaire et de sécrétion des enzymes de digestion se situe au niveau des caeca ([Figure I-13](#)) ([Nassiri et al., 2000](#); [Schmitz, 1967](#); [Weeks, 1992](#)). Cet organe est constitué de deux paires de structures tubulaires, fixées au niveau du mésentéron. Histologiquement, les tubules qui composent les caeca présentent un épithélium reposant sur une membrane basale qui fait office de barrière entre la lumière des caeca et leur extérieur ([Kutlu et al., 2002](#); [Schmitz et Scherrey, 1983](#)). Cet épithélium joue un rôle dans l'assimilation, le stockage et l'élimination des nutriments et des lipides, mais également des contaminants et de leur détoxification ([Agrawal, 1965](#); [Nassiri et al., 2000](#); [Schmitz, 1967](#); [Weeks, 1992](#)). Chez *G. fossarum*, cet épithélium est composé de 4 types de cellules différentes : B, E, F et R

¹⁷ Partie de l'estomac, anatomiquement proche du cœur des gammarès, d'où son appellation comprenant le mot « cardiaque ».

(Figure I-14), réparties en trois zones successives continues (Charron, 2014; Correia et al., 2002b; Kutlu et al., 2002). La partie germinale d'un caecum, aussi appelée partie distale (Figure I-14), est constituée de petites cellules embryonnaires dépourvues de vacuoles et indifférenciées (cellules E) servant principalement de réservoir de régénération de l'organe par mitose (Charron, 2014). C'est dans la partie intermédiaire du caecum que les cellules E vont par la suite devenir matures et se différencier en cellules F ou R. Les premières possèdent un rôle dans la synthèse des enzymes digestives, tandis que les secondes sont plus spécifiquement impliquées dans le stockage des lipides et plus généralement des réserves énergétiques de l'organisme (Schultz, 1976). Ces deux types de cellules possèdent également des fonctions communes puisqu'elles seraient toutes deux impliquées dans le stockage et la gestion des métaux. La partie antérieure d'un caecum, située dans la région proximale (Figure I-14), est principalement composée de cellules B qui s'avèrent plus grosses et vacuolisées que les cellules F et R. Ces cellules de type B correspondraient à des cellules F matures, ayant subi une hypertrophie de leur vacuole centrale, et seraient principalement impliquées dans les processus de sécrétion d'enzymes et de digestion intracellulaire (Icely et Nott, 1985; Schultz, 1976).

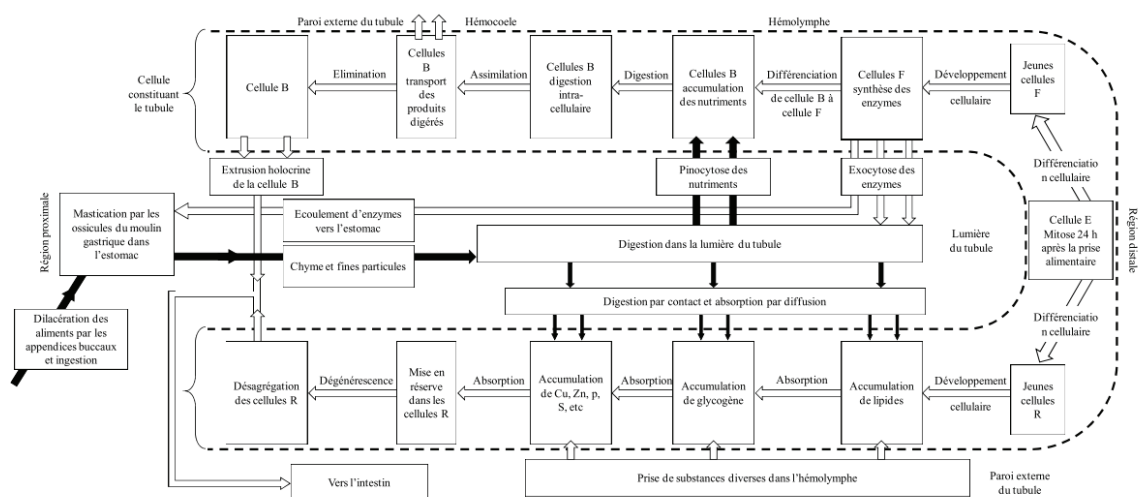


Figure I-14. Schématisation de la coupe longitudinale d'un caecum, montrant l'organisation des différents types de cellules épithéliales de la partie proximale du caecum (connectée à l'intestin) à sa partie distale. Source : manuscrit de thèse de Charron (2014).

Le système nerveux du gammare est principalement composé des ganglions nerveux reliés entre eux par des connexions intersegmentaires, formant une chaîne s'étendant des antennes et antennes du céphalon jusqu'à l'urosome. Un protocérébrum, situé dans le céphalon de l'organisme, est relié à cette chaîne et des filets nerveux permettent de relier cette chaîne nerveuse aux différents organes et appendices de l'organisme.

G. fossarum possède six paires de branchies plates et ovales (Figure I-15), formées à partir des épipodites des périopodes. Ces branchies constituent une surface de contact avec l'eau et plus

généralement avec le milieu extérieur. Elles sont situées dans la région du mésosome, sous les plaques coxales et les appendices thoraciques (Figure I-13), et sont composées : i) d'une face muqueuse en contact direct avec le milieu externe et recouverte d'une cuticule chitineuse ; et ii) d'une face séreuse baignant dans de l'hémolymphe et délimitée par une couche simple d'épithélium. Les branchies jouent différents rôles vitaux pour l'organisme, par exemple dans la respiration. Elles sont également impliquées dans les mécanismes d'iono- et osmo-régulation, d'homéostasie notamment calcique, ainsi que dans la régulation de la balance acide-base de l'organisme (Henry et al., 2012; Péqueux, 1995). Les branchies peuvent être découpées en différentes régions dont l'épaisseur de l'épithélium caractérise la fonction remplie, avec : i) la diffusion passive d'ions et les échanges gazeux qui s'effectuent au niveau des régions possédant un épithélium plus fin, de 1 à 5 μm ; et ii) le transport actif des ions via des pompes sodium-potassium (Na^+/K^+ ATPase) au niveau des régions possédant un épithélium plus épais, de 10 à 20 μm (Henry et al., 2012). Le bon fonctionnement des branchies dépend de leur intégrité physique et des paramètres biologiques de l'organisme. Cependant, il est également directement corrélé avec l'état physico-chimique du milieu dans lequel se trouve l'organisme puisque les paramètres abiotiques du milieu peuvent affecter l'intégrité des branchies ou diminuer leur capacité à remplir leurs rôles. Ainsi, les branchies de *G. fossarum* sont, par exemple, hypersensibles à la présence d'ions chlorés dans leur environnement ainsi qu'aux changements de pH (Felten et Guerold, 2001).



Figure I-15. Photographie de branchies fraîchement prélevées sur un gammaride de l'espèce *G. fossarum*. Source : photographie personnelle.

5.2. Intérêt/Utilisation en écotoxicologie

En écotoxicologie, les organismes de l'espèce *G. fossarum* sont utilisés, comme défini en amont, en tant qu'espèces sentinelles (Besse et al., 2013; Chaumot et al., 2015; Coulaud et al., 2014; Fialkowski et al., 2003; Geffard, 2014; Gerhardt, 2011; Kunz et al., 2010; Plénet, 1995). En effet, leur large

répartition à travers l'Europe et leur présence en forte densité dans les milieux aquatiques tout au long de l'année en font des organismes de choix pour la biosurveillance (Coulaud et al., 2014; Zivic et Markovic, 2007). Leur fonction de détritivore et leur positionnement au sein des réseaux trophiques en font notamment une espèce d'importance majeure dans les écosystèmes aquatiques (Kelly et al., 2002; Macneil et al., 1997). En outre, cette espèce peut être facilement identifiée, récoltée et transportée du fait de sa taille, mais également facilement sexée, ce qui facilite la mise en place de prélèvements et d'expérimentation *in situ* (sur le terrain) et en laboratoire (Goedemakers, 1981).

Les gammarès sont également considérés comme étant de bons intégrateurs de la contamination de leur environnement au cours du temps puisqu'ils ont l'avantage, par rapport à la majorité des autres macro-invertébrés, de posséder un cycle de vie de plusieurs années (relativement long), ayant lieu uniquement dans l'eau (Charron, 2014; Goedemakers, 1981). De plus, s'ils sont sensibles aux contaminants dans une certaine mesure, ils sont également connus pour être de bons accumulateurs, notamment en ce qui concerne les métaux (Aamir, 2020; Amyot et al., 1996, 1994; Besse et al., 2013; Dedourge-Geffard et al., 2013, 2009; Fialkowski et al., 2003; Fialkowski et Rainbow, 2006; Geffard et al., 2007; Khan et al., 2011; Kunz et al., 2010; Lacaze et al., 2011; Lebrun et al., 2015, 2014b; Maltby, 1995; Urien et al., 2017). Ainsi, de nombreux bioessais ont permis de déterminer l'importance de l'historique d'exposition aux métaux des gammarès, montrant que les individus provenant des sites les plus contaminés en Cd ou en Zn sont également les individus qui seront les moins impactés par l'accumulation et la toxicité de ces métaux (Howell, 1985; Khan et al., 2011; Maltby et Crane, 1994). De plus, au niveau individuel, l'effet des métaux a été évalué sur l'alimentation, la locomotion et la reproduction des gammarès montrant par exemple une inhibition de ces comportements positivement corrélée avec l'augmentation de la concentration en Cd dans le milieu (Coulaud et al., 2011; Felten et al., 2008; O. Geffard et al., 2010; Maltby et al., 2002). À ce jour, plusieurs biomarqueurs évaluant la bioaccumulation et l'impact des métaux chez le gammaré ont d'ailleurs été développés concernant la neurotoxicité, la génotoxicité, la perturbation endocrinienne et l'état physiologique global des individus (Charron, 2014; Charron et al., 2013; Dedourge-Geffard et al., 2009; Jubeaux, 2012; Lacaze et al., 2011; Xuereb, 2009). De plus, les CL50 (Concentration Létale provoquant une mortalité égale à 50% dans la population d'organismes étudiée, pendant un temps donné) du Cd ont également été évaluées à plusieurs pas de temps chez *Gammarus pulex*, montrant une diminution de la tolérance des organismes au cours du temps, passant d'une CL50_{96h} = 82,1 µg.L⁻¹ à une CL50_{264h} = 10,5 µg.L⁻¹ (Felten et al., 2008). Pour le Zn, la CL50_{96h} chez *G. pulex* a été estimée à 12,1 mg.L⁻¹, soit 150 fois plus grande que celle du Cd (Bat et al., 2000).

Parmi les ETMs les plus étudiés chez les espèces dulçaquicoles du genre *Gammarus* nous avons retrouvé : l'As, le Cd, le Cu, le Fe, le Hg, le Ni, le Pb et le Zn ; et dans une moindre mesure : l'Ag, l'Au, le Co, le Cs, le Cr, le Mn, le Rb, le Se et le Sr (Tableau I-2). Certains métaux comme l'Ag et l'Au ont principalement été étudiés sous leur forme nanoparticulaire (Mehennaoui et al., 2018, 2016). Après prélèvements *in situ*, des gammars provenant d'une rivière croate fortement impactée par les activités humaines ont montré dans leurs tissus une plus forte concentration d'ETM non essentiels (Al, As, Cd, Pb, Sb et Sn) que ceux provenant d'une rivière de référence (Filipović Marijić et al., 2016). La grande majorité de ces études a été effectuée avec une contamination par la voie dissoute (Tableau I-2). Peu d'études existent à ce jour sur l'accumulation et les effets des métaux assimilés par la voie trophique, en particulier lorsqu'il s'agit de la contamination chronique par cette voie (Tableau I-2). De plus, il existe peu d'études ayant cherché à approfondir la connaissance concernant la bioaccumulation des métaux dans les différents organes du gammare (Tableau I-2). Seuls Amyot et al. (1996) ont mesuré les quantités de différents métaux dans tous les organes composant le gammare, mais uniquement sur des gammars prélevés *in situ* donnant une information non cinétique qui serait pourtant essentielle à la compréhension des mécanismes ADME.

Concernant la modélisation de la cinétique de bioaccumulation des métaux chez le gammare, différents modèles ont été utilisés dans la littérature (Tableau I-3). Toutes ces études ont été effectuées sur organisme entier. La grande majorité d'entre elles concerne l'espèce *G. pulex* (9 études) même si quelques-unes concernent l'espèce *G. fossarum* (deux études). Une seule étude s'est intéressée à la bioaccumulation des métaux par voie trophique et uniquement en contamination par pulse unique (Pellet et al., 2014). De ces études, il ressort principalement que les ETM essentiels Cu et Zn voient leur taux d'accumulation par l'eau (k_u) diminuer quand leur concentration dissoute augmente, avec cependant un taux d'élimination (k_e) qui reste constant. Ainsi le k_u du Cu diminue de 16,9 à 1,9 L.g⁻¹.j⁻¹ quand la concentration augmente de 0,5 à 50 µg.L⁻¹ (Lebrun et al., 2012) ; et le k_u du Zn passe de 5,03 à 3,73 h⁻¹ pour une concentration dans l'eau allant de 0,41 à 2,02 mg.L⁻¹ (Xu et Pascoe, 1993). Concernant le Cd, Pellet et al. (2009) ont démontré qu'une augmentation de la température de l'eau de 8°C provoque une augmentation des k_u passant de 1,06 à 1,34 L.g⁻¹.j⁻¹, alors qu'une augmentation de la concentration calcique du milieu va entraîner une diminution du k_u passant de 1,05 à 0,25 L.g⁻¹.j⁻¹.

Tableau I-2. Vue globale de l'utilisation des espèces du genre *Gammarus* dans l'étude de la bioaccumulation des métaux, précisant l'échelle à laquelle les études ont été menées.

Auteurs	Organisme	Métaux	Echelle organisme	Paramètres analysés
Amyot et al. (1996)	<i>G. fasciatus</i>	Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb et Zn	Organes	Bioaccumulation - Influence du contenu intestinal sur la charge métallique
Baudin (1982)	<i>G. aequicauda</i> martimov	Zn	Organisme entier	Bioaccumulation et cinétique d'élimination
Besse et al. (2013)	<i>G. fossarum</i>	Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se et Zn	Organisme entier	Bioaccumulation
Ciliberti et al. (2017)	<i>G. fossarum</i>	Cd, Hg, Ni, Pb	Organisme entier	Biodisponibilité - Bioaccumulation
Dedourge-Geffard et al. (2009)	<i>G. fossarum</i>	As, Cd, Cu, Ni, Zn	Organisme entier	Bioaccumulation
Filipovic et al. (2016)	<i>G. fossarum</i>	Al, As, Ba, Cd, Co, Cs, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sn, Sr, Ti, Tl, U, V et Zn	Organisme entier	Bioaccumulation - Biomarqueurs
Geffard et al. (2007)	<i>G. pulex</i>	Cd, Cu et Zn	Organisme entier	Bioaccumulation, facteurs biotiques et abiotiques, induction de métallothionéines
Geffard et al. (2010)	<i>G. fossarum</i>	Cd, Ni et Pb	Sub-cellulaire	Bioaccumulation et compartimentalisation sub-cellulaire
Hadji et al. (2016)	<i>G. pulex</i>	Pb	Organisme entier	Bioaccumulation par voie dissoute et trophique
Khan et al. (2011)	<i>G. pulex</i>	Cu et Zn	Sub-cellulaire	Bioaccumulation et compartimentalisation sub-cellulaire - Stress oxydatif et mortalité
Kunz et al. (2010)	<i>G. spp</i> <i>G. italicus</i> , <i>G. pulex</i> et <i>G. fossarum</i>	Cr, Cu, Hg et Zn	Review	Review
Lebrun et al. (2011)	<i>G. pulex</i>	Ni	Organisme entier	Bioaccumulation
Lebrun et al. (2014b)	<i>G. pulex</i>	Cu, Zn, Mn	Organisme entier	Bioaccumulation
Lebrun et al. (2015)	<i>G. pulex</i>	Ag, Pb, Co, Mn, Cu, Zn	Organisme entier	Bioaccumulation
Lebrun et al. (2017)	<i>G. fossarum</i>	Cd, Cu, Ni, Pb et Zn	Organisme entier	Bioaccumulation, réponses biochimiques et comportementales
Lebrun et al. (2020)	<i>G. fossarum</i> et <i>G. pulex</i>	Cd, Co, Cu, Mn, Pb et Zn	Organisme entier	Comparaison capacité de bioaccumulation (<i>in situ</i>)
Mehennaoui et al. (2018)	<i>G. fossarum</i>	Ag (NPs), Au (NPs)	Organisme entier et organes	Bioaccumulation, distribution dans les tissus, expression de gènes de stress, toxicité et effets
Mijošek et al. (2020)	<i>G. balcanicus</i>	Cd, Co, Cs, Cu, Fe, Mn, Pb, Rb, Se, Sr, Zn	Organisme entier	Bioaccumulation
Pellet et al. (2009)	<i>G. pulex</i>	Cd	Organisme entier	Bioaccumulation
Pellet et al. (2014)	<i>G. pulex</i>	Cr, Cd, Cu	Organisme entier	Taux d'ingestion (IR), temps de rétention dans l'intestin (GRT) et efficacité d'assimilation (AE)
Schaller et al. (2011)	<i>G. pulex</i> (L.)	Al, As, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Mo, Mn, Pb, Sr, U et Zn	Organisme entier et intestins	Bioaccumulation - Importance relative de l'intestin
Urien et al. (2015)	<i>G. pulex</i>	Pb	Organisme entier	Bioaccumulation
Urien et al. (2016)	<i>G. fossarum</i>	Cd, Cu, Ni, Pb	Organisme entier	Bioaccumulation
Urien et al. (2017)	<i>G. pulex</i> et <i>G. fossarum</i>	Cu, Ni et Pb	Organisme entier	Bioaccumulation
Xu & Pascoe (1994)	<i>G. pulex</i>	Zn	Organisme entier	Bioaccumulation par voie dissoute et trophique

Comme mentionné précédemment, l'étude de la bioaccumulation des métaux au niveau des organismes entiers reflète la biodisponibilité des métaux, mais elle peut être considérée comme peu indicatrice de l'impact des métaux sur les organismes (Schaller et al., 2011b). Actuellement, les quelques études concernant l'application de modèles TK chez le gammare ont toutes été effectuées sur les organismes entiers (Tableau I-3). Ceci est principalement dû au fait que seulement peu d'études se sont intéressées à la bioaccumulation des métaux au niveaux des organes, et aucune d'entre elles n'a utilisé de modèles toxico-cinétiques (Amyot et al., 1996; Mehennaoui et al., 2016; Schaller et al., 2011b). Il existe donc un cruel manque de données concernant les cinétiques de bioaccumulation des métaux au niveau des organes du gammare, ne permettant pas de conclure sur les processus ADME des métaux et leur devenir chez cette espèce.

Tableau I-3. Vue globale de l'utilisation des espèces *Gammarus fossarum* et *G. pulex* dans la mise en place de modèles cinétiques d'accumulation des métaux.

Auteurs	Organisme	Métaux	Echelle organisme	Modèle utilisé
Hadji et al. (2016)	<i>G. pulex</i>	Pb	Entier	Biodynamique (multipathways)
Lebrun et al. (2011)	<i>G. pulex</i>	Ni	Entier	Biodynamique et saturation
Lebrun et al. (2012)	<i>G. pulex</i>	Cu	Entier	Biodynamique et saturation
Lebrun et al. (2014b)	<i>G. pulex</i>	Cu, Mn, Zn	Entier	Biodynamique et saturation
Pellet et al. (2009)	<i>G. pulex</i>	Cd	Entier	DYNBAM
Pellet et al. (2014)	<i>G. pulex</i>	Cd, Cu	Entier	Taux d'ingestion et efficacité d'assimilation
Urien et al. (2015)	<i>G. pulex</i>	Pb	Entier	Biodynamique
Urien et al. (2016)	<i>G. fossarum</i>	Cd, Cu, Ni et Pb	Entier (terrain)	TK
Urien et al. (2017)	<i>G. fossarum</i> et <i>G. pulex</i>	Cu, Ni et Pb	Entier	TK
Xu & Pascoe (1993)	<i>G. pulex</i>	Zn	Entier	TK

Chapitre II : Compléments de Matériel & Méthodes

La présentation de ces travaux de thèse est faite sur la base d'articles scientifiques publiés ou en cours de publication possédant chacun une partie « Matériel et Méthodes ». Le matériel et la méthodologie utilisés dans ces publications présentent de nombreux points communs concernant : i) la provenance des organismes biologiques utilisés ; ii) le matériel utilisé, y compris les sources radioactives (solutions mères d'isotopes radioactifs fortement concentrées) et les protocoles de dilution ; et iii) la description mathématique des modèles toxico-cinétiques (TK) mono- et multi-compartiments mis en place ainsi que l'estimation de leurs paramètres. Par conséquent, la partie Matériel et Méthodes ci-dessous a pour but d'apporter des informations complémentaires, notamment sur des points techniques, concernant les problématiques rencontrées au cours de cette thèse.

I. Le choix de l'eau

Hormis l'exposition au mercure (travaux effectués en amont de ce travail de thèse, réalisés dans le cadre d'un stage de Master 2) et les analyses ICP-TQ-MS effectuées à INRAE Lyon-Villeurbanne, les parties expérimentales et analytiques présentées dans ce manuscrit ont été réalisées au laboratoire du LIENSs (LIttoral Environnement et Sociétés - UMR7266, CNRS - La Rochelle Université). Comme son nom l'indique, les problématiques étudiées au LIENSs relèvent du domaine du littoral et de l'environnement marin principalement. La première contrainte liée au travail avec le modèle biologique d'eau douce *Gammarus fossarum* a été l'installation d'un système de stabulation¹⁸ (Figure II-1) alimenté en eau de ville.

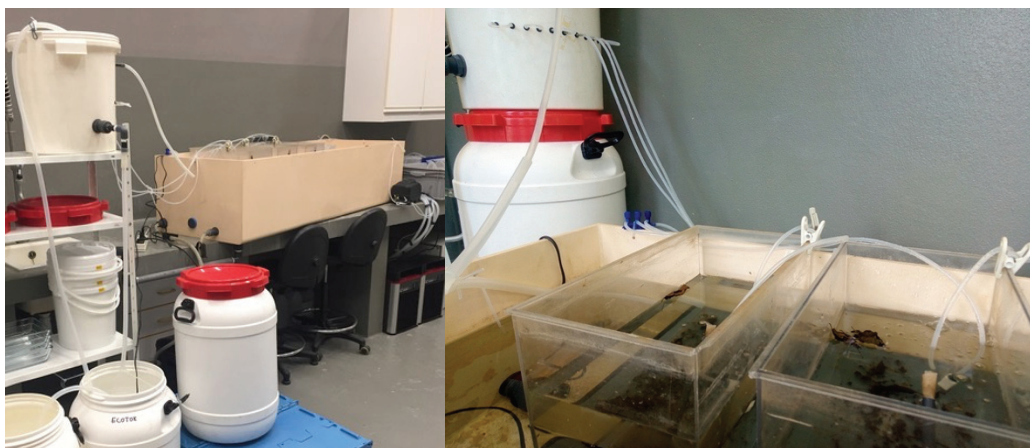


Figure II-1. Système initial de stabulation des gammarus mis en place en circuit ouvert.

¹⁸ Système pouvant être assimilé à de l'élevage en continu, avec un système ouvert de changement d'eau, afin d'avoir constamment un pool d'organismes à disposition pour la mise en place des expérimentations.

Dès la mise en place des gammares dans les aquariums de stabulation, une forte et brusque mortalité (99% en moins de 24h) est apparue. Ce phénomène a été imputé au chlore, auquel les gammares sont extrêmement sensibles. Un système complet de filtration et traitement a donc été branché sur l'arrivée d'eau de ville, comprenant une première cartouche de filtration (taille 5 μm), puis une cartouche de charbon actif (carbone bloc 10", permettant la filtration des particules de 0,1 à 3 μm ainsi que l'élimination des bactéries, des champignons, du chlore, des métaux et de certaines molécules organiques présents dans l'eau), une membrane d'ultrafiltration (0,001 μm) puis une cartouche de résine échangeuse d'ions (Purolite MB4000). Cette seconde installation, notamment la résine échangeuse d'ions, a trop fortement diminué la conductivité de l'eau, la divisant par 10 (676 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ pour l'eau non filtrée et 64 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ pour l'eau filtrée), rendant le milieu défavorable à la survie des gammares. Par conséquent, la cartouche de résine a finalement été remplacée par une seconde cartouche de charbon actif permettant d'obtenir, après 24h de bullage, une osmolarité d'eau convenable pour les organismes (676 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$). Malgré ces améliorations, pour des raisons encore inexpliquées, des bactéries ont commencé à proliférer dans le système de stabulation conduisant une nouvelle fois à la mort des organismes (présentant un noircissement de leur corps ; [Figure II-2](#)).



[Figure II-2](#). Gammares morts présentant un noircissement progressif de leur corps.

La première expérimentation de ce travail de thèse a donc consisté à rechercher différentes eaux de source (Volvic® et Évian®), favorables au maintien sur le long terme des gammares afin de trouver une solution alternative à l'eau de ville. L'eau d'Évian® est celle qui possède les caractéristiques physico-chimiques les plus proches de celles de l'eau de forage utilisée dans les laboratoires villeurbannais d'INRAE (compositions détaillées dans le [Tableau S1, Chapitre III](#)). De plus, aucune mortalité anormale n'a été enregistrée lors de l'utilisation de cette eau.

Il a donc été convenu que les gammares provenant de l'élevage d'INRAE Lyon-Villeurbanne seraient envoyés dans des seaux par colis froids, *a minima* 10 jours avant le début de chaque expérimentation, au LIENSs. Les seaux étaient bullés et placés dans un bain d'eau thermostatée à 12°C ([Figure II-3](#)) où les gammares étaient progressivement habitués à l'eau d'Évian® (à raison du remplacement d'1/3 de l'eau des seaux contenant les gammares par de l'eau d'Évian® tous les deux

jours) et nourris *ad libitum* avec des feuilles d'aulne lixiviées (enlèvement des tannins, toxiques pour les gammares, contenus dans les feuilles).



Figure II-3. Système de stabulation des gammares installés au LIENSs dans des seaux placés dans un bain d'eau thermostatée à 12°C.

En début de thèse, deux mois ont été nécessaires pour mettre en place ces bonnes conditions de stabulation et d'expérimentation.

II. Qu'est-ce qu'un radioisotope à émission gamma et pourquoi les utiliser en écotoxicologie ?

Les radioisotopes (aussi nommés radionucléides) sont des isotopes (c.-à-d. possédant le même nombre de protons mais de nombre un nucléons différents) non stables d'éléments chimiques. Ils possèdent les mêmes propriétés chimiques que leurs homologues stables, mais des propriétés physiques différentes puisqu'ils émettent des rayonnements ionisants (radioactivité) lors de la désintégration et/ou la désexcitation de l'atome et de son cortège électronique. Chaque radioisotope possède des caractéristiques qui lui sont spécifiques : nature (Cf. ci-dessous) et énergie des rayonnements émis, période radioactive¹⁹, etc.

Il existe trois catégories de rayonnements ionisants :

i) les rayonnements alpha (α). Ils sont la conséquence d'une désintégration du noyau mère par la perte de protons et de neutrons (émission de noyaux d'hélium), changeant la configuration du noyau fille qui appartient à un autre élément. Cette catégorie de rayonnements est fortement ionisante mais possède un faible pouvoir de pénétration (quelques nm), et est facilement arrêtée par une feuille de papier ;

¹⁹ La période radioactive, également nommée « temps de demi-vie radioactive » est le temps nécessaire à la désintégration de 50% des atomes radioactifs.

ii) les rayonnements bêta (β). Ils sont la conséquence de l'émission d'une particule chargée négativement (électron) ou d'une particule chargée positivement (positon) du noyau. Cette catégorie de rayonnements est elle aussi fortement ionisante et possède un pouvoir de pénétration plus fort que les rayonnements α (quelques mm), puisqu'ils traversent une feuille de papier mais sont arrêtés par quelques millimètres d'aluminium, de verre ou de plexiglas ;

iii) les rayonnements gamma (γ). Ils sont la conséquence d'une désexcitation du noyau de l'atome suite à la désintégration, libérant cette forme d'énergie sous la forme d'un photon gamma. La particule de photon de haute énergie libérée est faiblement ionisante puisqu'il s'agit d'une particule neutre (non-chargée). Cependant, son pouvoir de pénétration est beaucoup plus fort que celui des rayonnements α et β (de quelques m à plusieurs centaines de m), puisqu'il faut un matériau composés d'une épaisseur d'au moins 1 m de béton ou de plomb pour arrêter les rayonnements électromagnétiques γ . Si les rayonnements gamma résultent toujours de l'émission de photon γ , chaque radioisotope émettant des rayonnements γ possède une énergie de rayonnement (signature du spectre d'émission) qui lui est propre.

Principe de la spectrométrie gamma

Afin d'obtenir des mesures qualitatives (nature du radioisotope dans un échantillon donné) et quantitatives (quantité et concentration du radioisotope dans un échantillon donné), les échantillons sont positionnés dans un spectromètre à rayon gamma (GRS). Les rayonnements gamma ayant une distance de propagation importante, aucune transformation des échantillons n'est nécessaire pour quantifier la radioactivité émise. La spectrométrie gamma peut donc être non-destructive permettant de quantifier la radioactivité dans des organismes entiers et vivants.

Le détecteur est composé d'un scintillateur, d'un tube photomultiplicateur et d'un connecteur. Lorsqu'un photon est émis par un atome lors de sa désexcitation, il va entrer en contact avec le scintillateur (Figure II-4, 1). Suite à cela, une impulsion lumineuse va être produite et focalisée vers une photocathode (Figure II-4, 2) qui va transformer le signal lumineux en électrons. Ces électrons vont ensuite être dirigés vers le tube photomultiplicateur (Figure II-4, 3) qui, par un jeu de dynodes (électrodes à émission secondaire produisant des électrons secondaires), va amplifier le nombre final d'électrons. Enfin, il en résulte un signal électrique, traité par informatique à l'aide d'un logiciel permettant de visualiser les spectres obtenus en temps réel.

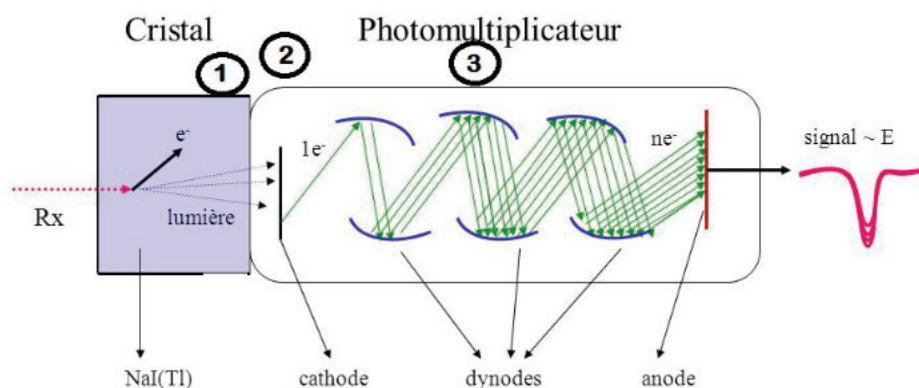


Figure II-4. Schématisation d'une coupe longitudinale d'un détecteur de rayonnements gamma, composé : 1) d'un scintillateur en cristal de NaI(Tl) ; 2) d'une photocathode ; et 3) d'un tube photomultiplicateur.

Plusieurs modèles de détecteurs existent sur le marché, ils diffèrent essentiellement par la composition du scintillateur qui peut être organique (solide, liquide ou gazeux) ou inorganique (cristal). Le scintillateur présent dans le détecteur utilisé dans les travaux de ce manuscrit est un scintillateur inorganique NaI cristallin. Ce type de détecteur, du fait de ses propriétés physiques, a l'avantage d'avoir une meilleure précision de détection des rayons gamma et un niveau de saturation atteint moins rapidement. Chaque détecteur possède une efficacité de détection qui lui est propre. De plus, la nature (p. ex. : liquide, tissus durs, tissus mous) et la géométrie (diamètre, hauteur) de l'échantillon exerceront une influence sur l'efficacité de détection du détecteur. Afin de pouvoir transformer l'intensité du signal de nombres de coups en Becquerel²⁰ (Bq), il est nécessaire d'effectuer une calibration de chaque détecteur en prenant en compte la demi-vie radioactive du radioisotope et son canal/ses canaux d'émission.

Un radioisotope peut présenter un ou plusieurs pics d'émission, chacun d'énergie (unité = keV) qui lui est propre (exemple du ¹⁰⁹Cd présentant un pic à 88 keV ; [Figure II-5](#)). Le profil d'un spectre obtenu pour un radioisotope, présent seul dans un échantillon donné, est donc spécifique à ce radioisotope. L'enregistrement d'un spectre se fait en temps réel, soit pour un temps donné, soit pour un temps indéfini. Le temps de comptage d'un échantillon par le détecteur n'est pas le critère prédominant puisque ce qui caractérise une mesure valide est l'incertitude de comptage existant autour de la mesure, qui est elle aussi visible en temps réel. Plus le comptage d'un échantillon va être allongé et plus l'incertitude autour de la mesure va être réduite. Il est communément admis qu'une mesure fiable aura une incertitude de comptage inférieure à 5% ([Cresswell et al., 2017b](#); [Pouil et al., 2015](#)).

²⁰ Le Bq est l'unité utilisée dans le Système International d'unités pour exprimer l'activité radioactive dans un échantillon.

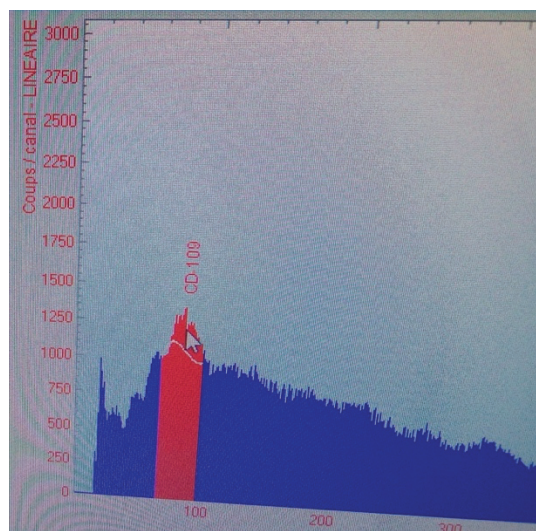


Figure II-5. Spectre d'émission d'un échantillon contenant du ^{109}Cd , montrant un pic d'émission à 88 keV.

Depuis plus de 150 ans, les radioisotopes sont utilisés pour étudier les mécanismes régissant les processus impliqués dans les sciences environnementales notamment par l'utilisation de radionucléides dans l'étude de la bioaccumulation, du transfert et du devenir des métaux au sein du biota, qui a connu un essor dans les décennies 1960-1970 (Cresswell et al., 2020; Warnau et Bustamante, 2007). Aussi retrouvés sous l'appellation de « radiotraceurs », l'utilisation de radioisotopes en écotoxicologie permet de suivre le métal dans un organisme ainsi que dans son milieu et sa nourriture, quasiment en temps réel (Agence pour l'énergie nucléaire (AEN), 1999).

Les avantages de l'utilisation des radioisotopes à émission gamma en écotoxicologie sont multiples puisque tout d'abord la détection des radioisotopes est possible en travaillant avec de faibles quantités de métaux. Il est également possible de travailler en s'affranchissant du bruit de fond des ETM naturellement présents (comme le Zn), ce qui rend possible la mise en place d'expérimentations à de faibles concentrations d'exposition de l'ordre de celles retrouvées dans l'environnement (Lanctôt et al., 2017; McDonald et al., 2020). Cela rend également possible la quantification individuelle d'un métal dans un organisme vivant et son suivi au cours du temps (Cresswell et al., 2017b, 2014a; Pouil et al., 2015). De plus, il est possible de suivre la bioaccumulation par différentes voies de contamination simultanément lorsque plusieurs radioisotopes d'un même métal sont disponibles (Cresswell et al., 2020). Par exemple, pour étudier simultanément la bioaccumulation d'un contaminant par la voie dissoute et la voie trophique, un premier radioisotope pourra être utilisé pour contaminer l'eau et un second pour contaminer la nourriture. Cela permettra de pouvoir distinguer la quantité de métal accumulée *via* l'eau de celle accumulée *via* la nourriture. En outre, lorsque des petits organismes sont utilisés, les faibles seuils de détection permettent de diminuer fortement le nombre d'organismes utilisés dans les

expérimentations²¹, ce qui permet de travailler dans des conditions de raffinement et de réduction des organismes utilisés en expérimentation animale (selon la règle des 3R en vigueur) (Cresswell et al., 2017b; McDonald et al., 2020). Enfin, l'analyse rapide et précise de la quantité de radioisotope dans des échantillons permet le suivi quasi-instantané des concentrations d'exposition dans des échantillons d'eau (Cresswell et al., 2020).

Malgré tous les avantages susmentionnés, de moins en moins d'études utilisant des radioisotopes sont réalisées, sûrement dû à la complexité de la mise en place de telles études, du fait d'une réglementation stricte et hautement contrôlée, mais également de son coût. De plus, un échantillon possédant une activité radioactive ne peut pas sortir du laboratoire de radioécologie. Donc lorsqu'un laboratoire ne comporte pas le matériel nécessaire pour effectuer certaines analyses, à l'échelle cellulaire ou moléculaire par exemple, elles ne peuvent pas être effectuées.

III. Pourquoi nous avons préalablement effectué une expérimentation avec du stable

Dans cette thèse, un premier travail a consisté à exposer des gammares par la voie dissoute à du cadmium stable à une forte concentration ($11 \mu\text{g.L}^{-1}$) par rapport à celles retrouvées dans l'environnement (Figure II-6). Les objectifs premiers de cette expérimentation étaient de : i) tester le protocole expérimental et sa faisabilité au laboratoire du LIENSs ; et ii) mettre en place les procédures de manipulation et de dissection des gammares, notamment compatibles ensuite avec l'utilisation d'isotopes radioactifs de métaux.

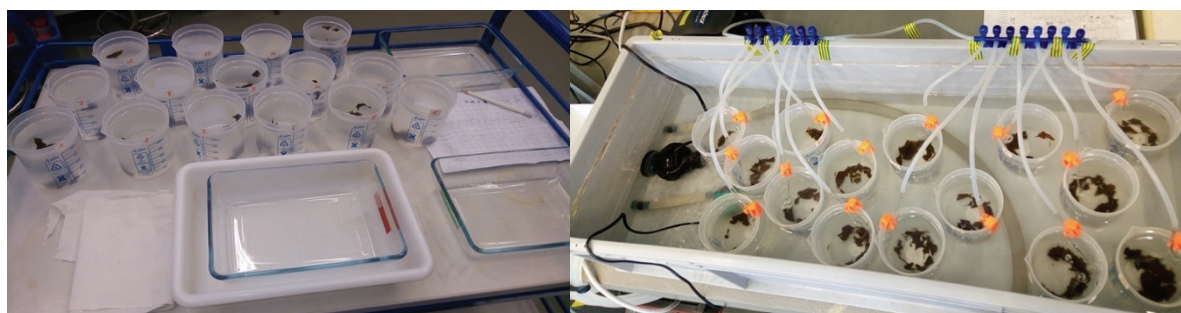


Figure II-6. Photographies du dispositif mis en place lors du changement d'eau des béchers (à gauche) et du dispositif expérimental (à droite).

Lors de cette première expérimentation, le suivi quotidien de la mortalité a pu révéler des disparitions régulières de certains individus. Il s'avère en effet que les gammares, comme beaucoup de crustacés (crevettes, écrevisses, homards, etc.), sont des individus cannibales, qui tuent et mangent leurs congénères. Ce comportement a essentiellement pu être observé pendant la phase

²¹ Lorsqu'il est nécessaire de pooler les organismes pour obtenir une biomasse d'échantillon suffisamment grande afin d'avoir une détection optimale de l'ETM utilisé.

d'accumulation/d'exposition pendant laquelle les gammares ne sont pas nourris. Cependant ce comportement est problématique dans le sens où lors d'une exposition par voie dissoute, seul le profil d'accumulation du Cd par la voie dissoute est pris en compte. Or, si certains gammares ingèrent des congénères contaminés, cela relève des mécanismes de bioaccumulation par voie trophique. Afin de supprimer ce biais pouvant entraîner une accumulation d'ETM par voie trophique, qui en plus est non constante et non maîtrisée, il a fallu séparer les individus les uns des autres pendant le temps des expérimentations. Cependant cette technique de séparation devait respecter plusieurs critères liés à la manipulation de radioisotopes de métaux. Ainsi le dispositif devait permettre : i) d'assurer que les gammares soient maintenus dans une eau oxygénée ; ii) un échantillonnage rapide et facile du gammare afin de limiter les risques de contaminations et le temps d'exposition du travailleur aux radiations ; et iii) de minimiser les volumes d'eau contaminée mis en déchet ensuite.

Deux solutions ont été proposées et testées : i) placer plusieurs tubes percés dans un même béccher à raison d'un individu par tube ; et ii) fabriquer des paniers individuels en tulle (Figure II-7).

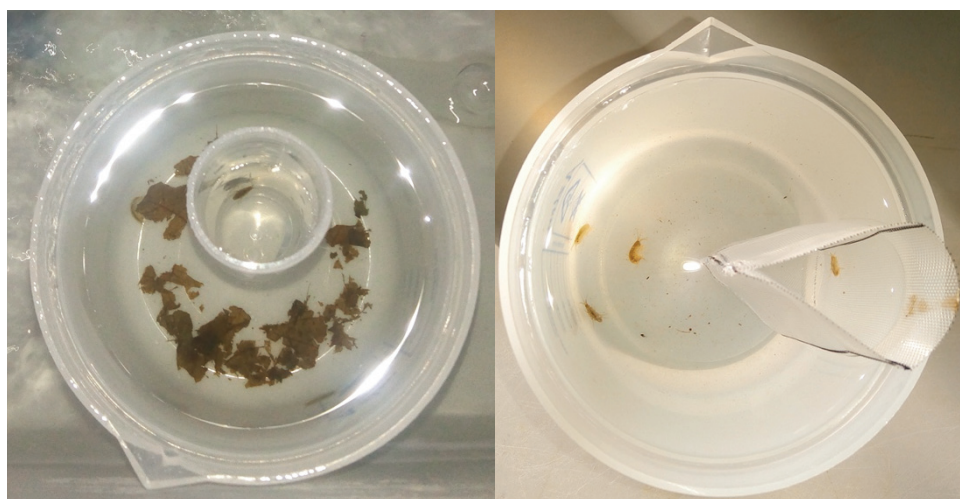


Figure II-7. Photographies des dispositifs pilotes testés pour séparer les gammares, montrant l'individualisation des organismes par système de tubes percés (à gauche) ou de paniers en tulle (à droite).

Après plusieurs essais, il s'est avéré que le diamètre minimal (3 mm) des mèches disponibles pour percer les tubes était trop gros puisque les gammares pouvaient quand même passer par les trous et s'échapper de leur loge. En revanche, le dispositif expérimental en tulle permettait de garder les gammares séparés à condition que la hauteur des murs de tulle en dehors de l'eau soient *a minima* d'une hauteur de 3 cm (puisque les gammares ont la capacité de grimper à la tulle même en dehors de l'eau). Le design final des paniers a permis d'exposer 8 gammares individuellement par béccher, tout en assurant une bonne homogénéité de l'eau dans les différents compartiments (Figure II-8). En revanche, un inconvénient majeur de ce système a été une augmentation conséquente de la surface d'adsorption des contaminants dissous, ce qui a nécessité un suivi biquotidien de la

concentration en radioisotope dans les eaux afin d'assurer une concentration de contamination la plus constante possible.



Figure II-8. Photographie d'un dispositif de paniers comprenant 8 compartiments d'individualisation.

Des jeux de paniers différents ont été fabriqués (Figure II-9) et utilisés pour : i) chaque radioisotope, afin d'éviter des contaminations croisées entre les radioisotopes ; et ii) les phases d'accumulation et de dépuration afin d'éviter que les paniers ayant adsorbé les radioisotopes en phase d'accumulation ne se désorbent dans l'eau en phase de dépuration.



Figure II-9. Photographie du processus manuel de fabrication des paniers d'individualisation des gammes.

IV. À la recherche de l'argent perdu

Au cours de la thèse, l'argent (Ag) a également été étudié au même titre que le Cd et le Zn. Cependant les expérimentations avec l'Ag ont souvent été avortées très rapidement, car les concentrations d'Ag dans l'eau se sont avérées très différentes entre les différents béchers, avec une absence d'Ag dans la plupart des béchers après l'ajout de la solution mère. Alors que dans quelques autres béchers, la concentration était trois fois supérieure à la concentration finale voulue.

Plusieurs pistes ont été analysées pour comprendre l'origine de cette hétérogénéité de concentrations entre les béchers. Plusieurs hypothèses ont alors été émises concernant la spéciation de l'Ag dans les différentes solutions utilisées ou sa possible adsorption le rendant moins disponible au niveau du compartiment eau. Ainsi, la première hypothèse était que l'Ag ait précipité dans la source, dans la solution de dilution mère intermédiaire ou dans les béchers ; et la seconde hypothèse porte sur le fait que l'Ag se serait adsorbé en très grande quantité sur les parois des paniers et des béchers.

La spéciation de l'Ag dans les différentes solutions n'a pu être vérifiée car le laboratoire de radioécologie du LIENSs de La Rochelle ne dispose pas d'instruments de mesure et d'observation de la spéciation des métaux. Cependant une combinaison des hypothèses émises est fortement probable, d'autant plus que l'Ag est connu pour être un élément difficilement manipulable dans les environnements dulçaquicoles. En effet, c'est un métal très réactif lorsqu'il est présent sous sa forme ionique, qui a tendance à se complexer avec de nombreux autres ions et/ou avec de la matière organique dissoute (Garnier-Laplace et Calmon, 2002).

Le pH acide (inférieur à 7) de la source et de la solution mère implique que l'Ag y est présent sous sa forme ionique stable Ag^+ . Cependant, l'eau d'Évian® utilisée au cours des expérimentations possède un pH de 7,2. Entre des pH de 7 et 8, l'Ag va avoir tendance à se complexer avec des ions présents dans le milieu, induisant un changement de spéciation et conférant à l'Ag une tendance à précipiter dans les eaux douces (Garnier-laplace, 1990). Enfin, contrairement au Cd et au Zn qui vont majoritairement se retrouver sous forme Cd^{2+} et Zn^{2+} dans les milieux dulçaquicoles, l'Ag ionique libre dans l'eau représente moins de 5% de l'Ag total (Tableau II-1), rendant difficile d'utiliser cet ETM lors d'expérimentation prenant en compte la voie dissoute (Garnier-Laplace et Calmon, 2002).

Tableau II-1. Spéciation du ^{110m}Ag dans les différents compartiments des milieux dulçaquicoles, proportion relative de chaque compartiment et facteurs abiotiques régissant la spéciation, modifié d'après (Garnier-laplace, 1990).

Compartiments	Spéciation et mécanismes mis en jeu	Fraction du ^{110m}Ag dans le compartiment (%)	Facteurs abiotiques influençant la spéciation
Eau	- Ions libres - Complexes minéraux - Complexes organo-métalliques	5	- pH, potentiel rédox, salinité - Composition chimique de l'eau : concentrations en ligand minéraux anioniques, en matières organiques solubles
Matières en suspension	- Absorption et échanges d'ions provenant des différentes formes solubles - Co-précipitation avec le fer ou le manganèse - Co-précipitation avec les carbonates	9	- Concentration de la matière en suspension, sédimentologie - pH, potentiel rédox et salinité de l'eau
Sédiment	Absorption et échanges d'ions	86	- Minéralogie, granulométrie et chimie du sédiment - pH, potentiel rédox et salinité de l'eau surnageante

Des tests préalables de contamination de disques de feuilles mortes et de chironomes vivants ont également été effectués au cours de ces travaux de thèse, en vue d'étudier la bioaccumulation de l'Ag par la voie trophique. Les feuilles mortes ont accumulé (absorption passive et adsorption) suffisamment d'Ag pour obtenir ensuite une quantité de métal ingérée et assimilée, par les gammare, suffisante pour acquérir une valeur fiable de comptage sur les détecteurs. Cependant, les chironomes n'ont pas accumulé assez de métal pour que la fraction d'Ag ingérée et assimilée par les gammare puisse être quantifiée précisément. L'une des hypothèses, paraissant la plus probable afin d'expliquer ce phénomène, revient aux problèmes de la spéciation de ce métal dans les milieux dulçaquicoles, qui fait que l'Ag n'est pas présent sous une forme biodisponible pour les organismes.



Chapitre III : La modélisation toxico-cinétique (TK) mono- et multi-compartiments du Cd, preuve de concept chez le gammare

Préambule

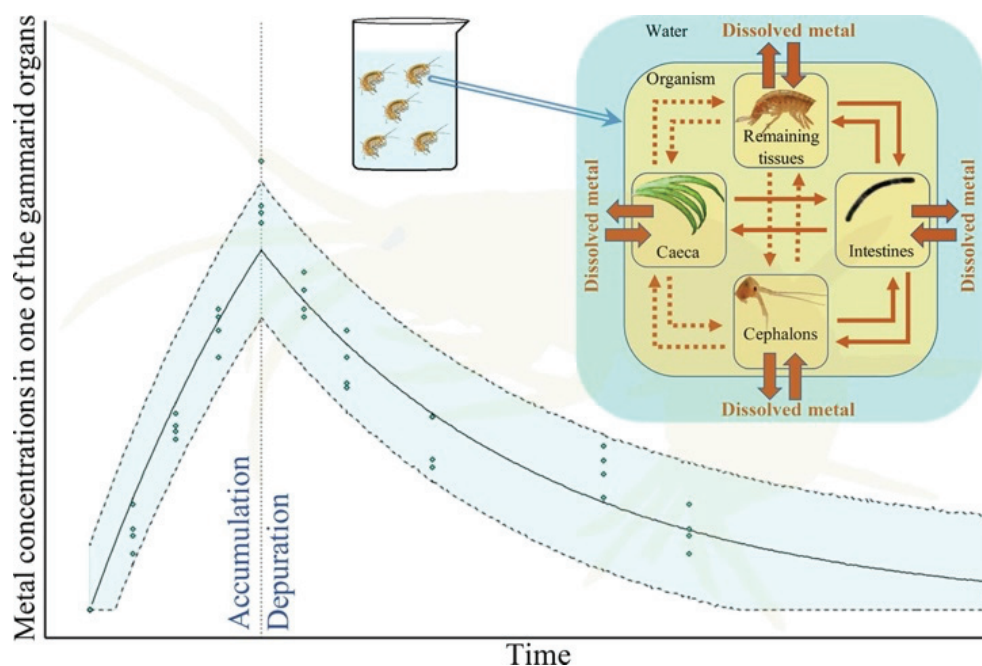
Les résultats présentés ici sont ceux du premier papier, publié dans *Environment International* en 2021, et intitulé « One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals organotropism and fate in *Gammarus fossarum* ». Il a été conçu comme une preuve de concept visant à démontrer que nous pouvons quantifier et modéliser le devenir de différents éléments traces métalliques dans les organes d'un petit invertébré sentinelle, le gammare.

L'objectif de cette étude est de décrire et comparer la dynamique de bioaccumulation et le devenir du Cd et du Hg dans les organes des gammarès. Des gammarès ont été exposés à des métaux dissous ($11,1 \pm 1,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Cd ou $0,27 \pm 0,13 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Hg) puis mis en eau propre (phase de dépuración). À chaque jour d'échantillonnage dans la phase d'accumulation et de dépuración, leurs organes (caeca, céphalon, intestin et tissus restants) ont été séparés par dissection avant analyses.

Article n°1

Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccia, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. Environ. Int. 156. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106625.

Résumé illustré



Faits marquants

- Le cadmium (Cd) ou le mercure (Hg) a été quantifié dans les organes de gammarés (*G. fossarum*) exposés par voie dissoute.
- Les paramètres cinétiques d'accumulation et de dépurcation ont été estimés par inférence Bayésienne couplée à des modèles toxico-cinétiques (TK).
- Le devenir des métaux dans les différents organes a été étudié au travers de modèles TK un- et multi-compartiments.
- Les modèles TK **un-compartiments** ajustés **séparément** à chaque organe donnent un meilleur résultat pour le Hg que les modèles multi-compartiments, suggérant une indépendance des organes les uns par rapport aux autres pour ce métal.
- A l'inverse, pour le Cd, les modèles TK **multi-compartiments** ajustés **simultanément** à tous les organes donnent un meilleur résultat, montrant en plus le rôle clé de l'intestin dans les processus ADME (Accumulation, Distribution, Métabolisation et Élimination) de ce métal.

Résumé de l'article, en français

L'utilisation d'invertébrés d'eau douce pour la biosurveillance est développée depuis plusieurs décennies, mais peu de choses sont connues sur les relations entre la concentration d'exposition externe des métaux et leur biodistribution dans les différents organes. Les modèles toxicocinétiques (TK) mono- ou multi-compartiments sont des outils puissants, permettant de formaliser et prédire comment un contaminant est bioaccumulé par/dans un organisme. L'objectif de cette étude est de développer des approches de modélisation afin d'améliorer les connaissances concernant la dynamique de l'accumulation et du devenir du cadmium (Cd) et du mercure (Hg) dans les organes des gammarus. Des gammarus (*G. fossarum*) ont été exposés à des métaux dissous ($11,1 \pm 1,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Cd ou $0,27 \pm 0,13 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Hg) lors d'une phase d'accumulation de 7 et 4 jours respectivement pour le Cd et le Hg. Cette première phase a été suivie par une phase de dépuration durant laquelle les gammarus ont été placés en eau propre, c'est-à-dire non contaminée. À différents pas de temps, des gammarus ont été échantillonnés et leurs organes cibles (caeca, céphalon, intestin et tissus restants) ont été séparés les uns des autres par dissection, avant d'être analysés par ICP-TQ-MS. Les résultats nous ont permis de déterminer que : i) *G. fossarum* absorbe le Cd aussi efficacement que la moule *M. galloprovincialis*, mais l'élimine plus rapidement ; ii) les organes qui accumulent et dépurent le plus de Cd, en termes de concentrations, sont les caeca et l'intestin que ce soit pour le Cd ou le Hg ; et iii) le modèle TK mono-compartiment est le plus pertinent pour le Hg, tandis que le modèle TK multi-compartiments permet un meilleur ajustement aux données du Cd, démontrant un transfert dynamique du Cd entre les organes.

Mots-clés

Amphipodes

Inférence bayésienne

Cadmium

Mercure

Organotropisme

Modèle toxicocinétique



Contents lists available at ScienceDirect

Environment International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envint



One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals' organotropism and fate in *Gammarus fossarum*

Ophélie Gestin^{a,b,c}, Thomas Lacoue-Labarthe^b, Marina Coquery^d, Nicolas Delorme^c, Laura Garnero^c, Lysiane Dherret^d, Théo Ciccica^c, Olivier Geffard^c, Christelle Lopes^{c,*}

^a Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive UMR 5558, 69622 Villeurbanne, France

^b Littoral Environnement et Sociétés (LIENSs), UMR 7266 CNRS – Université de la Rochelle, 2 rue Olympe de Gouges, 17000 La Rochelle, France

^c INRAE, RiverLy, Ecotoxicology Laboratory, 5 Avenue de la Doua, CS20244, 69625 Villeurbanne Cedex, France

^d INRAE, RiverLy, Aquatic Chemistry Laboratory, 5 Avenue de la Doua, CS20244, 69625 Villeurbanne Cedex, France

ARTICLE INFO

Handling Editor: Hefa Cheng

Keywords:

Organotropism
Amphipods
Cadmium
Mercury
Toxico-kinetic model
Bayesian Inference

ABSTRACT

The use of freshwater invertebrates for biomonitoring has been increasing for several decades, but little is known about relations between external exposure concentration of metals and their biodistribution among different tissues. One and multi-compartments toxicokinetic (TK) models are powerful tools to formalize and predict how a contaminant is bioaccumulated. The aim of this study is to develop modeling approaches to improve knowledge on dynamic of accumulation and fate of Cd and Hg in gammarid's organs. Gammarids were exposed to dissolved metals ($11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Cd or $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Hg) before a depuration phase. At each sampling days, their organs (caeca, cephalon, intestine and remaining tissues) were separated by dissection before analyses. Results allowed us to determine that i) *G. fossarum* takes up Cd as efficiently as the mussel *M. galloprovincialis*, but eliminates it more rapidly, ii) organs which accumulate and depurate the most, in terms of concentrations, are caeca and intestine for both metals; iii) the one-compartment TK models is the most relevant for Hg, while the multi-compartments TK model allows a better fit to Cd data, demonstrating dynamic transfer of Cd among organs.

1. Introduction

The environmental risk assessment aims at “contributing to the protection and management of the environment through scientifically credible evaluation of the ecological effects of human activities” (Suter, 2016). In this way, the European Water Framework Directive (WFD) 2000/60/EC qualified water as “a heritage that must be protected, defended and treated as such” and established a list of priority substances to be monitored, including cadmium (Cd) and mercury (Hg).

Although metallic contamination of water can occur through natural phenomena such as leaching or volcanism, the most important cause is anthropogenic through industrial and agricultural discharges (Zhou et al., 2008). While contamination of environment can be studied by direct analysis of chemicals in water or sediments these approaches are expensive and poorly integrative (Bertrand et al., 2019). Indeed, punctual samplings of water do not provide information on the

contamination history and none of the two matrices informs on bioavailability and the potential toxicity of the contaminant on the biota (e.g. Saleem et al., 2018). The use of sentinel species as bioindicators for biomonitoring of aquatic systems has been increasing for several decades (Kraak et al., 1991) and is currently recommended by WFD. Since the gammarid *Gammarus fossarum* is highly sensitive to various chemicals and can accumulate and transfer toxicants to upper trophic levels (Vellinger et al., 2012; Zhou et al., 2008), it represents an essential species for the biomonitoring. Active biomonitoring (caged organisms) of sentinel species to assess water quality has been largely deployed the last decade (Besse et al., 2013; Chaumot et al., 2015; Kunz et al., 2010).

The bioaccumulation in organisms results from the difference between uptake (from water or food for example) and elimination (as excretion or dilution by growth). In 1996, Amyot et al. (1996), underlined the necessity to understand the main pathways of uptake and distribution of contaminant among the different organs of invertebrates

* Corresponding author at: Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive UMR 5558, Université Lyon 1 (CNRS), 69622 Villeurbanne, France.

E-mail addresses: ophelia.gestin@etu.univ-lyon1.fr (O. Gestin), tlacouel@univ-lr.fr (T. Lacoue-Labarthe), marina.coquery@inrae.fr (M. Coquery), nicolas.delorme@inrae.fr (N. Delorme), laura.garnero@inrae.fr (L. Garnero), lysiane.dherret@inrae.fr (L. Dherret), theo.ciccica30000@hotmail.fr (T. Ciccica), olivier.geffard@inrae.fr (O. Geffard), christelle.lopes@univ-lyon1.fr (C. Lopes).

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>

Received 24 January 2021; Received in revised form 7 April 2021; Accepted 3 May 2021

Available online 16 May 2021

0160-4120/© 2021 The Authors.

Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

like amphipods. However, in the last 20 years, very few studies have been conducted in this area. The lack of data regarding bioaccumulation at the organ level of invertebrates results from the challenges of quantifying concentrations in small organisms (Grech et al., 2019). Indeed, mainly constrained by analytical detection thresholds, the studies on organism's tissues and organotropism's literature mainly focused on fishes for vertebrates, and we found only two studies concerning bivalves for invertebrates (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). To date, almost all literature about metals' bioaccumulation concerning amphipods, and more generally invertebrates, are focused on the entire organism (Hare et al., 2003). Consequently, definitive conclusions regarding the bioaccumulation mechanisms such as tissue distribution in freshwater invertebrates, like crustacean amphipods, could not be established (O'Callaghan et al., 2019). The few studies measuring metals concentrations in the organs of gammarids, or phylogenetically related genus, have been carried out based on punctual field sampled organisms (Amyot et al., 1996; van Hattum et al., 1996), and not with toxicokinetic experimental designs such as those routinely used in fishes (Gao et al., 2019; Huang et al., 2012).

Toxicokinetic (TK) is a dynamic process measuring the concentration accumulated into organisms over time according to the contamination pressure, by integrating the different accumulation, distribution, metabolism and elimination processes (ADME) (Huang et al., 2012; Ratier et al., 2019). TK models, coupled to Bayesian Inference to estimate their kinetic parameters, are powerful tools to predict and to confirm how a contaminant is bioaccumulated by an organism over time, in relation to the contamination sources (Ratier et al., 2019). Therefore, kinetic parameters of such models reflect the rates of accumulation and depuration and their estimation can be compared between species revealing their respective bioaccumulation and/or depuration capacities.

Two types of TK models exist: i) the one compartment model considers the entire organism, a tissue or an organ, as a homogeneous "box" for which uptake and elimination are only occurring between this "box" and the environment; ii) in contrast, the multi-compartments model takes in consideration the distribution of the contaminant among the different tissues and/or organs of an organism.

The one-compartment model is easy to implement and widely used in ecotoxicology for both vertebrates and invertebrates. Indeed, this model allows to link, with a simple formalism, the concentration of contaminant effectively bioaccumulated by an organism in relation to its exposure, even when considering different contamination sources and depuration processes. In this way, such one-compartment model is very useful to i) validate the potential of species for contaminant accumulation (Pery, 2008) and to compare the accumulation and depuration rates among species (Ju et al., 2011). This model is also useful to select the most relevant species for active biomonitoring for example; ii) study and identify the bioavailable fraction of contaminants (Pellet et al., 2009); and iii) make simple links between exposure and effects on organisms in toxicokinetic/toxicodynamic (TK-TD) models. Currently, the TK part of TK-TD models developed on invertebrates, whether GUTS or DEBtox (Baudrot et al., 2018; Jager, 2020; Jager and Ashauer, 2018) models, use the one-compartment TK models in order to predict contaminant bioaccumulation thereby ignoring the contribution of each organ (Gao et al., 2019).

On the contrary, by assessing contaminant exchanges among organs and by predicting the concentrations reached in the different tissues (van Hattum et al., 1989), multi-compartments TK models are more accurate from a physiological point of view. Such multi-compartments TK models are thus very useful to i) understand and describe the distribution and the fate of contaminant into the organism (McCarty and Mackay, 1993); and ii) to identify which organs play a key role in the accumulation and/or the regulation of contaminant (Chen, 2016; Gao et al., 2019), as a first step to develop relevant exposure and effective biomarkers for example. However, the lack of bioaccumulation data at the organ level for invertebrates has restricted the use of multi-

compartments TK models to vertebrates, such as fishes (Grech et al., 2017; Stadnicka et al., 2012).

In this context, the aim of our study was to establish a proof-of-concept by i) quantifying the bioaccumulation of two metals in the organs of a sentinel crustacean species, the gammarid *Gammarus fossarum*; and ii) proposing one and multi-compartments models, with their inference process associated, to improve our knowledge on the dynamic of these two metals accumulation and fate in gammarid's organs. To this end, males *G. fossarum* were exposed to dissolved, non-lethal high concentrations of cadmium and mercury (to ensure an accurate metal detection in tiny gammarids tissues) for 4 and 7 days before a depuration phase of 14 and 21 days. At different time points during these two phases, gammarids were dissected to collect their organs for metal measurements. Using these results we derived, for each metal, a one-compartment model fitted to each organ separately. In addition, a multi-compartments model, in association with the iterative Bayesian inference method, was developed in order to analyze data when fitted to all organs simultaneously.

2. Material and methods

2.1. Experimental section

2.1.1. Reagents and chemicals

Cadmium ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, > 98%) and mercury (Hg Certipur®, analytical standard at 1000 mg.L^{-1} in HNO_3 2 mol.L^{-1}) were purchased from Merck ®. Stock solutions of Cd (80 mg.L^{-1}) and Hg (1 mg.L^{-1}) were prepared in acidified (HNO_3 65% Suprapur®, 0.5%) Milli-Q® ultrapure quality water. Exposure concentrations, of $11.1 \pm 1.2 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ $\mu\text{g.L}^{-1}$ for cadmium and $0.27 \pm 0.13 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ for mercury, were obtained by diluting 70 μL of Cd stock solution or 200 μL of Hg stock solution into 500 mL of well water for which physico-chemical parameters are presented in Table S1. These low volumes of stock solution prevent any change in the pH of the water.

2.1.2. Collect, maintenance and selection of organisms

Adults *Gammarus fossarum* were collected, through 2- and 2.5-mm sieves, on a bygone watercress farm located in Saint-Maurice-de-Rémens (eastern central France). They were stored in plastic bottles containing ambient freshwater, and immediately transferred to the laboratories: Ecotoxicology Laboratory in INRAE Lyon for Hg experimentation and LIENSs in La Rochelle University for Cd experimentation. The organisms were acclimated in a 10 L aquarium filled with well water available in INRAE Lyon and with Evian® water (being the water with the closest characteristics to well-water) in La Rochelle, at $12 \pm 0.5 \text{ } ^\circ\text{C}$, with a dark:light cycle of 8:16 h for 10 to 15 days and under constant aeration. Organisms were fed *ad libitum* with alder leaves (*Alnus glutinosa*) collected at a site with negligible anthropic pressure and previously conditioned by immersion in groundwater for 6 days (Ratier et al., 2019). Freeze-dried Tubifex® worms, were added twice a week as a dietary supplement.

Only males between 20 and 30 mg wet weight were selected for the following experiments.

2.1.3. Exposure of gammarids

All the experiments were carried out in $12 \pm 0.5 \text{ } ^\circ\text{C}$ water baths, temperature, pH and mortality were monitored. The design is presented in Figure S1.

Gammarids ($n = 450$ for Cd; $n = 630$ for Hg) were randomly placed in 500 mL-beakers (30 beakers for Cd, each containing 15 gammarids; and 63 beakers for Hg, each containing 10 gammarids). During the exposure phase, each medium was totally renewed every two days for Cd and daily for Hg to ensure a constant exposure. Gammarids were not fed to avoid a metal accumulation through trophic pathway. At sampling time-points (Table S2), renewed water was sampled (just after and before renewal) for checking concentration levels. Water samples were



acidified (HNO₃ 65% Suprapur®, 0.5%) and stored at 4 °C until analysis. During the depuration phase, each beaker was renewed only with uncontaminated water, well water for Hg experiment and Evian® water for Cd experiment, and organisms fed *ad libitum* with *A. glutinosa* leaves. At the same time, dead gammarids were counted and removed. The characteristics of waters used for these experiments are presented in Table S1.

2.1.4. Gammarids dissection

Organs of interest (cephalons, caeca, intestines and remaining tissues) were sampled at days 0, 2, 5, 7, 9, 15, 21 for Cd and 0, 1, 2, 4, 7, 10, 14, 24 for Hg (Fig. S1), then stored at −80 °C before freeze-drying. At each sampling day, amphipods (3 replicates of $10 \leq n \leq 18$ of each organ for Cd or $n = 15$ for Hg) were randomly sampled from all the beakers, to have a homogeneous decrease of organism numbers in each beaker, gently dried with paper towel and weighted ± 0.1 mg. Then, gammarids were dissected according to the procedure described in Fig. S2. The cephalon was first separated from the body. Then the urosome was separated from the abdomen, revealing the caeca and the intestine which were then isolated from each other. Finally, cephalons, caeca, intestines and remaining tissues (i.e. the thoracic, the abdomen and the urosome) from all individuals sampled per replicate were pooled and stored at −80 °C before freeze-drying waiting for their analyses.

To express the metal concentrations measured in each organ per gram of dry weight, we previously performed dissections on pool of 15 organisms to estimate the respective percentage of each dry organ regarding the total wet weight of the whole gammarid (Tables S3 and S4), with *G. fossarum* dry weight representing 25% of the wet weight (Eq. (1)):

$$W_i = 0.25 \times \frac{\sum_{z=1}^{15} x_{i,z}}{y_z} \times 100 \quad (1)$$

where W_i is the percentage of the dry organ i ($i = 1..4$) regarding the total dry weight of the whole organism (in mg dw), $x_{i,z}$ is the dry weight of the organ i ($i = 1..4$) for the organism z ($z = 1..15$) (mg dw), y_z is the total wet weight of the z organisms constituting the pool (mg ww). $i = 1$ corresponds to intestines, $i = 2$ to caecum, $i = 3$ to cephalon and $i = 4$ to remaining tissues.

All along the experiment, for Cd and Hg experiments respectively, a single gammarid weighted in average 24.2 ± 1.2 and 26.3 ± 1.1 mg ww, with a respective percentage of 2.2% for intestines, 5% for caeca, 14% for cephalons and 78.8% for the remaining tissues.

The weights and concentrations presented next will always be expressed in dry weight (dw).

2.1.5. Cd and Hg analyses

$$\begin{cases} \frac{dC_i(t)}{dt} = k_{u,i} \times C_w + \sum_{j \neq i} k_{ji} \times C_j(t) - \sum_{j \neq i} k_{ij} \times C_i(t) - k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \\ \frac{dC_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} k_{ji} \times C_j(t) - \sum_{j \neq i} k_{ij} \times C_i(t) - k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } t > t_c \end{cases} \quad (4)$$

All chemical analyses were conducted at the Aquatic Chemistry Laboratory (LAMA) of INRAE, Lyon.

Waters and gammarids' organs samples which were contaminated by Hg were analyzed by a Direct Mercury Analyzer 80 (ThermoFisher Scientific). The limit of quantification (LOQ) for Hg was 0.025 ng or 0.010 $\mu\text{g.g}^{-1}$ of Hg for a 30 mg dry weight sample. The certified reference material (CRM) NIST® SRM® 2976 (mussel tissue) was used to check for method accuracy and precision. Samples which were

contaminated by Cd were prepared by microwave oven with nitric acid digestion (HNO₃ 65% Suprapur®) before being analyzed according to NF EN ISO 17294-2 (AFNOR, 2016) by inductively coupled plasma mass spectrometry with triple quadrupole technology (ThermoFisher Scientific iCAP™ TQ ICP-MS). The LOQ was 0.0010 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for waters and between 0.005 and 0.125 $\mu\text{g.g}^{-1}$ for organs samples (depending on the sample dry weight between 3 and 80 mg). The CRM used were TM 27-4 (Ontario lake water) for waters and BCR-278R (mussel tissue) for gammarids' organs samples.

Blank tests were carried out systematically to detect any possible contamination along the analytical chains. The CRM results were generally well within certified values. Three replicates of each pooled sample were subjected to analysis and relative standard deviations of their analyses (including sampling and analytical variability) were generally below 20%.

2.2. Toxicokinetic modeling and inference

2.2.1. One-compartment models

Here, a compartment represents an organ. Since gammarids weren't fed during the accumulation phase, we considered that contaminants' bioaccumulation is only carried out from water. Furthermore, since organisms exposed are adults and the maximum duration of experiments is 24 days, we neglected the growth of gammarids. As expressed in Ratier et al. (Ratier et al., 2019), the variation of internal concentration in an organ during time can thus be described by:

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = \begin{cases} -k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \\ -k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } t > t_c \end{cases} \quad (2)$$

where $C_i(t)$ is the internal concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i ($i = 1..4$) at time t (days), $k_{u,i}$ the accumulation rate from water (day^{-1}) for the organ i , $C_w(t)$ the external concentration in water ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) at time t , $k_{e,i}$ the elimination rate (day^{-1}) for the organ i and t_c the duration of the accumulation phase (days). As before, $i = 1$ corresponds to intestines, $i = 2$ to caecum, $i = 3$ to cephalon and $i = 4$ to remaining tissues.

As confirmed by the concentrations measured in water, we considered that C_w is constant during the experiment. As a consequence, Eqs. (2) and (3) can be analytically solved (Eqs. (S1) and (S2), SI).

2.2.2. Multi-compartments model

A multi-compartments model was developed to describe accumulation and fate of these metals through gammarid's organs, as shown in Fig. 1. The complete model therefore consists of 8 coupled ordinary differential equations (ODE): 4 for the accumulation phase (one for each organ) and 4 for the depuration phase (details in SI, Eqs. (S3) to (S10)), that can be generalized as:

where k_{ji} is the passage rate of contaminant from organ j ($j = 1..4$, with $j \neq i$) to organ i .

2.2.3. Bayesian inference

We used the Bayesian inference method proposed by Ratier et al. (Ratier et al., 2019) to estimate parameters of toxicokinetic models. We briefly summarize here the main information (see (Ratier et al., 2019)

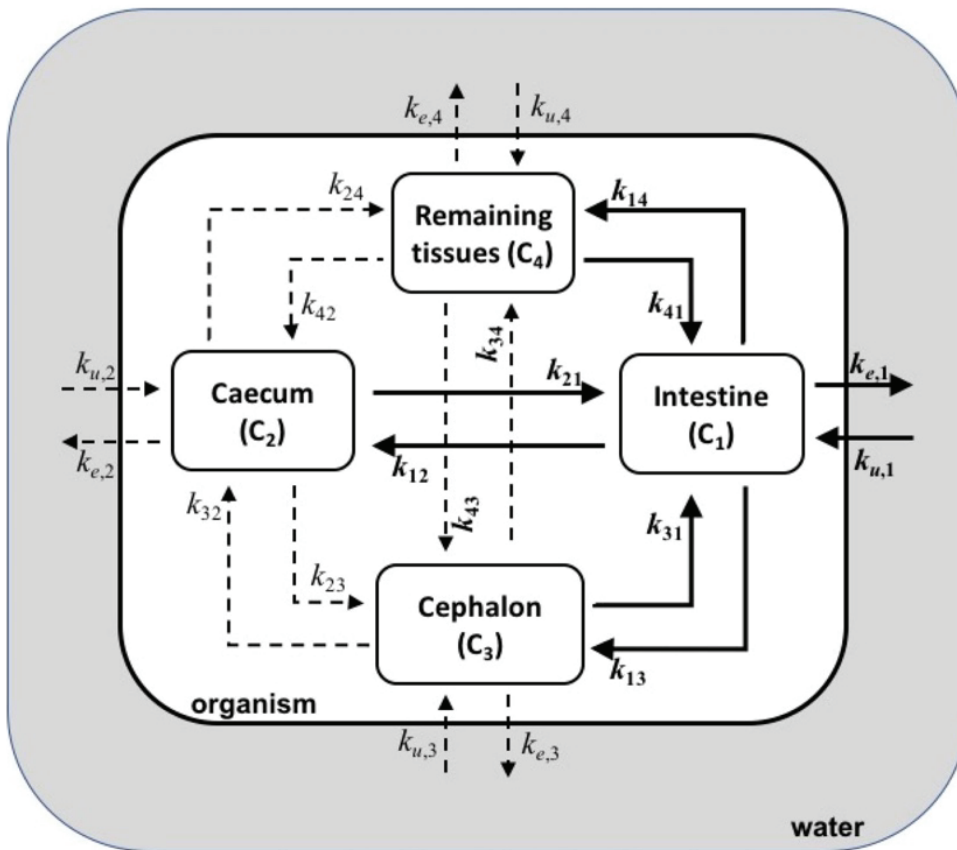


Fig. 1. General scheme of the multi-compartment model. The large grey outer border represents the medium surrounding the organism, here water, the white box represents the organism and inside it the organs of interest (cecum, cephalon, intestine, and remaining tissues), associated with their respective concentrations C_i ($i = 1$ for intestine, $i = 2$ for caecum, $i = 3$ for cephalon and $i = 4$ for remaining tissues). The different arrows represent the rates of uptake ($k_{u,i}$) and elimination ($k_{e,i}$) of contaminant between water and the organ i , and k_{ij} represents the flux from the organ i to the organ j . All the solid and dotted arrows form the complete model firstly tested (Eqs. (S3) to (S10)). Dotted arrows were successively fixed to zero to obtain, at the end, the “best” multi-compartment model consisting of arrows in solid line only.

for more technical details).

Stochasticity. We assumed a gaussian distribution of the contaminant concentration in an organ:

$$C_{obs,i}(t) \sim \mathcal{N}(C_i(t), \sigma_i) \quad (6)$$

where $C_{obs,i}(t)$ is the observed concentrations in the organ i ($i = 1..4$) at time t , $\mathcal{N}$ stands for the Normal law, with a mean $C_i(t)$, the internal concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight) in the organ i predicted by the model at time t (Eqs. (2) and (3) or (4) and (5) according to the case), and the standard deviation σ_i for the organ i ($i = 1..4$). Definition of priors. According to the few information in the literature concerning

accumulation and depuration of gammarids' organs, we chose a priori non informative laws: a Uniform law on the decimal logarithm scale for parameters concerning accumulation and elimination rates (due to the lack of information about the order of magnitude of these parameters) and a Gamma law for uncertainty parameters (Tables 1 and S6).

Implementation of the model – MCMC simulations. Model computation was performed with JAGS and R software (Plummer, 2003; R Core Team, 2017). Models were fitted to data (from analytical solutions for the one-compartment models and by using a Euler integration scheme for the multi-compartment model) by using Bayesian Inference via Markov chain Monte-Carlo (MCMC) sampling. In each case, we started by running a short sampling (5000 iterations after a burn-in phase of

Table 1
Parameters estimates of the TK one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) fitted separately to each organ of *Gammarus fossarum* exposed to dissolved Cd and Hg for 7 and 4 days, respectively, before being placed for 14 and 20 days, respectively, in depuration conditions.

Organs	Parameters	Priors	[Cd] = $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			[Hg] = $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
			Median	Percentiles		Median	Percentiles	
				2.5%	97.5%		2.5%	97.5%
Intestines	$k_{u,1}$	log10.Unif (-5,5)	1917	849.4	5059	2853	1848	4062
Caeca	$k_{u,2}$		1571	1274	1891	1807	1404	2261
Cephalons	$k_{u,3}$		91.1	71.9	111	424	389	477
Remaining tissues	$k_{u,4}$		135	120	150	673	608	737
Intestines	$k_{e,1}$	log10.Unif (-5,5)	0.506	0.174	1.580	0.122	0.053	0.235
Caeca	$k_{e,2}$		0.060	0.033	0.092	0.097	0.057	0.151
Cephalons	$k_{e,3}$		0.053	0.023	0.086	1.79e-03	1.33e-05	0.014
Remaining tissues	$k_{e,4}$		0.026	0.013	0.039	0.022	0.014	0.034
Intestines	σ_1	Gamma (0.001, 0.001)	11	8.0	17	0.694	0.518	1.013
Caeca	σ_2		16	12	24	0.317	0.237	0.455
Cephalons	σ_3		1.0	0.74	1.5	0.064	0.047	0.090
Remaining tissues	σ_4		0.95	0.69	1.4	0.071	0.053	0.103

$k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ are, respectively, the uptake and elimination rates (d^{-1}) of the organ i ($i = 1..4$); σ_i is the standard deviation of the Gaussian stochastic part associated to the organ i ($i = 1..4$); Priors: scale, law and interval of values tested during the inference process; Median and Percentiles: median and percentiles of the posterior distribution for each parameter, the percentiles corresponding to the lower and upper limit of the 95% credibility interval of each parameter.

10,000 iterations) using the Raftery and Lewis method (Raftery and Lewis, 1992) to set the necessary thinning and number of iterations to reach an accurate estimation of each parameter. MCMC sampling was based on 50,000 iterations for three chains after discarding the first 5000 iterations. Samples of 5000 iterations were stored to reduce autocorrelation. To monitor the convergence of the chains, we used a visual inspection as well as the Gelman criterion (Gelman et al., 1995).

Posterior distribution and relevance of model predictions. From the joint posterior distribution, we deduce the marginal posterior distribution for each parameter, which is summarized by the median and the 95% credible intervals (Table 1). The accuracy of model parameter estimation is visualized by comparing prior and posterior distributions (Figure S3): a thin posterior distribution reflects that the data bring enough information to precisely estimate parameters.

To check the relevance of model predictions, we represent observed data superimposed on the model simulated with the median of the posterior distribution for each parameter and the 95% credible band of the predicted data considering parameter uncertainties and stochasticity. To obtain the 95% credible band, the predicted data were simulated with the model (Eqs. (2) and (3) or (4) and (5)) for each MCMC iteration and the stochastic model considered for observed data (Eq. (6)).

Selection of the multi-compartments model. The modeling can be viewed as one hypothesis to be tested on the experimental data, and the structure of the model is then altered until the fitting on the data is satisfactory. The inference starts with the complete model consisting in considering all links between organs and water (Fig. 1, Eqs. (S3) to (S10) summarized by Eqs. (4) and (5)). Then, parameter(s) estimated at values close to zero are successively fixed to zero. The successive fits were compared according to the precision of each parameter estimation and the relevance of model predictions through the deviance information criterion (DIC), a Bayesian measurement that weighs the quality of model fit with its complexity. Lower DIC values are expected to effectively balance between predictive capacity and complexity of the model

(Spiegelhalter et al., 2002). At the end, the selected multi-compartments model was constructed based on two guiding principles: it contains the fewest compartments to adequately describe all the data simultaneously and reflects realistic physiology processes.

3. Results and discussion

3.1. Experimental conditions

The low levels of environmental dissolved metals accumulation in small organs (i.e. caeca, cephalons, intestines and remaining tissues), represent an important challenge for accurate detection and quantification (O'Callaghan et al., 2019). In order to obtain accurate measurements for bioaccumulation modeling, we exposed the gammarids to $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Cd or $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Hg. Under these conditions, Cd concentration in water decreased from 12.09 ± 0.12 to $10.06 \pm 0.24 \mu\text{g.L}^{-1}$, a 17% loss in 48 h (Table S2), with bioaccumulation in gammarids accounting for 50% of the observed Cd loss. Mercury concentrations in water decreased from 0.379 ± 0.008 to $0.158 \pm 0.028 \mu\text{g.L}^{-1}$, a 58% loss in 24 h (Table S2). However, only 10% of the loss could be explained by metal bioaccumulation in gammarids. We think that adsorption of Hg onto polypropylene beakers walls or volatilization in the atmosphere due to Hg^{2+} transformation into volatile $\text{Hg}(0)$ (European Chemicals Agency (ECHA), 2008) may account for the majority of Hg observed loss from the water. The survival rates of gammarids over the total experiments duration were 76% for Cd and 78% for Hg.

3.2. Organotropism of Cd and Hg in *G. fossarum*

All Cd and Hg concentrations in *G. fossarum* samples were above the LOQ, regardless the tissue and the sampling time, allowing reliable measurements of metals concentrations. Fig. 2 and S4 and Tables S3 and S4 show the concentration observed in organs for both metals during the

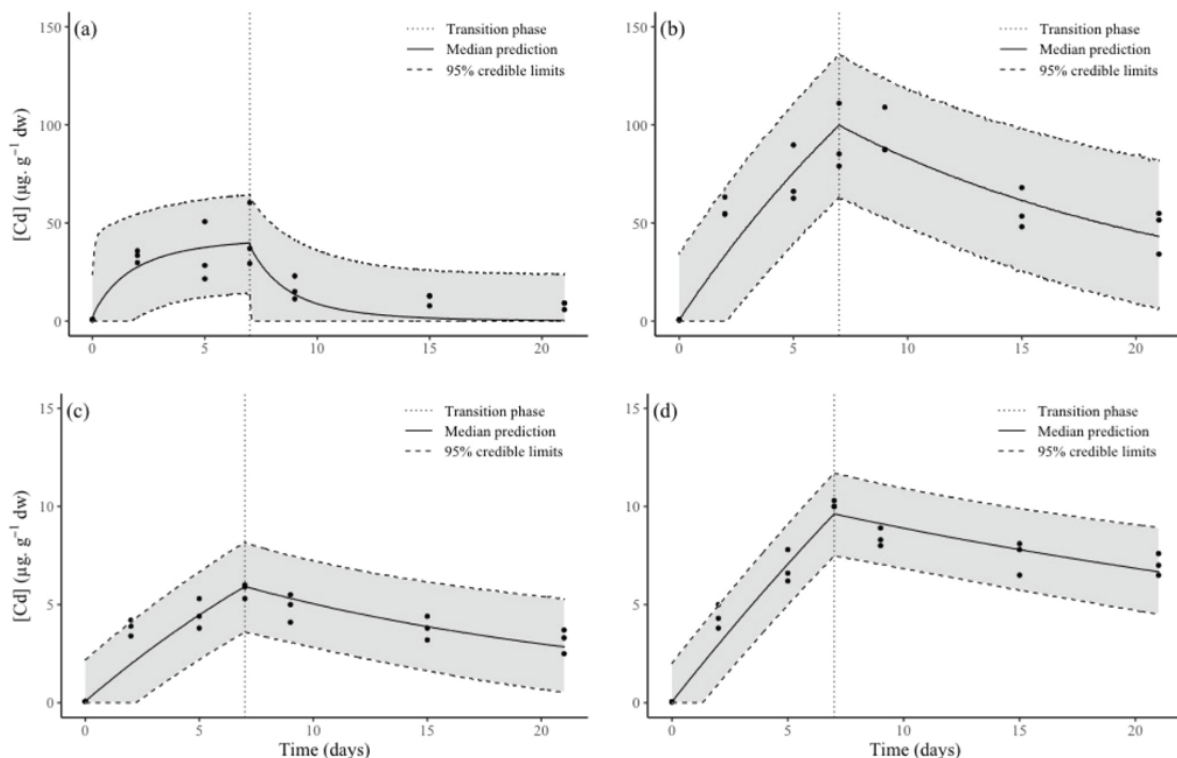


Fig. 2. Measured (dots) and predicted (solid and dashed) Cd concentrations with the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) for a) intestines; b) caeca; c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$, during the uptake (days 0–7) and depuration (days 7–21) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d.

experiments.

Cadmium. Before exposure (i.e. day 0), the highest Cd concentrations were found in intestines ($0.806 \pm 0.160 \mu\text{g.g}^{-1}$) and caeca ($0.648 \pm 0.093 \mu\text{g.g}^{-1}$), then in cephalons ($0.067 \pm 0.006 \mu\text{g.g}^{-1}$) and the lowest concentrations were found in remaining tissues ($0.048 \pm 0.006 \mu\text{g.g}^{-1}$). During the exposure phase, the concentrations increased in all organs to reach maximal values at day 7 for intestines ($42.3 \pm 16.2 \mu\text{g.g}^{-1}$), caeca ($91.9 \pm 17.2 \mu\text{g.g}^{-1}$), cephalons ($5.7 \pm 0.4 \mu\text{g.g}^{-1}$) and remaining tissues ($10.1 \pm 0.2 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Fig. 2 and Table S3). Then, during the 15 days of the depuration phase, the concentrations decreased by 83% in intestines, 51% in caeca, 44% in cephalons and 31% in remaining tissues (Fig. 2 and Table S3). Interestingly, the accumulation in the intestines reached a plateau on the second day of exposure and the elimination was extremely rapid, with 75% of the loss occurring during the first two days of the depuration phase.

Our results are consistent with those previously reported by Amyot et al. (1996) showing that caeca and intestines have the highest Cd concentrations in *Gammarus fasciatus* from Lake St Louis, Canada, suggesting that concentration were metal and tissue dependent. In addition, Pellet et al. (2009) have shown a similar accumulation and depuration of Cd in whole *Gammarus pulex* when compared with *Asellus aquaticus*. Regarding *A. aquaticus* organs, Cd concentrations range from hepatopancreas > intestines >> cephalons $\approx$ remaining tissues when they were sampled in highly polluted rivers (van Hattum et al., 1996). Notably, these values are of the same order of proportion as those recorded in our experiments (Fig. 2).

Bioaccumulation quantification in freshwater invertebrates' tissues is analytically more restrictive due to the very low weight of the samples when compared to fishes' tissues (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). Consequently, a very limited number of studies have investigated Cd accumulation and depuration in the organs of freshwater amphipods, and in particular in gammarids which is considered a model organism for biomonitoring. For these reasons, modern studies on metal bioaccumulation quantification in freshwater invertebrates' tissues are using more advanced techniques such as radioisotopic metals. High sensitivity and traceability allow to measure very low levels present in small organisms or at environmental concentrations. Following exposure to dissolved ^{109}Cd autoradiography in the prawn *Macrobrachium australiense* revealed a high accumulation of the metal in hepatopancreas (Cresswell et al., 2017), an organ analog of gammarids' caeca.

Mercury. At day 0, the highest Hg concentrations were found in the intestines ($0.095 \pm 0.006 \mu\text{g.g}^{-1}$), then in the caeca ($0.032 \pm 0.004 \mu\text{g.g}^{-1}$), the remaining tissues ($0.016 \pm 0.001 \mu\text{g.g}^{-1}$) and the cephalons ($0.014 \pm 0.001 \mu\text{g.g}^{-1}$). At the end of the exposure phase, Hg concentrations increased in all organs, values in descending order were: intestines ($2.14 \pm 0.45 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\approx$ caeca ($2.05 \pm 0.60 \mu\text{g.g}^{-1}$) >> remaining tissues ($0.63 \pm 0.09 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\approx$ cephalons ($0.58 \pm 0.09 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Fig. S4 and Table S4). After the 20 days depuration phase, the concentrations decreased by 82% in the intestines, 79% in the caeca, 24% in the cephalons and 42% in the remaining tissues (Fig. S4). Interestingly, depuration mostly occurred during the first 3 days and Hg concentrations in the cephalon remained constant thereafter suggesting a very slow process of depuration in this organ (Fig. S4 and Table S4).

It is well known that marine fishes can accumulate dissolved metals in their intestines by drinking to regulate their osmotic balance and avoid dehydration (Wood et al., 1999; Zhang and Wang, 2007). However, information on bioaccumulation of Hg in freshwater gammarid organs is lacking. Most of the studies to this date have focused on bivalves, shrimps, crabs and fishes (Boening, 2000) and revealed high Hg accumulation in the intestines of mollusk and fish species (Pelletier and Maheu, 1996; Peng et al., 2016; Wang and Wang, 2015). In view of our data, intestines can represent an initial site for metal accumulation in vivo and then serve as a secondary source allowing distribution of metals to other organs. In fact, this has been shown to be the case for Hg accumulation in the marine fish *Siganus canaliculatus* (Peng et al., 2016).

Aside from the intestines, caeca is well known for its capacity to

accumulate metals (Amyot et al., 1996) and represent the main site for storage, regulation and metallic detoxification in crustaceans (Correia et al., 2002).

The low Hg depuration efficiency in cephalons can be explained by previous studies showing that Hg in its methylmercury (MeHg) form depurates slower (~ 2.8 times) than in inorganic species (Kidd et al., 2012) and is highly concentrated in the ventral nerve cord of grass shrimp (Boening, 2000). Dutton and Fischer (Dutton and Fisher, 2011) found that MeHg easily cross the intestinal barrier in killifish, and showed that a decrease of Hg(II) and MeHg in the intestines coincides with an increase in the heads of killifishes. In the present study, i) the total Hg concentrations in gammarid cephalons confirmed the Hg tropism for nervous tissues while ii) the low elimination rate raises the possibility that Hg accumulates as MeHg form, suggesting an in vivo methylation of inorganic Hg in gammarid (Jereb et al., 2003). Further experiments are needed to confirm this hypothesis.

3.3. Modeling of Cd and Hg accumulation and fate predictions in *G. fossarum*'s organs

For both metals, two types of toxicokinetic models were fitted to the experimental data of both accumulation and elimination: a one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) on each organ dataset separately (Fig. 2 and Tables S3 and S4); and a multi-compartments model (Eqs. (4) and (5)) on all organ datasets simultaneously (Fig. 3 and Tables S3 and S4).

3.3.1. One-compartment model

For all fits, the inference process quickly converged, and thin posterior distributions were obtained for each kinetic parameter suggesting that data offer sufficient information to accurately estimate model parameters (Figure S3). Median values and 95% credible intervals for each parameter are summarized in Table 1 and the median model predictions associated to their 95% credible intervals, superimposed to observed data, are represented in Fig. 2 for each organ. For all organs, 95% credible intervals around model predictions encompassing between 96% and 100% of observed data. The estimates of accumulation rates ($k_{\text{li},i}$ parameters, Table 1) were generally higher for Hg than for Cd. In accordance with differences of accumulation efficiency among organs discussed above, k_{li} of intestines and caeca were respectively i) 21 and 17 times higher compared to cephalons and 14 and 12 compared to remaining tissues, for Cd; and ii) 6.7 and 4.2 times higher compared to cephalons and 4.2 and 2.7 compared to remaining tissues, for Hg.

Regarding the elimination rates ($k_{\text{e},i}$ parameters), values (Table 1) were in the same order of magnitude between both metals for all organs, except for cephalons that showed a very low value of k_{e} with Hg. As for k_{li} , we can observe differences between organs, with intestines and then caeca showing the highest k_{e} estimates: i) with Cd, the k_{e} value of intestines was 8.4, 9.5 and 19 times higher when compared to the ones of caeca, cephalons and the remaining tissues; and ii) for Hg, intestines and caeca showed similar k_{e} values but respectively 68 and 54 times higher when compared to cephalons and 5.5 and 4.4 times higher when compared to the remaining tissues.

We must notice here that k_{li} and k_{e} parameters determined for each organ (considered as a single homogeneous compartment) showed a high correlation (Table S5) but it is intrinsic to the writing of the model (Eqs. (2) and (3)). Such structural correlation justifies the use of Bayesian inference to simultaneously estimate them from accumulation and depuration data, taking into account their correlation in their estimation (Ratier et al., 2019).

The last parameters σ_i (Table 1) correspond to the uncertainty around concentrations measured for each organ (Eq. (6)) and thus reflect the variability of the measured data. Indeed, the less variable the data, the more precise are the predictions and therefore the lower is the uncertainty around these predictions. Intestines and caeca showed the highest σ values, suggesting that uncertainty around model predictions

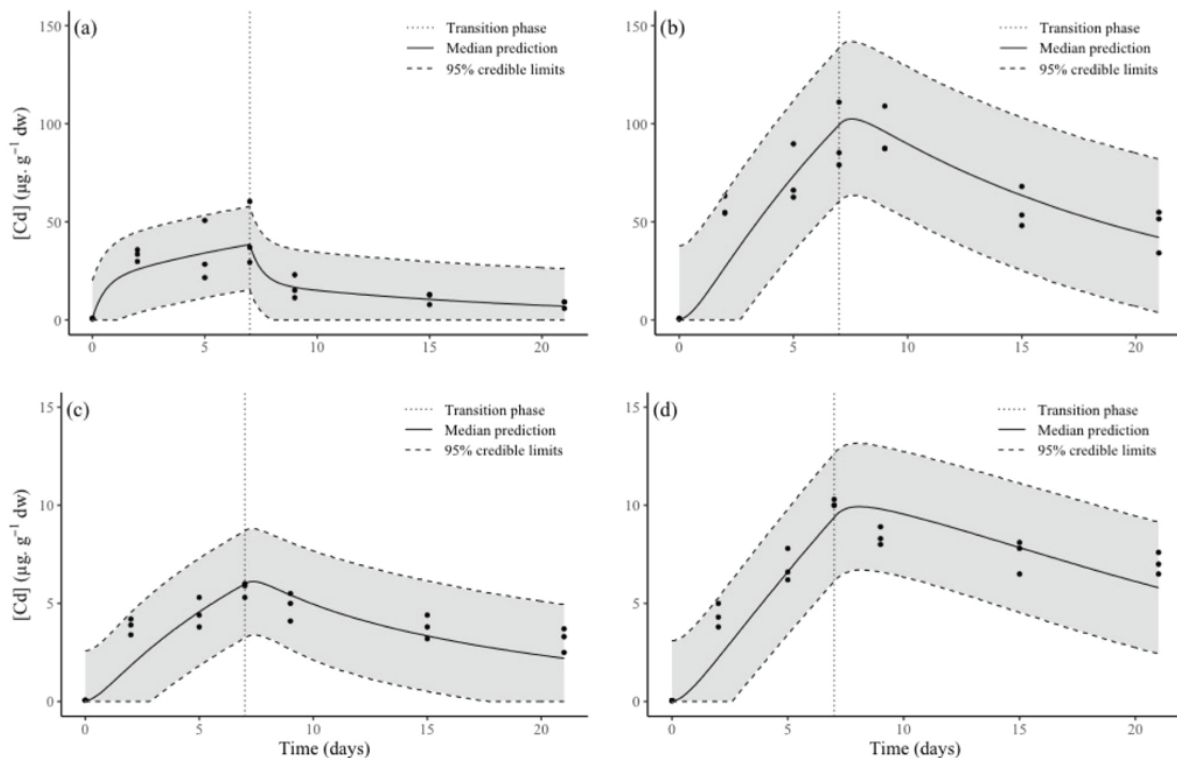


Fig. 3. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Cd concentrations with the multi-compartments model (Eqs. (4) and (5)) in a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$, during the uptake (days 0–7) and depuration (days 7–21) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d.

for both of these organs are higher than the ones for cephalons and the remaining tissues. This is confirmed with the 95% credible band around model predictions showed in Fig. 2, the width of this band is directly linked to the corresponding σ value. The high variability observed with the intestines and the caeca data can reflect measurements on very low average weights (Eq. (1)), since the intestines and the caeca represent only 2.2% and 5% of an entire gammarid weight.

To our knowledge, there are few studies estimating the toxicokinetic parameters at the organ level in freshwater or marine invertebrates, and most studies have been performed on bivalves (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). Ju et al. collaborators (2011) studied the bioaccumulation of Cd in the intestines of the trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to 0.6, 2.2 and $30.3 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$. They estimated k_{u} to 0.018, 0.028 and 0.013 d^{-1} and k_{e} to 0.124, 0.185 and 0.0747 d^{-1} , respectively. In the present study, values of k_{u} for *G. fossarum* are 70,000 to 150,000 times higher than *O. mykiss*, whereas k_{e} value were only 2.7 to 6.7 times higher (Table 1). In the same study (Ju et al., 2011), the bioaccumulation of Cd in i) the liver of the trout *O. mykiss* exposed to 5, 25 and $50 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$, demonstrated a k_{u} of 1.18, 0.72 and 1.01 d^{-1} and k_{e} of $1\text{e-}05$, $6\text{e-}06$ and $1\text{e-}06 \text{ d}^{-1}$, respectively; and ii) the digestive gland of the clam *Ruditapes decussatus* exposed to 4 and $40 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$, had an estimated k_{u} of 175 and 122 d^{-1} and k_{e} of $7\text{e-}07$ and $9\text{e-}07 \text{ d}^{-1}$, respectively while k_{u} was 20.9 and 16.2 d^{-1} respectively for the remaining tissues and k_{e} of 0.003 d^{-1} for both exposure.

Rocha et al. (Rocha et al., 2015), studied the bioaccumulation of Cd in the digestive gland and remaining tissues of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to $10 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$ for 21 days. They estimated k_{u} to 1390 d^{-1} and 120 d^{-1} , respectively but no k_{e} could be determined for both organs.

For the caeca of *G. fossarum*, the value of k_{u} was similar to the digestive gland of *M. galloprovincialis*, but 10 times higher than *R. decussatus* and 1000 times higher than the liver of *O. mykiss*, while the values of k_{e} was 67,000 to 86,000 times higher than clams and 1000 times higher than trouts. For the remaining tissues, k_{u} value was similar

to *M. galloprovincialis* but was 6–8 times higher than *R. decussatus* and the values of k_{e} was 8.6 times higher than clams.

Based on comparisons between bivalves and trout, data confirm that *G. fossarum* is as high of a Cd accumulator as the mussel *M. galloprovincialis*, but also an efficient depurator species.

These results are based on the fit of a one-compartment model to each organ separately, as if each organ bioaccumulates metal independently from one another. Going back to the model predictions superimposed to observed data (Fig. 2), and particularly the fit concerning the intestines (Fig. 2a), it is noteworthy that the model under-estimates observed Cd data between days 15 and 21. Indeed, the median prediction is at 0 from day 15 whereas data observed, while they are in the upper half of the 95% credible intervals of model predictions, seem to be at a plateau of $11 \mu\text{g.g}^{-1}$ from day 15 to day 21. This suggests that the intestines eliminate Cd very rapidly, but their concentrations remained at a minimal threshold presumably because of a constant flow from the other tissues. This observation highlights the fact that the one-compartment model undermines more complex metal transfer among different organs.

The use of one-compartment models in adults' organs has limits in the quantification and comprehension of ADME processes (Gao et al., 2019). As a result, it will be better to use a multi-compartment model (Hare et al., 2003) because more parameters can be considered in analyses and interpretations (Adams et al., 2010). In view of the role of the intestines, underlined with the data and the model fit, we can assume that i) the intestines play a very important role in accumulation and depuration, even for dissolved pathway; and ii) the existence of a strong link of exchanges between the different organs, mostly between the intestines and the other organs making the use of multi-compartments models relevant.

3.3.2. Multi-compartments model

Because metals' distribution is not homogeneous among the different organs, multi-compartments models are used to make assumptions

about the likely related organs and their exchanges rates (Grech et al., 2017).

The best multi-compartments model selected, based notably on fits, thin posterior distributions for all parameters, simultaneously estimated and the smallest DIC value is the one represented by solid arrows in Fig. 1. Notably, the same model was retained at the end for Cd and Hg. The estimates of kinetic parameters are presented in Table S6, with respective median and their 95% credible intervals. The multi-compartment model for Cd in the intestines between days 15 and 21 allows a better fit of the model to the data (Fig. 3), than with one compartment model (Fig. 2), without reducing the quality of fit for the other organs. The multi-compartments model that best fits the data for Cd shows that i) accumulation of dissolved metals from water and depuration would occur through the intestines, with a $k_{u,1}$ two times higher for the intestines in the multi-compartments model than those of one compartment model but with the same $k_{e,1}$ for both models; and ii) other organs of the gammarids would all accumulate from and all depurate into the intestines (Table S6), with a strong accumulation rates from the intestines to caeca. All these conclusions are consistent with the role of each organs and their physiology in gammarids (Figure S2).

Even if the selected multi-compartments model fit well the data for both metals (Fig. 3 for Cd and S5 for Hg) with 98.8% and 91.7% of observed data for Cd and for Hg, respectively, included in the 95% credible intervals of the model predictions, we found a better fit to observed data when using the one compartment model for Hg. These results confirm that for Hg, the four organs have a better fit when they are modeled individually using a one compartment model, than when using a multi-compartments model connecting all the organs together. This suggests that gammarids manage Cd and Hg differently. Hg contamination, accumulation and depuration rates of each organ seem to be independent of each other. Altogether, our results underline the fact that the intestines play a key role in the accumulation process of Hg, while the cephalon may be more important as an organ storage for Hg, as previously proposed in the literature (Dutton and Fisher, 2011; Jereb et al., 2003).

4. Conclusions

By using high concentrations of dissolved metals (regarding *in situ* contamination levels), we were able to quantify their concentrations in the different organs of *G. fossarum* and determine which organs accumulate and depurate the most. Our results demonstrate that the caeca and the intestines are the most important for both metals. Consequently, the TK model that is most relevant for Hg is the mono-compartment one, while the multi-compartments one allows a better fit to the Cd data. The fact that the one-compartment TK models are the ones which fitted the best Hg data suggests that the organs act independently from one another with regard to bioaccumulation of this metal. The best multi-compartment TK model for Cd demonstrates a central role of intestines. This work was set as a proof-of-concept aiming to demonstrate that we can quantify and model the fate of different trace elements (i.e. Cd and Hg) among organs of a small sentinel invertebrate. This study provided a general framework to fit TK multi-compartments models and to select the optimal one that describe the best all organs' data simultaneously, and thus help in understanding the role of each organ. Our study further shows that the models' outputs are metal-specific, confirming contrasting organotropism, fate and regulation of metals in a freshwater invertebrate species. Such results are particularly relevant to identify key organ on which biomarkers of contamination effects would be developed to link exposure to effect (TK-TD models) but would request next steps of improvement by i) integrating gills apart from remaining tissues in the TK models, considering their direct contact with contaminated environment and their role in the ADME processes and fate of metals (McDonald et al., 2020); ii) setting up experiments at environmentally relevant concentrations of the order of ng.L^{-1} , by using more sensitive techniques such as radioisotopic metals (Cresswell et al.,

2017; Lanctôt et al., 2017); and/or iii) extending this method to other metals such as zinc, allowing a comparison between known contrasting physiologically-based management of trace elements.

CRedit authorship contribution statement

Ophélie Gestin: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing - original draft. **Thomas Lacoue-Labarthe:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Writing - review & editing. **Marina Coquery:** Methodology. **Nicolas Delorme:** Methodology. **Laura Garnero:** Methodology. **Lysiane Dherret:** Methodology. **Théo Ciccica:** Methodology. **Olivier Geffard:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Writing - review & editing. **Christelle Lopes:** Supervision, Conceptualization, Formal analysis, Methodology, Writing - review & editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgment

This work has been supported by the APPROVe project funded by the ANR (ANR-18-CE34-0013-01).

This work benefitted from the French GDR "Aquatic Ecotoxicology" framework which aims at fostering stimulating scientific discussions and collaborations for more integrative approaches.

We thank Ghislaine Grisot (INRAE) for her help for Hg analyses and also Hervé Quéau (INRAE), Martine Bréret (La Rochelle University-CNRS), Emmanuel Dubillot (La Rochelle University) for their technical support.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>.

References

- Adams, W.J., Blust, R., Borgmann, U., Brix, K.V., DeForest, D.K., Green, A.S., Meyer, J.S., McGeer, J.C., Paquin, P.R., Rainbow, P.S., Wood, C.M., 2010. Utility of tissue residues for predicting effects of metals on aquatic organisms. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 75–98. <https://doi.org/10.1002/ieam.108>.
- AFNOR, 2016. Qualité de l'eau - Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) - Partie 2: dosage des éléments sélectionnés y compris les isotopes d'uranium. NF EN ISO. AFNOR, Paris, pp. 17294–17302.
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., Désy, J.C., 1996. Total metal burdens in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus*: contribution of various body parts and influence of gut contents. *Freshw. Biol.* 35, 363–373. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.00493.x>.
- Baudrot, V., Veber, P., Gence, G., Charles, S., 2018. Fit reduced GUTS models online: from theory to practice. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 14, 625–630. <https://doi.org/10.1002/ieam.4061>.
- Bertrand, L., Monferrán, M.V., Valdés, M.E., Amé, M.V., 2019. Usefulness of a freshwater macrophyte (*Potamogeton pectinatus*) for an environmental risk assessment in a multi-source contaminated basin. *Chemosphere* 222, 1003–1016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.018>.
- Besse, J.P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., Geffard, O., 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: towards the determination of threshold values. *Water Res.* 47, 650–660. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024>.
- Boening, D.W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40, 1335–1351. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00283-0).
- Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J., Maltby, L., 2015. Gammarids as Reference Species for Freshwater Monitoring. *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5>.
- Chen, W.Y., 2016. Toxicokinetic modeling challenges for aquatic nanotoxicology. *Front. Mar. Sci.* 2, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00114>.



- Correia, A.D., Costa, M.H., Ryan, K.P., Nott, J.A., 2002. Studies on biomarkers of copper exposure and toxicity in the marine amphipod *Gammarus locusta* (Crustacea): I. Copper-containing granules within the midgut gland. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 82, 827–834. <https://doi.org/10.1017/S0025315402006197>.
- Cresswell, T., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A., Corry, M., Simpson, S.L., 2017. Metal transfer among organs following short- and long-term exposures using autoradiography: cadmium bioaccumulation by the freshwater prawn *Macrobrachium australiense*. *Environ. Sci. Technol.* 51, 4054–4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06471>.
- Dutton, J., Fisher, N.S., 2011. Bioaccumulation of As, Cd, Cr, Hg(II), and MeHg in killifish (*Fundulus heteroclitus*) from amphipod and worm prey. *Sci. Total Environ.* 409, 3438–3447. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.022>.
- European Chemicals Agency (ECHA), 2008. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment - Appendix R.7.13-2: Environmental risk assessment for metals and metal compounds, European Chemicals Agency.
- Gao, Y., Zhang, Y., Feng, J., Zhu, L., 2019. Toxicokinetic–toxicodynamic modeling of cadmium and lead toxicity to larvae and adult zebrafish. *Environ. Pollut.* 251, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.003>.
- Gelman, A., Carlin, J.B., Stern, H.S., Rubin, D.B., 1995. Bayesian Data Analysis, first ed. Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9780429258411>.
- Grech, A., Brochot, C., Dorne, J., Lou, Quignot, N., Bois, F.Y., Beaudouin, R., 2017. Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals. *Sci. Total Environ.* 578, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.146>.
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F.Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J.L., Quignot, N., Beaudouin, R., 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Sci. Total Environ.* 651, 516–531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.163>.
- Hare, L., Tessier, A., Borgmann, U., 2003. Metal sources for freshwater invertebrates: pertinence for risk assessment. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 9, 779–793. <https://doi.org/10.1080/713610009>.
- Huang, S.S.Y., Strathe, A.B., Hung, S.S.O., Boston, R.C., Fadel, J.G., 2012. Selenocompounds in juvenile white sturgeon: Estimating absorption, disposition, and elimination of selenium using Bayesian hierarchical modeling. *Aquat. Toxicol.* 109, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.11.005>.
- Jager, T., 2020. Revisiting simplified DEBtox models for analysing ecotoxicity data. *Ecol. Modell.* 416, 108904. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108904>.
- Jager, T., Ashauer, R., 2018. Modelling survival under chemical stress to the GUTS framework.
- Jereb, V., Horvat, M., Drobne, D., Pihlar, B., 2003. Transformations of mercury in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea). *Sci. Total Environ.* 304, 269–284. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00574-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00574-0).
- Ju, Y.-R., Chen, W.-Y., Singh, S., Liao, C.-M., 2011. Trade-offs between elimination and detoxification in rainbow trout and common bivalve molluscs exposed to metal stressors. *Chemosphere* 85, 1048–1056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.033>.
- Kidd, K., Clayden, M., Jardine, T., 2012. Bioaccumulation and biomagnification of mercury through food webs. In: Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N. (Eds.), *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury*. John Wiley & Sons, pp. 453–499. <https://doi.org/10.1002/9781118146644.ch14>.
- Kraak, M.H.S., Scholten, M.C.T., Peeters, W.H.M., Kock, W.C. De, 1991. Biomonitoring of heavy metals in the western European rivers rhine and meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environ. Pollut.* 74, 101–114. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(91\)90107-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(91)90107-8).
- Kunz, P.Y., Kienle, C., Gerhardt, A., 2010. *Gammarus* spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. In: Reviews of environmental contamination and toxicology. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1.
- Lancôt, C.M., Cresswell, T., Melvin, S.D., 2017. Uptake and tissue distributions of cadmium, selenium and zinc in striped marsh frog tadpoles exposed during early post-embryonic development. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.047>.
- McCarthy, L.S., Mackay, D., 1993. Enhancing ecotoxicological modeling and assessment. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1718–1728. <https://doi.org/10.1021/es00046a001>.
- McDonald, S., Cresswell, T., Hassell, K., 2020. Bioaccumulation kinetics of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Paratya australiensis* following multiple pulse exposures. *Sci. Total Environ.* 720, 137609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137609>.
- O'Callaghan, I., Harrison, S., Fitzpatrick, D., Sullivan, T., 2019. The freshwater isopod *Asellus aquaticus* as a model biomonitor of environmental pollution: a review. *Chemosphere* 235, 498–509. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.217>.
- Pellet, B., Geffard, O., Lacour, C., Kermoal, T., Gourlay-Francé, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2009. A model predicting waterborne cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex*: the effects of dissolved organic ligands, calcium, and temperature. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2434–2442. <https://doi.org/10.1897/09-042.1>.
- Pelletier, E., Maheu, S., 1996. Cinétique d'accumulation et rétention d'espèces du mercure chez l'étoile de mer *Leptasterias polaris* : une expérience de transfert trophique à long terme. *Rev. des Sci. l'eau / J. Water Sci.* 9, 351–364. <https://doi.org/10.7202/705257ar>.
- Peng, X., Liu, F., Wang, W.X., 2016. Organ-specific accumulation, transportation, and elimination of methylmercury and inorganic mercury in a low Hg accumulating fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 2074–2083. <https://doi.org/10.1002/etc.3363>.
- Pery, A., 2008. Évaluation du risque écotoxicologique dans les milieux aquatiques à partir d'expérimentations de laboratoire. Perspectives offertes par la modélisation. *Tech. Sci. Méthodes* 37–49. <https://doi.org/10.1051/tsm/200809037>.
- Plummer, M., 2003. JAGS: a program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling JAGS: just another Gibbs sampler. In: 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing. Vienne, Austria, p. 8.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Austria.
- Raftery, A.E., Lewis, S.M., 1992. Comment: One long run with diagnostics: implementation strategies for Markov Chain Monte Carlo. *Stat. Sci.* 7, 493–497. <https://doi.org/10.1214/ss/117701143>.
- Ratier, A., Lopes, C., Labadie, P., Budzinski, H., Delorme, N., Quéau, H., Peluhet, L., Geffard, O., Babut, M., 2019. A Bayesian framework for estimating parameters of a generic toxicokinetic model for the bioaccumulation of organic chemicals by benthic invertebrates: proof of concept with PCB153 and two freshwater species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 180, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.080>.
- Rocha, T.L., Gomes, T., Pinheiro, J.P., Sousa, V.S., Nunes, L.M., Teixeira, M.R., Bebianno, M.J., 2015. Toxicokinetics and tissue distribution of cadmium-based Quantum Dots in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environ. Pollut.* 204, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.05.008>.
- Saleem, M., Iqbal, J., Akhter, G., Shah, M.H., 2018. Fractionation, bioavailability, contamination and environmental risk of heavy metals in the sediments from a freshwater reservoir, Pakistan. *J. Geochemical Explor.* 184, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.11.002>.
- Spiegelhalter, D.J., Best, N.G., Carlin, B.P., Van Der Linde, A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 64, 583–639. <https://doi.org/10.1111/1467-9868.00353>.
- Stadnicka, J., Schirmer, K., Ashauer, R., 2012. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3273–3280. <https://doi.org/10.1021/es2043728>.
- Suter II, G.W., 2016. *Ecological Risk Assessment*, second ed. CRC Press.
- van Hattum, B., de Voogt, P., van den Bosch, L., van Straalen, N.M., Joosse, E.N.G., Govers, H., 1989. Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.* 62, 129–151. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(89\)90183-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(89)90183-8).
- van Hattum, B., van Straalen, N.M., Govers, H.A.J., 1996. Trace metals in populations of freshwater isopods: Influence of biotic and abiotic variables. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31, 303–318. <https://doi.org/10.1007/BF00212669>.
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Usseglio-Polatera, P., 2012. Antagonistic toxicity of arsenate and cadmium in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Ecotoxicology* 21, 1817–1827. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0916-1>.
- Wang, X., Wang, W.X., 2015. Physiologically based pharmacokinetic model for inorganic and methylmercury in a marine fish. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10173–10181. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02301>.
- Wood, C.M., Playle, R.C., Hogstrand, C., 1999. Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 71–83. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180110>.
- Zhang, L., Wang, W.X., 2007. Waterborne cadmium and zinc uptake in a euryhaline teleost *Acanthopagrus schlegelii* acclimated to different salinities. *Aquat. Toxicol.* 84, 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.027>.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta* 606, 135–150. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>.

Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »

Table S1. Characteristics of waters used for the experiments: well water for accumulation phases of Cd and Hg and for the depuration phase of Hg and Évian® for the depuration phase of Cd.

	Well water	Évian®
Bicarbonates HCO_3^- (mg.L ⁻¹)	209	360
Calcium Ca^{2+} (mg.L ⁻¹)	73.7	80
Chlorides Cl^- (mg.L ⁻¹)	11.5	10
Magnesium Mg^{2+} (mg.L ⁻¹)	7.3	26
Nitrates NO_3^- (mg.L ⁻¹)	6.5	3.8
Potassium K^+ (mg.L ⁻¹)	1.9	1
Silica SiO_2 (mg.L ⁻¹)	6.1	15
Sodium Na^+ (mg.L ⁻¹)	8.2	6.5
Sulfates SO_4^{2-} (mg.L ⁻¹)	35.9	14
pH	7.55	7.2

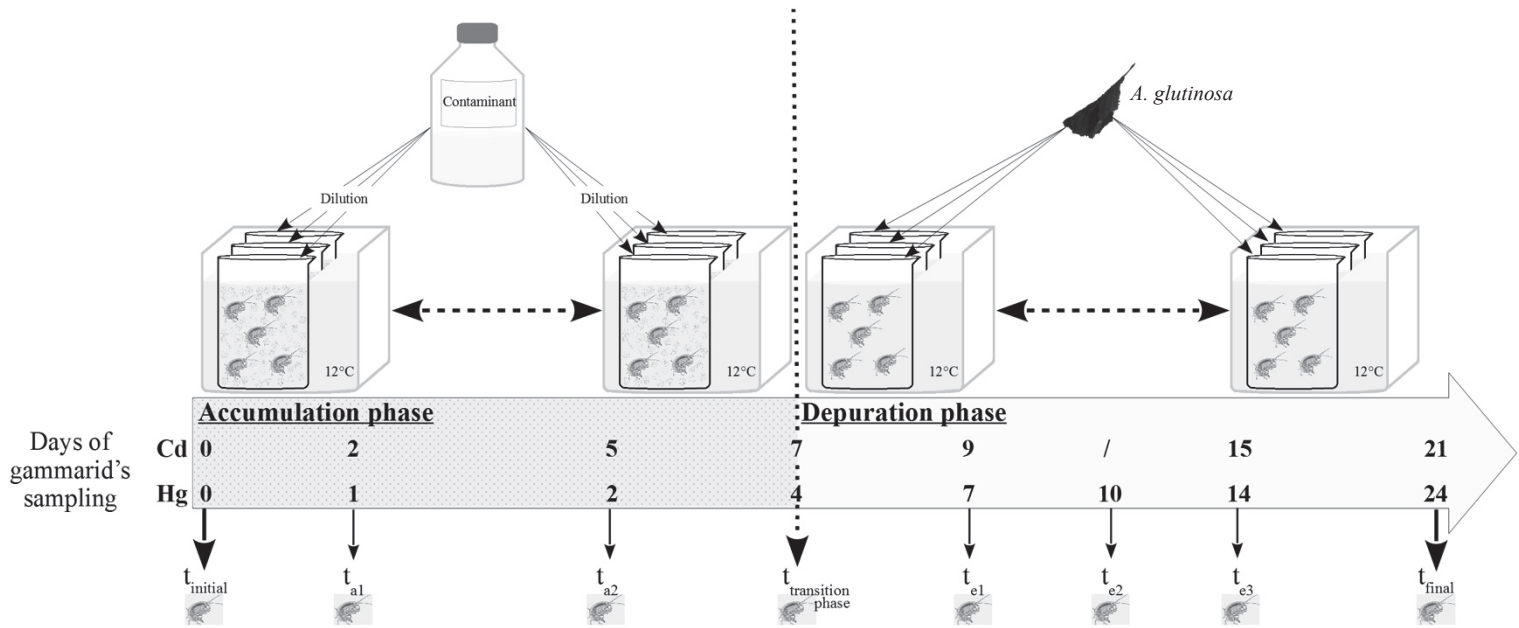


Figure S1. Experimental plan, where $t_{\text{initial}}=0$ is the beginning of the experiment, t_{a1} and t_{a2} are sampling timesteps during the accumulation phase, t_c is the duration of the accumulation phases ($t_c = 4$ days for Hg and 7 days for Cd), t_{e1} , t_{e2} and t_{e3} are sampling timesteps during the depuration phase and t_{final} is the total duration of the experiment ($t_{\text{final}} = 24$ days for Hg and 21 days for Cd).

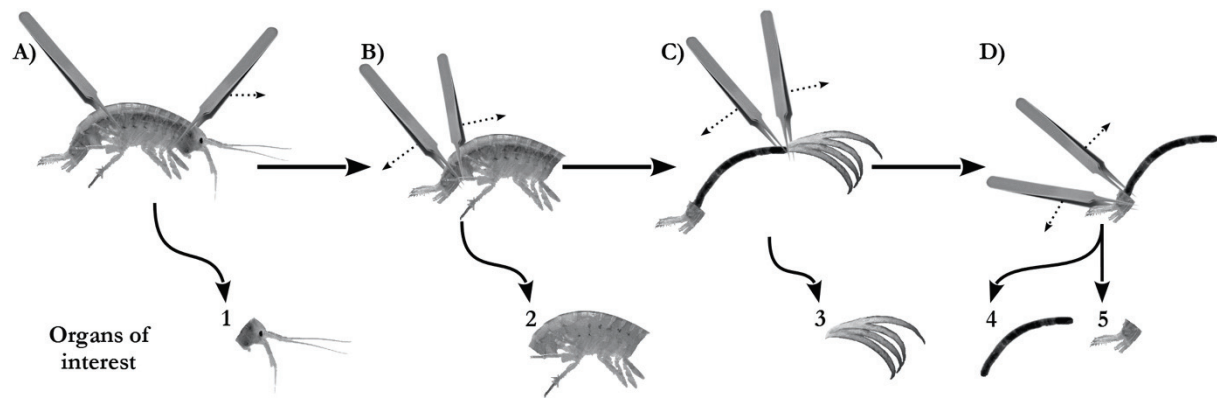


Figure S2. Dissection steps. A) cephalon separation from the rest of the body B) thorax and abdomen separation from urosome C) caeca separation from the intestine D) separation between urosome and intestine. 1 = cephalon, 2 = abdomen + thorax, 3 = caeca, 4 = intestine, 5 = urosome, 2 + 5 = remaining.

**One-compartment models**

As confirmed by the concentrations measured in water, we consider that concentration in water (C_w) is constant during the experiment. As a consequence, Eqs. (2) and (3) can be analytically solved:

$$C_i(t) = \begin{cases} \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} + \left(C_{0,i} - \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S1) \\ \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \times e^{-k_{e,i} \times (t-t_c)} + \left(C_0 - \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S2) \end{cases}$$

where $C_{0,i}$ is the gammarids' initial internal concentration in the organ i , at the beginning of the experiment.

Multi-compartments model

The complete model consists of 8 coupled ordinary differential equations (ODE): 4 for the accumulation phase (one for each organ) (Eqs. (S3) to (S6)) and 4 for the depuration phase (Eqs. (S7) to (S10)).

$$\begin{cases} \frac{dC_1(t)}{dt} = k_{u,1} \times C_w + k_{21} \times C_2(t) + k_{31} \times C_3(t) + k_{41} \times C_4(t) - (k_{e,1} + k_{12} + k_{13} + k_{14}) \times C_1(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S3) \\ \frac{dC_2(t)}{dt} = k_{u,2} \times C_w + k_{12} \times C_1(t) + k_{32} \times C_3(t) + k_{42} \times C_4(t) - (k_{e,2} + k_{21} + k_{23} + k_{24}) \times C_2(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S4) \\ \frac{dC_3(t)}{dt} = k_{u,3} \times C_w + k_{13} \times C_1(t) + k_{23} \times C_2(t) + k_{43} \times C_4(t) - (k_{e,3} + k_{31} + k_{32} + k_{34}) \times C_3(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S5) \\ \frac{dC_4(t)}{dt} = k_{u,4} \times C_w + k_{14} \times C_1(t) + k_{24} \times C_2(t) + k_{34} \times C_3(t) - (k_{e,4} + k_{41} + k_{42} + k_{43}) \times C_4(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S6) \end{cases}$$

$$\begin{cases} \frac{dC_1(t)}{dt} = k_{21} \times C_2(t) + k_{31} \times C_3(t) + k_{41} \times C_4(t) - (k_{e,1} + k_{12} + k_{13} + k_{14}) \times C_1(t) & \text{for } t > t_c \quad (S7) \\ \frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12} \times C_1(t) + k_{32} \times C_3(t) + k_{42} \times C_4(t) - (k_{e,2} + k_{21} + k_{23} + k_{24}) \times C_2(t) & \text{for } t > t_c \quad (S8) \\ \frac{dC_3(t)}{dt} = k_{13} \times C_1(t) + k_{23} \times C_2(t) + k_{43} \times C_4(t) - (k_{e,3} + k_{31} + k_{32} + k_{34}) \times C_3(t) & \text{for } t > t_c \quad (S9) \\ \frac{dC_4(t)}{dt} = k_{14} \times C_1(t) + k_{24} \times C_2(t) + k_{34} \times C_3(t) - (k_{e,4} + k_{41} + k_{42} + k_{43}) \times C_4(t) & \text{for } t > t_c \quad (S10) \end{cases}$$

Table S2. Measured cadmium (Cd) and mercury (Hg) concentrations in spiked well waters during the 4 and 7 days of exposure, respectively.

Contaminant	Day of sampling	Time of sampling	Concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		
			Nominal	Measured	Mean
Cd	tw1_0h = 1	After water renewal	12	12.2 ± 0.5	11.1 ± 1.2
	tw1_48h = 3	Before water renewal		9.8 ± 1.6	
	tw2_0h = 3	After water renewal		12.0 ± 0.2	
	tw2_48h = 5	Before water renewal		10.1 ± 1.1	
	tw3_0h = 5	After water renewal		12.0 ± 0.4	
	tw3_48h = 7	Before water renewal		10.3 ± 0.6	
Hg	tw1_0h = 2	After water renewal	0.4	0.38	0.27 ± 0.13
	tw1_24h = 3	Before water renewal		0.18	
	tw2_0h = 3	After water renewal		0.37	
	tw2_24h = 4	Before water renewal		0.14	

Table S3. Measured cadmium concentrations in gammarids sampled for dissections ($\mu\text{g Cd.g gammarids dw}^{-1}$) and weights of these analyzed samples (in grey), estimated for each organ (mg) from the total weights weighed.

Day of sampling		Caeca			Cephalons			Intestins			Remaining tissues		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	0.725	0.674	0.544	0.072	0.061	0.067	0.848	0.629	0.941	0.049	0.041	0.054
	Weight of samples (mg)	5.10	5.28	5.43	14.2	14.7	15.1	1.36	1.40	1.44	78.4	81.0	83.4
2	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	63.2	54.4	54.8	3.93	4.20	3.39	35.8	33.5	29.8	5.01	3.83	4.30
	Weight of samples (mg)	5.05	5.16	5.79	14.1	14.4	16.1	1.34	1.37	1.54	77.6	79.2	89.0
5	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	62.6	89.7	66.1	3.75	4.36	5.34	21.6	50.7	28.4	6.23	6.62	7.85
	Weight of samples (mg)	6.11	5.76	5.41	17.0	16.0	15.1	1.63	1.53	1.44	93.9	88.4	83.1
7	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	111	85.2	79.0	6.09	5.86	5.31	37.1	60.4	29.4	9.78	10.3	10.0
	Weight of samples (mg)	5.71	5.49	5.88	15.9	15.3	16.4	1.52	1.46	1.57	87.8	84.4	90.4
9	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	87.3	87.5	109	4.15	5.47	5.02	11.4	15.1	23.3	8.89	8.29	7.93
	Weight of samples (mg)	3.16	3.24	3.26	8.2	8.4	8.5	1.73	1.77	1.78	47.6	48.8	49.1
15	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	68.0	48.1	53.5	4.37	3.23	3.83	12.8	7.82	12.9	8.07	7.80	6.50
	Weight of samples (mg)	4.24	4.34	4.07	11.0	11.3	10.6	2.32	2.37	2.23	63.8	65.3	61.3
21	Concentration ($\mu\text{g Cd.g dw}^{-1}$)	54.9	34.1	51.5	3.69	2.46	3.32	9.18	5.93	9.19	6.49	7.02	7.62
	Weight of samples (mg)	5.66	5.74	5.82	14.7	14.9	15.1	3.10	3.14	3.18	85.2	86.3	87.5

Table S4. Measured mercury concentrations in gammarids sampled for dissections ($\mu\text{g Hg.g gammarids dw}^{-1}$) and weights of these analyzed samples (in grey), estimated for each organ (mg) from the total weights weighed.

Day of sampling		Caeca			Cephalons			Intestins			Remaining tissues		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.027	0.036	0.032	0.013	0.015	0.014	0.103	0.092	0.092	0.015	0.016	0.016
	Weight of samples (mg)	4.55	4.94	4.88	12.7	13.8	13.6	1.21	1.31	1.30	69.9	76.0	74.9
1	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.451	0.452	0.533	0.115	0.165	0.171	2.26	1.80	2.45	0.160	0.165	0.183
	Weight of samples (mg)	5.05	5.03	4.96	14.1	14.0	13.8	1.34	1.34	1.32	77.5	77.3	76.3
2	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.903	0.837	0.528	0.238	0.212	0.227	1.77	2.09	1.29	0.371	0.311	0.386
	Weight of samples (mg)	5.26	5.01	5.32	14.6	14.0	14.8	1.40	1.33	1.42	80.8	77.0	81.8
4	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	1.77	1.65	2.74	0.633	0.479	0.643	1.65	2.23	2.53	0.898	0.727	0.869
	Weight of samples (mg)	5.15	4.93	4.70	14.3	13.7	13.1	1.37	1.31	1.25	79.1	75.7	72.2
7	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.700	1.04	1.28	0.366	0.454	0.509	1.39	2.48	1.66	0.522	0.669	0.751
	Weight of samples (mg)	5.27	5.09	5.25	14.7	14.2	14.6	1.40	1.35	1.40	81.0	78.2	80.6
10	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	1.11	0.803	0.930	0.487	0.421	0.465	1.92	0.764	0.925	0.605	0.628	0.641
	Weight of samples (mg)	4.94	5.20	5.10	13.8	14.5	14.2	1.31	1.38	1.36	75.9	79.9	78.4
14	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.542	0.708	0.705	0.466	0.533	0.451	0.793	0.816	1.11	0.591	0.528	0.561
	Weight of samples (mg)	5.03	5.07	5.32	14.0	14.1	14.8	1.34	1.35	1.42	77.3	77.9	81.8
24	Concentration ($\mu\text{g Hg.g dw}^{-1}$)	0.380	0.368	0.540	0.484	0.442	0.412	0.656	0.266	0.225	0.525	0.481	0.453

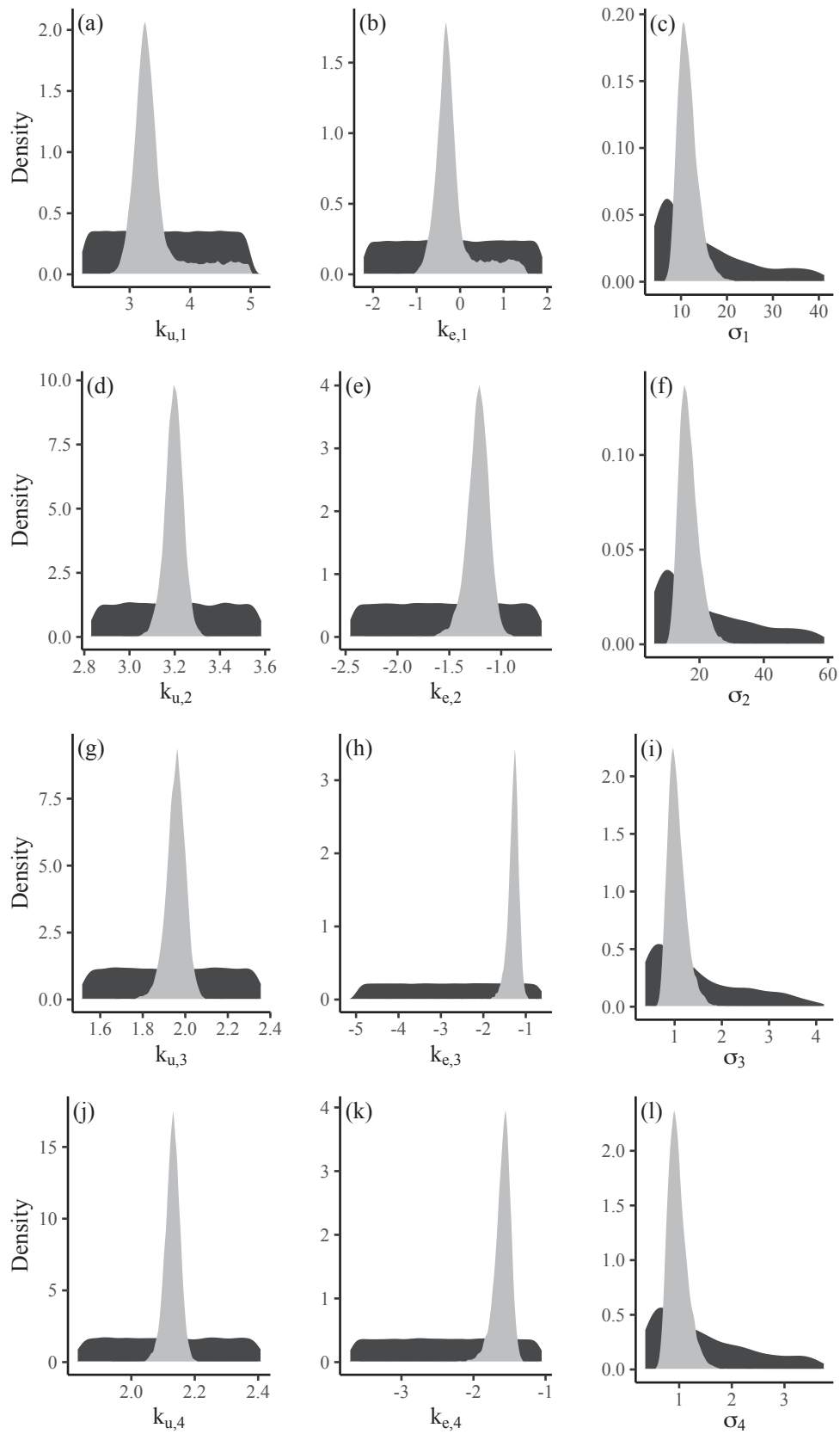


Figure S3. Representation of prior (dark grey) and posterior (light grey) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) fitted to each organ data: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons and last line with j), k) and l) for remaining tissues.

Table S5. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i}/k_{e,i}$, $k_{u,i}/\sigma_i$ and $k_{e,i}/\sigma_i$ ($i=1$ for intestine, $i=2$ for caecum, $i=3$ for cephalon and $i=4$ for remaining tissues) estimated by one compartment models for $11.1 \pm 1.2 \mu\text{g Cd.L}^{-1}$ or $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g Hg.L}^{-1}$.

	i=1 - Intestines		i=2 - Caeca		i=3 - Cephalon		i=4 - Remaining tissues	
	Cd	Hg	Cd	Hg	Cd	Hg	Cd	Hg
$k_{u,i}/k_{e,i}$	0.989	0.963	0.821	0.786	0.836	0.750	0.839	0.786
$k_{u,i}/\sigma_i$	0.184	0.097	-0.101	-0.036	-0.125	-0.070	-0.122	-0.086
$k_{e,i}/\sigma_i$	0.186	0.085	-0.090	-0.022	-0.109	-0.077	-0.136	-0.078

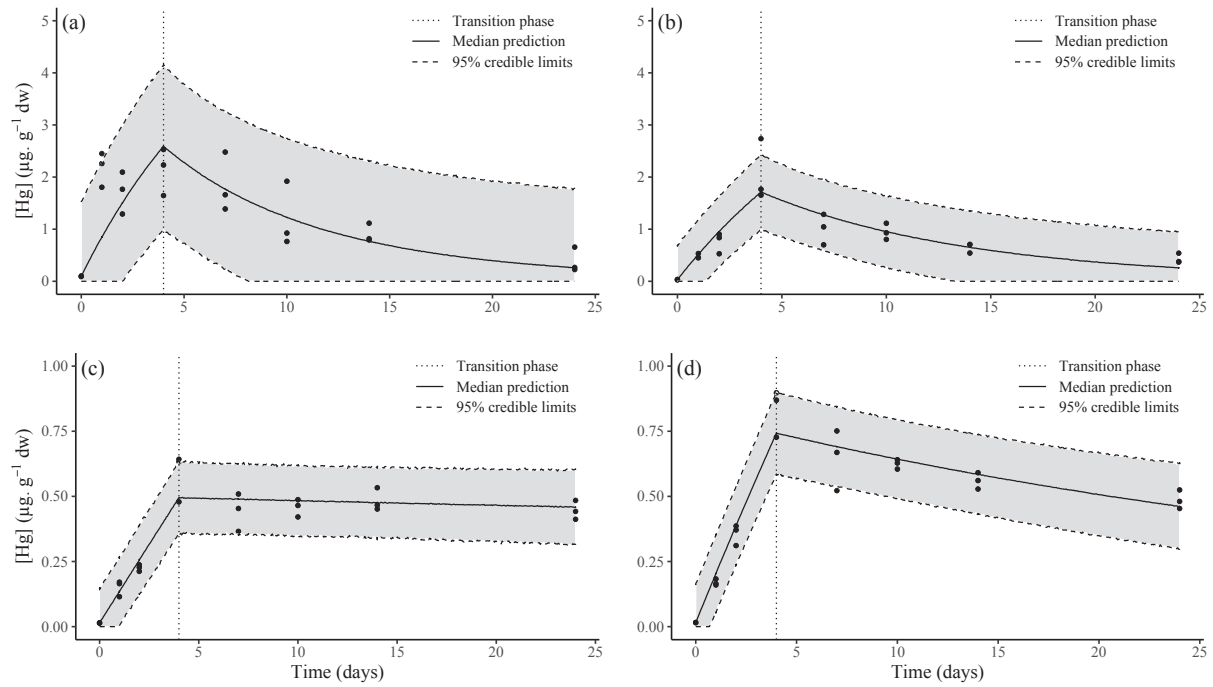


Figure S4. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Hg concentrations with the one-compartment model (Eqs. (2) and (3)) for a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues, during the uptake (days 0-4) and depuration (days 4-24) phases (separated with the black dotted vertical line) for the nominal concentrations of $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g Hg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Table S6. Parameters of the TK multi-compartments model (Figure 1) fitted to Hg and Cd data in all organs simultaneously: priors, median and 95% credibility intervals. The parameters $k_{u,2}$, $k_{e,2}$, $k_{u,3}$, $k_{e,3}$, $k_{u,4}$, $k_{e,4}$, k_{23} , k_{24} , k_{32} , k_{34} , k_{42} and k_{43} are fixed to 0.

Organs / links	Parameters	Priors	[Cd] = $11.08 \pm 1.2 \mu\text{g.L}^{-1}$			[Hg] = $0.27 \pm 0.13 \mu\text{g.L}^{-1}$		
			Median	Percentiles		Median	Percentiles	
				2.5 %	97.5 %		2.5 %	97.5 %
Water - Intestines	$k_{u,1}$	log10.Unif (-5,5)	3342	2720	3707	4640	3890	5272
Intestines - Water	$k_{e,1}$		0.540	0.415	1.402	0.102	0.060	0.141
Intestines - Caeca	k_{12}		0.873	0.603	1.739	1.023	0.622	1.350
Caeca - Intestines	k_{21}		0.218	0.132	0.376	1.784	0.872	2.312
Intestines - Cephalons	k_{13}		0.059	0.034	0.124	0.515	0.269	0.653
Cephalons - Intestines	k_{31}		0.262	0.124	0.871	2.303	0.757	2.967
Intestines - Residues	k_{14}		0.069	0.049	0.126	0.552	0.405	0.714
Residues - Intestines	k_{41}		0.140	0.086	0.238	1.639	0.999	2.145
Intestines	σ_1	Gamma (0.001, 0.001)	8.974	6.469	15.28	0.743	0.556	1.053
Caeca	σ_2		17.94	13.07	26.84	0.434	0.323	0.615
Cephalons	σ_3		1.223	0.863	1.818	0.076	0.056	0.113
Residues	σ_4		1.468	1.060	2.242	0.068	0.050	0.099

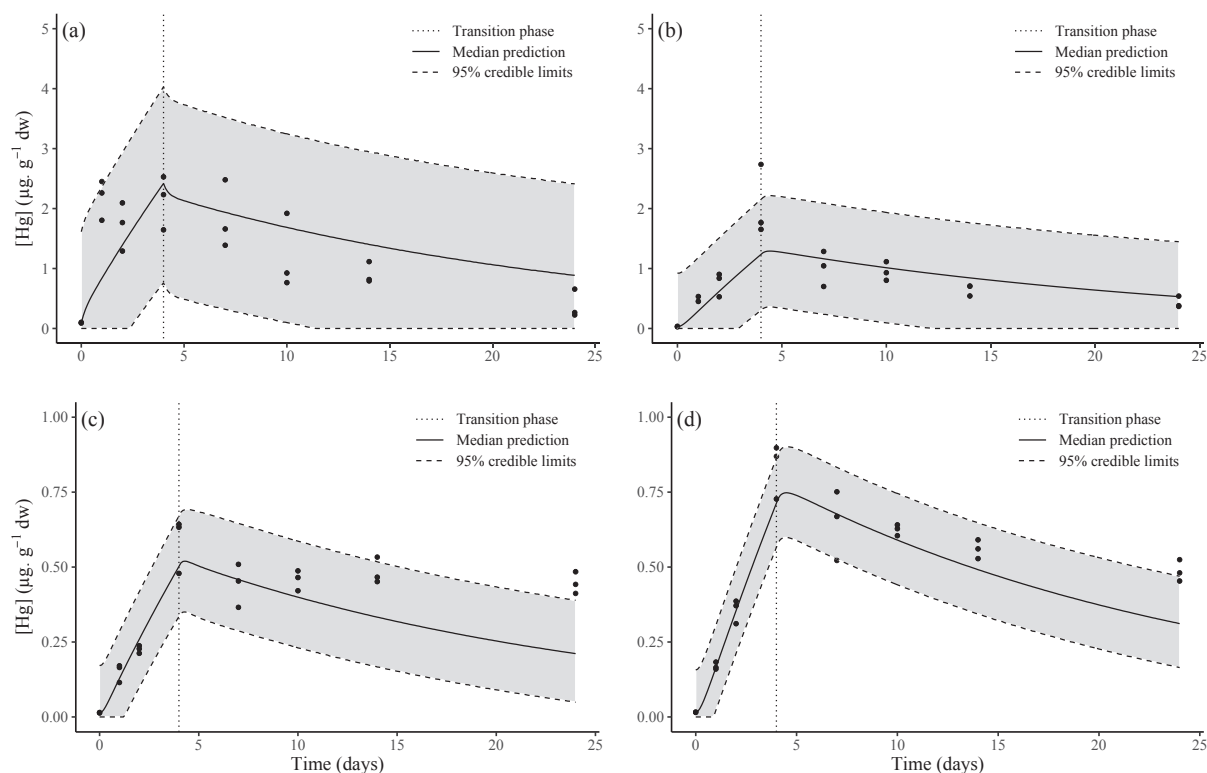


Figure S5. Measured (dots) and predicted (solid and dashed curves) Hg concentrations with the multi-compartments model (Figure 1 and Table S4) in a) intestines b) caeca c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to $0.27 \pm 0.13 \mu g \cdot L^{-1}$, during the uptake (days 0-4) and depuration (days 4-24) phases (separated with the black dotted vertical line). Please note that the y-scale differs between the plots a-b and the plots c-d.

Conclusion

En utilisant de fortes concentrations de métaux dissous (élevées par rapport aux niveaux de contamination *in situ*), nous avons pu quantifier leurs concentrations dans les différents organes de *G. fossarum* et déterminer quels organes accumulent et dépurent le plus. Nos résultats montrent que les caeca et les intestins sont les organes qui concentrent le plus les deux métaux étudiés et que le modèle TK le plus pertinent pour le Hg est le mono-compartiment, tandis que le modèle multi-compartiments permet un meilleur ajustement aux données de Cd. Le fait que les modèles TK un-compartiment soient ceux qui s'ajustent le mieux aux données du Hg suggère que les organes agissent indépendamment les uns des autres en ce qui concerne la bioaccumulation et la gestion de ce métal, alors que le meilleur modèle TK multi-compartiments pour le Cd démontre un rôle central des intestins.

Ce travail a été conçu comme une preuve de concept visant à démontrer que nous pouvons quantifier et modéliser le devenir de différents éléments traces (Cd et Hg) au sein des organes d'un petit invertébré sentinelle. Cette étude a fourni un cadre général pour ajuster les modèles multi-compartiments TK et pour sélectionner le modèle optimal qui décrit le mieux les données de tous les organes simultanément, aidant ainsi à comprendre le rôle de chaque organe. Notre étude confirme que l'organotropisme, le devenir et la régulation des métaux chez une espèce invertébrée d'eau douce, *G. fossarum*, est contrastée selon l'élément étudié et montre, en outre, que le choix du modèle le plus parcimonieux est métal-spécifique.

Ces résultats sont particulièrement pertinents pour identifier les organes clés sur lesquels des biomarqueurs des effets de la contamination pourraient être développés afin de relier l'exposition à l'effet (modèles toxico-cinétiques-toxicodynamiques : TK-TD), mais nécessiteraient plusieurs étapes d'amélioration en : i) intégrant les branchies en plus des autres tissus dans les modèles TK, compte tenu de leur contact direct avec le milieu contaminé ainsi que de leur rôle dans les processus ADME et le devenir des métaux (McDonald et al., 2020) ; ii) la mise en place d'expérimentations à des concentrations pertinentes pour l'environnement, de l'ordre du ng.L⁻¹ à plusieurs centaines de ng.L⁻¹, en utilisant des techniques plus sensibles telles que des radioisotopes de métaux (Cresswell et al., 2017a; Lanctôt et al., 2017) ; et iii) l'extension de cette méthode à d'autres métaux tels que le zinc (Zn) permettant une comparaison de la gestion physiologique entre des métaux essentiels (Cd et Hg) et un métal non essentiel (Zn) au niveau des organes du gammaré, déjà connue pour être contrastée au niveau de l'organisme entier.



Chapitre IV : Organotropisme, toxico-cinétique et devenir des métaux chez le gammare exposé à des concentrations environnementales par voie dissoute : influence du caractère essentiel ou non du métal et effet de la concentration d'exposition

Préambule

Après avoir effectué une première expérimentation avec du Cd stable à une forte concentration d'exposition (non environnementale), ayant servi de preuve de concept de la mise en place du protocole expérimental et des modèles TK mono- et multi-compartiments (Chapitre III), l'une des étapes suivantes présentée dans ce chapitre était de : i) lever deux nouveaux verrous analytiques ; et ii) répondre à deux nouvelles questions scientifiques concernant les éléments traces métallique.

Premièrement concernant les verrous analytiques, comme évoqué dans les perspectives du Chapitre III, les deux grands objectifs sont de pouvoir travailler à des concentrations d'exposition environnementalement pertinentes et de séparer les branchies des tissus restants afin d'y quantifier les métaux. Beaucoup d'études retrouvées dans la littérature sont effectuées à de fortes concentrations qui ne sont pas forcément représentatives des concentrations pouvant être retrouvées dans l'environnement. Malheureusement ces études ne permettent pas toujours d'avoir une vue objective des mécanismes ADME des métaux puisqu'à partir de certaines concentrations, les mécanismes de régulation et de gestion des métaux peuvent être modifiés, notamment par les phénomènes de saturation. Dans l'étude des processus de bioaccumulation, de toxicocinétique et du devenir des métaux au niveau des organes du gammare seule notre première étude concernant le Cd et le Hg (Chapitre III) est disponible dans la littérature. Cependant cette étude a été effectuée à une forte concentration d'exposition de Cd, $11 \mu\text{g.L}^{-1}$, non réaliste d'un point de vue environnemental si la majorité des cours d'eau est considérée. En effet, selon différentes études, la concentration en Cd mesurée dans les rivières excède rarement $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Lebrun et al., 2015; McDonald et al., 2020). La deuxième faiblesse de cette première étude (Chapitre III) est que les branchies n'ont pas été séparées des tissus restants et se retrouvent donc noyées dans ce compartiment. Or les branchies sont connues chez les crustacés, comme les gammares, pour être un organe régissant les mécanismes de iono- et d'osmo-régulation (Henry et al., 2012). À première vue elles devraient donc avoir un rôle important dans les processus ADME des métaux et il paraît donc essentiel de les séparer des tissus restants afin notamment de les inclure dans les modèles TK mono- et multi-compartiments, pour déterminer *in fine* l'importance de leur rôle dans ces processus.

Comme présenté précédemment (Chapitre II), l'utilisation de radioisotopes de métaux, permettant une quantification plus précise que les techniques analytiques conventionnelles des métaux, rend accessible le travail à de faibles concentrations d'exposition avec la possibilité de mesurer de très faibles quantités de métaux. Dans ce Chapitre IV, l'utilisation de ^{109}Cd et de ^{65}Zn a confirmé que nous pouvions travailler à de faibles concentrations d'exposition en quantifiant précisément les métaux présents dans les organes, et ce tout en diminuant le nombre d'organes poolés dans un seul échantillon. Ce dernier point permet d'alléger les temps de dissection, mais également d'ajouter des temps de prélèvement au cours des différentes phases composant le plan expérimental (notamment d'aller jusqu'à 21 jours de dépuración pour les deux concentrations les plus fortes de Cd).

La levée de ces verrous analytiques consistait à garantir une détection et une mesure précise des faibles quantités de Cd et de Zn contenues dans les organes du petit organisme invertébré qu'est le gammare (y compris ses branchies), et ce tout au long des phases d'accumulation et de dépuración, en concentrations environnementales ($< 1 \mu\text{g.L}^{-1}$).

De plus, sachant à la vue de la littérature que beaucoup d'organismes, dont les invertébrés, sont capables de fortement réguler les métaux essentiels, il serait intéressant de regarder le comportement de cette catégorie de métaux, afin de les comparer aux données acquises précédemment.

Le premier objectif scientifique de ce chapitre (Partie IV.1.) est de comparer les processus ADME et les mécanismes de régulation de deux métaux : un essentiel, le Zn, et un non essentiel, le Cd. En effet, dans le Chapitre précédent (Chapitre III), une distribution, une gestion et un devenir différent ont été établis pour le Cd et du Hg (tous deux étant des métaux non-essentiels). Sachant que les organismes vivants possèdent des mécanismes de régulation des métaux essentiels, il est pertinent de comparer les processus ADME et le devenir de métaux essentiels et non-essentiels afin de mieux comprendre l'influence du caractère essentiel, ou non, d'un élément trace métallique sur sa gestion par l'organisme (ici le gammare). Pour cela, des gammares mâles ont été exposés (dans les mêmes conditions générales que celles vues précédemment, Chapitre III) soit à 20 kBq.L^{-1} de ^{109}Cd dissous, soit à 15 kBq.L^{-1} de ^{65}Zn dissous, permettant de travailler à des concentrations d'exposition d'ordre environnementale (i.e. 52.1 ng.L^{-1} de Cd ou 414 ng.L^{-1} de Zn en équivalent stable). Cette phase d'exposition d'une durée de 7 jours a été suivie d'une phase de dépuración (eau non contaminée) de 21 jours. À plusieurs pas de temps, les gammares ont été disséqués et leurs organes récupérés pour être analysés, par γ -spectrométrie. Les données obtenues ont ensuite été comparées entre les différents organes et les deux métaux afin d'évaluer pour chaque organe leur : i) facteur de bioconcentration des deux ETM, par calcul de leurs BCF respectifs ; ii) proportion relative en

métaux par rapport à l'organisme entier ; iii) cinétiques de bioaccumulation des deux ETM, en estimant le taux d'accumulation (k_u) et d'élimination (k_e) de chaque organe indépendamment les uns des autres, par ajustement de modèles TK un-compartiment. Ces résultats sont présentés dans le second papier publié dans *Environmental Pollution* en 2022 et intitulé « Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations ».

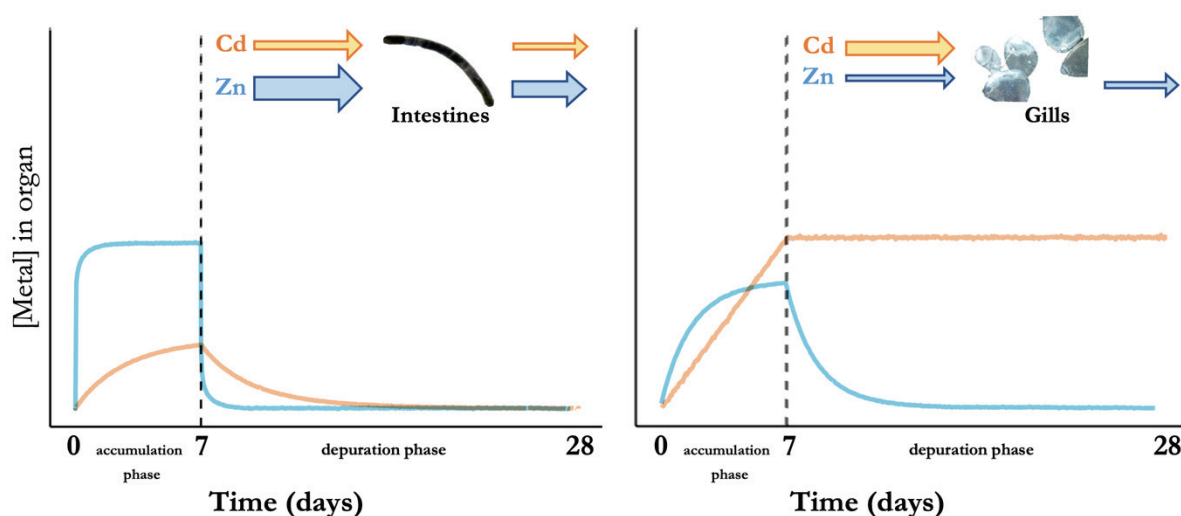
Le second objectif scientifique de ce chapitre (Partie IV.2.) est d'étudier, au niveau des organes, l'influence de la concentration d'exposition en cadmium sur leur : i) capacité de bioaccumulation ; ii) cinétiques d'accumulation et d'élimination ; iii) échanges inter-organes ; et iv) schéma interne de gestion globale du Cd. Pour cela, des gammarus mâles ont été exposés à trois concentrations de Cd dissous, d'ordre environnementales (i.e. 4, 52 et 350 ng.L⁻¹), obtenues par ajout de CdCl₂ à une concentration fixe de ¹⁰⁹Cd (i.e. 20 kBq.L⁻¹) pour les deux concentrations les plus élevées. Cette phase d'exposition d'une durée de 7 jours a été suivie d'une phase de dépuración de 21 jours (10 jours pour la concentration la plus faible). À plusieurs pas de temps, les gammarus ont été disséqués et leurs organes récupérés pour être analysés, par γ -spectrométrie. Les données obtenues pour chaque organe ont ensuite été comparées entre les trois concentrations d'exposition afin d'évaluer si la concentration d'exposition influence : i) le facteur de bioconcentration de chaque organe, par calcul de leurs BCF respectifs ; ii) la proportion relative en métaux de chaque organe par rapport à l'organisme entier ; iii) les cinétiques de bioaccumulation des organes en estimant leurs taux d'accumulation (k_u) et d'élimination (k_e) indépendamment les uns des autres à l'aide de modèles TK mono-compartiment emboîtés ; et iv) le schéma de gestion interne ainsi que les échanges inter-organes en Cd, par l'implémentation de modèles TK multi-compartiments et la sélection du modèle le plus parcimonieux (qui s'ajuste le mieux aux concentrations mesurées dans les organes pris simultanément en compte) pour chaque concentration d'exposition. Ces résultats sont présentés dans le troisième papier, intitulé « Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxico-kinetic and fate in *Gammarus fossarum* », actuellement en révision dans *Environment International*.

I. Influence du caractère essentiel ou non d'un métal sur la capacité de bioaccumulation des organes, leurs toxico-cinétiques et le devenir des métaux chez le gammarus : exemples du Cd et du Zn

Article n°2

Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T., 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. Environ. Pollut. 308. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119625.

Résumé illustré



Faits marquants

- Paramètres cinétiques d'accumulation (k_u) et de dépuratoin (k_e) étudiés par la modélisation TK mono-compartiment.
- Les k_u et k_e sont significativement plus bas pour le Cd que pour le Zn, excepté le k_u des branchies.
- En phase de dépuratoin, le Cd est lentement éliminé par les organes alors que le Zn s'élimine rapidement en 24 heures.
- Aucune élimination du Cd est mesurée au niveau des branchies à la fin de la phase de dépuratoin de 21 jours.
- L'intestin est la voie dominante d'accumulation et de dépuratoin lors d'une exposition au Cd et au Zn dissous dans le milieu.

Résumé de l'article, en français

L'une des approches d'amélioration de l'évaluation de la toxicité des métaux chez les organismes aquatiques est d'étudier leur organotropisme (distribution des métaux entre les organes) par une approche dynamique par la mise en place d'expérimentations de cinétiques de bioaccumulation des

métaux, afin d'identifier les tissus/organes qui jouent un rôle clé dans les processus de régulation des métaux, comme le stockage ou l'excrétion. Cette étude vise à comparer l'accumulation organe-spécifique d'un métal non essentiel (Cd) et d'un métal essentiel (Zn) chez le gammare *Gammarus fossarum*, à des concentrations d'exposition pertinentes d'un point de vue environnemental. Pour cela, des gammarus ont été exposés pendant 7 jours à de l'eau radiomarquée au ^{109}Cd ou au ^{65}Zn aux concentrations respectives de 52,1 et 416 ng.L^{-1} (équivalent stable), avant d'être placés dans de l'eau propre (phase de dépuración) pendant 21 jours. À différents intervalles de temps, les organes cibles (caeca, céphalons, intestins, branchies et tissus restants) ont été prélevés et les teneurs en ^{109}Cd ou ^{65}Zn y ont été quantifiées par spectrométrie gamma. Un modèle toxicocinétique (TK) un-compartiment a été ajusté par inférence bayésienne à chaque ensemble de données organe/métal afin d'établir les paramètres cinétiques (k_u , le taux d'accumulation et k_e , le taux d'élimination) de chaque organe. Nos résultats indiquent : i) un schéma de distribution contrasté des concentrations en métal à la fin de la phase d'accumulation (7^{ème} jour), entre les organes mais également entre les deux métaux étudiés, avec : branchies > caeca $\approx$ intestins > céphalons > tissus restants pour le Cd et intestins > caeca > branchies > céphalons > tissus restants pour le Zn ; ii) une élimination plus lente du Cd par rapport au Zn et ce pour tous les organes, notamment au niveau des branchies dans lesquelles la concentration de Cd reste constante pendant la phase de dépuración de 21 jours, alors que les concentrations de Zn ont fortement diminué dans tous les organes après 24 h de dépuración ; et iii) un rôle majeur de l'intestin du gammare dans l'absorption du Cd et du Zn présents dans l'eau, à des concentrations pertinentes pour l'environnement.

Mots-clés

Amphipodes

Métaux

Taux d'accumulation

Taux d'élimination

Modèle toxicocinétique

Inférence Bayésienne

Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations

Abstract

One of the best approaches for improving the assessment of metal toxicity in aquatic organisms is to study their organotropism (i.e., the distribution of metals among organs) through a dynamical approach (i.e., *via* kinetic experiments of metal bioaccumulation), to identify the tissues/organs that play a key role in metal regulation (e.g., storage or excretion). This study aims at comparing the organ-specific metal accumulation of a non-essential (Cd) and an essential metal (Zn), at their environmentally relevant exposure concentrations, in the gammarid *Gammarus fossarum*. Gammarids were exposed for 7 days to ^{109}Cd - or ^{65}Zn -radiolabeled water at a concentration of 52.1 and 416 ng.L^{-1} (stable equivalent), respectively, and then placed in clean water for 21 days. At different time intervals, the target organs (i.e., caeca, cephalons, intestines, gills, and remaining tissues) were collected and ^{109}Cd or ^{65}Zn contents were quantified by gamma-spectrometry. A one-compartment toxicokinetic (TK) model was fitted by Bayesian inference to each organ/metal dataset in order to establish TK parameters. Our results indicate: i) a contrasting distribution pattern of concentrations at the end of the accumulation phase (7th day): gills > caeca $\approx$ intestines > cephalons > remaining tissues for Cd and intestines > caeca > gills > cephalons > remaining tissues for Zn; ii) a slower elimination of Cd than of Zn by all organs, especially in the gills in which the Cd concentration remained constant during the 21-day depuration phase, whereas Zn concentrations decreased sharply in all organs after 24 h in the depuration phase; iii) a major role of intestines in the uptake of waterborne Cd and Zn at environmentally relevant concentrations.

Keywords: Amphipods, Metal, Uptake rate, Elimination rate, Toxicokinetic model, Bayesian Inference

1. Introduction

Naturally present in the earth's crust and potentially released through erosion and leaching, metals are persistent elements due to their non-degradability (Cresswell et al., 2017; Lebrun et al., 2017). They can also be introduced into aquatic ecosystems by anthropogenic activities, such as emissions and runoff from the industrial, urban, and agricultural sectors (Filipović Marijić et al., 2016; Lebrun

et al., 2014; Soegianto et al., 2013; Zhang and Reynolds, 2019). Since both essential and non-essential elements can become toxic even at low concentrations following anthropogenic contamination, there is a need for comprehensive research into their bioaccumulation processes and their effects (Lebrun et al., 2017; Ramiro Pastorinho et al., 2009). The deleterious effects resulting from an acute or a chronic exposure to metals are well described in crustaceans. At the molecular and cellular levels, Zn can trigger structural, histological, and immunocytochemical damage with, for example, a deterioration of the cytoskeleton or a large augmentation of their vacuoles (Issartel et al., 2010a; Soegianto et al., 2013). Deleterious effects of Cd on DNA integrity have been reported in several decapods (Frías-Espéricueta et al., 2022). Histological analyses have shown an increased cell proliferation in the gills of gammarids, shrimps, and crabs following Cd exposure (Dayras et al., 2017). Moreover, Zn and Cd may, among other things, cause osmoregulation disorders, the induction of reactive oxygen species (ROS), and a decrease in ionoregulation (Frías-Espéricueta et al., 2022; Ren et al., 2019). It has been reported that Cd and Zn can also have an impact on oxygen consumption and ammonium excretion (Frías-Espéricueta et al., 2022; Jakob et al., 2017). At the organism level, the presence of metals will lead to a decrease in genetic diversity, organism size, and reproduction with, for example, a shorter life span, lower fecundity, and behavioral changes. All these changes can affect the population levels, which in the long-term may decrease overall species survival and richness (Júdová, 2006; Kadiene et al., 2019).

Cadmium and Zn, whose environmental concentrations are generally estimated in the literature to be less than $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ and $50 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectively (McDonald et al., 2020), are both qualified as being "directly ecotoxicologically important" and are on the list of priority elements of the European Water Framework Directive (EC, 2000). To overcome the analytical difficulties of detecting metal levels in water, organisms (named "sentinel species" or "bioindicators") are proposed as a targeted matrix for contamination surveys (Besse et al., 2012). Such species are known to be net accumulators of metals present in their environment (including food), and are used to evaluate the fraction of bioavailable metals (Besse et al., 2012). Biomonitoring of metal contamination using freshwater invertebrates is frequently done by measuring the amounts or concentrations of metals in the whole-body sentinel organism (Besse et al., 2013) because they are more temporally and spatially integrative than water or sediment samples. Finally, whether they are essential metals (and thus potentially actively taken up and/or regulated to meet metabolic needs; Rainbow, 2002) or not may influence their rate of uptake and elimination in organisms, as well as their distribution among different organs (Cresswell et al., 2015). Therefore, to gain a better understanding of the processes governing the mechanism of bioaccumulation, it is essential to work at the organ level. Indeed, studying the behavior and the role of organs in the bioaccumulation mechanisms of metals

can be used to determine which organs to focus on in order to develop biomarkers of the exposure and effects of metals on organisms.

In recent years, studies have been performed at the organ level for fish, and toxicokinetic (TK) models adapted from these studies have been developed (Grech et al., 2019, 2017). TK models describe how accumulated internal concentrations vary in time according to the external exposure concentration. These models have helped to identify target organs: i) to fill the existing gaps in knowledge of the mechanisms influencing bioconcentration in organs (Grech et al., 2019); and ii) to better understand and describe the bioaccumulation processes, and for the future to better predict toxicity.

Despite their ecological importance, to date freshwater invertebrates have not received such attention in this area of research. This can be explained by the fact that although they have strong bioaccumulation capacities, the low organ weights of small invertebrates imply a low amount of metals, which presents a significant detection challenge for accurate quantification (O'Callaghan et al., 2019). The use of gamma-emitting isotopes such as ^{109}Cd or ^{65}Zn allows us not only to work at relevant environmental concentrations, but also to measure concentrations in the organs of small aquatic invertebrates such as crustaceans, as was done for the decapod *Paratya australiensis* (McDonald et al., 2020). There are very few data on other orders of crustaceans such as amphipods, despite their well-known ecological importance. The species *Gammarus fossarum* is of particular interest to freshwater ecosystems due to their function as a detritivore, giving them a central role in freshwater ecosystems, and in particular in aquatic food webs as an important link between detritus and fish (Filipović Marijić et al., 2016; Kunz et al., 2010). They also have a wide distribution, are present in abundance, and, because of their size and ease of identification, they are easy to sample and handle in the laboratory (Dayras et al., 2017; Issartel et al., 2010b; Lebrun et al., 2017). In addition, they are known to be net accumulators of metals, which explains why gammarids are regularly used to monitor aquatic contaminations (Besse et al., 2013; Conti et al., 2016; Lebrun et al., 2015).

It has been shown in crustaceans that essential (Zn) and non-essential (Cd) metals are distributed, managed, and detoxified through different pathways (Nunez-Nogueira et al., 2006). However, there are still many gaps in understanding of the mechanisms that govern the exchange and fate of metals among various organs. To our knowledge, our previous study (Gestin et al., 2021) was the only work to show a dynamic view of metal bioaccumulation along uptake and elimination time course in a freshwater invertebrate (gammarids), focusing on the distribution, toxicokinetic, and fate of Cd among organs over time. This previous study considered four organs: cephalons, caeca,

intestines, and remaining tissues. However, it was conducted at a high Cd concentration (i.e., 11 $\mu\text{g.L}^{-1}$) and had not isolated the gills, which are known to be involved in respiration, osmoregulation, excretion, and pH regulation as well as being considered the primary pathway in the accumulation of dissolved metals (Henry et al., 2017; Nunez-Nogueira et al., 2006).

In this context, the aim of the present work was to investigate the organotropism (i.e., the distribution of metals among organs) and accumulation and elimination rates, at organ level, of a non-essential (Cd) and an essential metal (Zn) in the crustacean *G. fossarum* exposed to environmentally relevant concentrations of these metals. We compared the organotropism, toxicokinetic, and fate of a non-essential and an essential metal in the gills, caeca, intestines, and cephalons of gammarids. Males of *G. fossarum* were exposed for 7 days (uptake phase) to ^{109}Cd - and ^{65}Zn -radiolabeled water at a concentration of 52 ng.L^{-1} and 416 ng.L^{-1} , respectively, and were then placed in clean water for 21 days (depuration phase). At several sampling times, the target organs (i.e., caeca, cephalons, intestines, gills, and remaining tissues) were recovered and their Cd or Zn content quantified by gamma-spectrometry. A one-compartment TK model was fitted by Bayesian inference to each organ/metal dataset to estimate the TK parameters.

2. Material and methods

2.1 Collection, maintenance and selection of organisms

Adult male gammarids (*Gammarus fossarum*) between 20 and 30 mg wet weight were selected from a bygone watercress farm located in Saint-Maurice-de-Rémens (France). They were stored in plastic bottles containing ambient freshwater and transferred to the LIENSs in La Rochelle University. The organisms were acclimated for 7 days in Evian® water (see characteristics in Table S1), under constant aeration, at $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and with a dark:light cycle of 8:16h. Alder leaves (*Alnus glutinosa*) were used to feed *ad libitum* the organisms.

2.2 Reagents and chemicals

All the material used was decontaminated all along the experiments with HCl solution (Hydrochloric acid S.G. 32 %, certified AR for analysis; Fischer Scientific®) and a Decon® 90 solution, both diluted to 1/10 with MilliQ water ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$). The radiotracers ^{109}Cd and ^{65}Zn were both obtained in their chloride form (i.e., CdCl_2 and ZnCl_2), respectively 0.1 M and 0.5M HCl, from Eckert & Ziegler Isotope Products Inc., Valencia, USA. Both solutions are carrier-free, allowing to work with the smallest equivalent stable concentration as possible (coefficient $\text{ng/Bq} = 0.182$ for ^{109}Cd and 27.96 for ^{65}Zn). Both solutions were diluted to obtain intermediate

solution named “D1 solutions” allowing spikes of 20 μL to reach 15 Bq.mL^{-1} for ^{109}Cd or ^{65}Zn in the experimental polypropylene beakers during the exposure phase (corresponding to 3 and 420 ng.L^{-1} equivalent stable, respectively). The final Cd exposure concentration was increased from 3 to 52.1 ng.L^{-1} by adding stable cadmium ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, > 98 %; Merck®; stock solution at 85 mg.L^{-1} , 0.5 M HCl) to the ^{109}Cd D1 solution. These final concentrations were chosen for their environmental relevance and based on concentrations found in low impacted freshwater media (i.e., <100 and <500 ng.L^{-1} for Cd and Zn, respectively) (Cresswell et al., 2014b; Urien et al., 2016).

The 0.0065 % change of pH following D1 addition was considered to have negligible impact on organisms.

2.3 Uptake and depuration phases

All along the experiment, the water was maintained at $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$, aerated and renewed every two days. Initially, 20 beakers were set up for Cd experiment and 40 for Zn, with each beaker containing 8 gammarids (for a total of gammarids of $n = 160$ for ^{109}Cd and $n=320$ for ^{65}Zn). In each beaker, the 8 gammarids were individually separated by handmade baskets (i.e., plastic mesh with a height of 11 cm and a diameter of 8.6 cm, with a mesh size of 0.5 cm, see Fig. S1b.) to avoid cannibalism.

The experimental procedure was composed of two phases (Fig. S1a.): i) a 7-day accumulation phase during which gammarids were exposed to ^{109}Cd or ^{65}Zn dissolved in water and ii) a 21-day depuration phase during which gammarids were maintained in clean water (i.e., without radiotracer). During the 7-days exposure phase, beakers were filled with 0.200 L of Evian® water contaminated with 20 Bq.mL^{-1} (i.e., 50 ng.L^{-1} in stable equivalent) of ^{109}Cd or 15 Bq.mL^{-1} (i.e., 416 ng.L^{-1} in stable equivalent) of ^{65}Zn . The dissolved radiotracers concentrations were monitored twice a day by sampling randomly 10 mL of water in 5 beakers (Tables S2 and S3). If necessary, radiotracers were added to compensate the loss due to ad- and absorption, and thus maintain an exposure pressure as constant as possible (Fig. S1b. and S1c.). Only during this first phase, gammarids were not fed to avoid accumulation through dietary pathway, by adsorption of radiotracers on the food. At the end of the accumulation phase, gammarids were transferred into clean baskets and clean polypropylene beakers filled with uncontaminated Evian® water and fed with alder leaves (Fig. S1a.). Water sample was collected randomly from 5 beakers and radiocounted daily to check possible radiotracer desorption from gammarids to the water.

The mortality was monitored every day. A gammarid is considered as dead when its pleopods do not beat anymore (i.e., related to the ventilatory activity of the organisms to uptake oxygen, which

is around 150 beat.min⁻¹; Vellinger et al., 2012), even after a stimulation (i.e., gently push with clean tweezers).

2.4 Gammarids dissection and collection of sampled organs

Gammarids were collected at days 2, 5, 7, 9, 14, 17, 21, 28 for ¹⁰⁹Cd and days 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 15, 17, 21, 28 for ⁶⁵Zn (Fig. S1a). There is more sampling time-points for the experiment with ⁶⁵Zn, as Zn is an essential metal well regulated by gammarids. The fact that the data were collected at different times of accumulation and depuration phases between Cd and Zn experiments, does not impact the TK modelling outputs (i.e., uptake and elimination rates, see below). Indeed, the dynamic approach allows to disregard the data points in themselves, as long as there are enough data points to obtain accurate kinetic parameters (i.e., see their precision in Table 1).

At each sampling time, twenty gammarids (4 replicates of 5 pooled organisms) were randomly sampled from all the beakers, placed in clean water (free of ¹⁰⁹Cd or ⁶⁵Zn) for maximum one minute, gently dried with paper towel and weighed (± 0.1 mg). Then, gammarids were dissected to separate and collect the organs of interest (caeca, cephalons, gills, intestines and remaining tissues) according to the procedure described in Gestin et al. (2021), modified to separate the gills from the remaining tissues in the last step (Fig. S2). These organs were chosen for their presumed functional relevance: the intestines and gills involved in the metal uptake and loss, the caeca in detoxification/storage functions. At the end, all gammarids tissues were analyzed since the exoskeleton and the muscle are included in the remaining tissues. All the same five organs sampled per replicate were pooled and stored in 500 μ L of HCl (3,4 %) at ambient temperature before gamma-counting (i.e., counting of the gamma-ray emissions to determine the amount of metal in the sample).

In average, gammarids weights were 23.1 ± 1.8 and 23.9 ± 2.5 mg wet weight for ¹⁰⁹Cd and ⁶⁵Zn experiments respectively (Tables S4 and S5). Considering that *G. fossarum* dry weight represents 25 % of the wet weight, the weights of the organs were calculated from estimation of the respective percentage of each dry organ regarding the whole body gammarid total wet weight, i.e., 1.3 % for gills, 2.2 % for intestines, 5 % for caeca, 14 % for cephalons and 77.5 % for the remaining tissues (Tables S4 and S5).

2.5 Gamma-spectrometry: ¹⁰⁹Cd and ⁶⁵Zn detection

The radioactivity of each isotope was determined using calibrated inhouse standards with the appropriate sample geometry, i.e.: i) a "water-counting" Caubères® geometry, a large cylindrical container filled with 10 mL of acidified water (HCl; 3,4 %); and ii) an "organ-counting" Caubères®



geometry, a narrow cylindrical container filled with 0.5 mL of acidified water (HCl; 3,4 %). Samples were analyzed on NaI detector coupled to InterWinner 7.0 software (ITECH Instruments®). Counting time was adjusted to obtain counting uncertainties below 5 % with runs ranged from 10 minutes to 48 hours of counting. All organ samples were counted with less than 5 % of errors for both radioisotopes, except for two ^{109}Cd intestines samples at the end of the depuration phase. The radiotracer activity (expressed in Bq) measured in each organ was then converted to obtain the concentrations of Cd and Zn in stable equivalent (μg of metal.g of organ $^{-1}$; Tables S4 and S5).

2.6 One-compartment toxicokinetic modelling

A one-compartment TK model was fitted to each metal/organ data set independently, according to the methodology already described in Gestin et al. (2021), in order to estimate the accumulation and depuration capacities of each organ independently to each other through a dynamical view (i.e., integration of metal concentration over time). Since gammarids were not fed during the accumulation phase, we considered that bioaccumulation of contaminants occurs only from water. Furthermore, since exposed organisms were adults and there is no weight gain or loss over the total duration of the experiments (Tables S4b and S5b), gammarid growth was considered negligible.

Briefly, the variation of internal concentration in an organ during time is described by:

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = \begin{cases} k_{u,i} \times C_w(t) - k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (1) \\ -k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } t > t_c \quad (2) \end{cases}$$

where $C_i(t)$ is the internal concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i ($i=1..5$) at time t (days), $k_{u,i}$ the accumulation rate from water (day^{-1}) for the organ i , $C_w(t)$ the external concentration in water (ng.L^{-1}) at time t , $k_{e,i}$ the elimination rate (day^{-1}) for the organ i and t_c the duration of the accumulation phase (7 days). $i = 1$ corresponds to intestines, $i = 2$ to caeca, $i = 3$ to cephalon, $i = 4$ to remaining tissues and $i = 5$ to gills.

As confirmed by the concentrations measured in water (Tables S2 and S3), we considered that C_w is constant during the accumulation phase. Therefore, Eqs. (1) and (2) can be analytically solved (Eqs. (S2) and (S3)).

For the stochasticity part, a gaussian distribution of the metal concentration in each organ was used:

$$C_{obs,i}(t) \sim \mathcal{N}(C_i(t), \sigma_i) \quad (3)$$

where $C_{obs,i}(t)$ is the measured concentrations in the organ i ($i = 1..5$) at time t , $\mathcal{N}$ stands for the Normal law, with a mean $C_i(t)$, the internal concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i predicted by the model at time t (Eqs. (1) and (2)), and the standard deviation σ_i for the organ i ($i = 1..5$).

This model was fitted to each organ data set using Bayesian inference with R software and JAGS (Plummer, 2003; R Core Team, 2017), thus leading to an estimate of kinetic parameters ($k_{u,i}$ and $k_{e,i}$) for each organ. According to available information in the literature concerning uptake and elimination at the level of gammarids' organs, mostly at environmentally relevant pressure of contamination, we chose non informative priors: i) for uncertainty parameters a Gamma law (Tables 1 and S6); and ii) for parameters concerning uptake and depuration rates a Uniform law on the decimal logarithm scale (due to the limited information available on the kinetic parameters). For more details, see Gestin et al. (2021).

3. Results

3.1 Experimental conditions

The dissolved concentrations of ^{109}Cd and ^{65}Zn in water were variable during the accumulation phase (Tables S2 and S3). A loss of $60 \pm 33\%$ of Cd concentration and $67 \pm 22\%$ of Zn concentration in water was measured between two re-adjustments, each one occurring at approximately 12 ± 5.7 h (Tables S2 and S3). The bioaccumulation of metals by gammarids could explain only 8% of the Cd and 22% of the Zn losses, suggesting a strong adsorption of elements on the polypropylene beaker walls and plastic baskets. Gammarids were exposed to 52.1 ± 27.3 ng.L $^{-1}$ of Cd and 416 ± 264 ng.L $^{-1}$ of Zn in stable equivalent. To simplify the model implementation during the accumulation phase, we considered C_w as a constant exposure of 52.1 ng.L $^{-1}$ for Cd and 416 ng.L $^{-1}$ for Zn. During the depuration phase, the concentration of metals measured in water were 1.1 ± 2.3 ng.L $^{-1}$ of Cd and 0.6 ± 1 ng.L $^{-1}$ of Zn, considered as negligible.

Over the total experiment duration, the survival rates of gammarids were 97 % for Cd and 91 % for Zn.

3.2 Uptake and elimination kinetics of Cd and Zn in gammarid organs

Cadmium (Fig. 1, left panel). During the accumulation phase, the concentration of Cd in each organ reached maximal values on day 7 (Fig. 1 and Table S4). The rank of organs from the highest to the lowest concentrations of Cd was similar throughout the period, reaching the following values

on day 7: gills ($1.5 \pm 0.97 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\gg$ intestines ($0.39 \pm 0.24 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\approx$ caeca ($0.33 \pm 0.071 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\gg$ cephalons ($0.035 \pm 0.018 \mu\text{g.g}^{-1}$) $>$ remaining tissues ($0.013 \pm 0.0044 \mu\text{g.g}^{-1}$). This rank did not change at the end of the depuration phase (28th day). However, although the intestines and caeca still had higher concentrations than the cephalons and remaining tissues at the end of the depuration phase, the Cd concentrations in these organs decreased the most, with a drop of 88 and 66%, respectively, during this phase. The Cd concentrations in cephalons and the remaining tissues decreased by 55 and 34% of their maximal values, respectively. Surprisingly, the Cd concentrations in gills did not decrease during the whole depuration phase.

Zinc (Fig. 1, right panel). The maximal concentrations of Zn were observed between day 4 and day 7 of the uptake phase depending on the organ, meaning that the accumulation quickly reached a steady state (Fig. 1 and Table S5). From day 4, the order of the organs from the highest concentration of Zn to the lowest concentration was: intestines ($5.0 \pm 7.75 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\approx$ caeca ($3.6 \pm 3.3 \mu\text{g.g}^{-1}$) $>$ gills ($0.85 \pm 0.49 \mu\text{g.g}^{-1}$) $>$ cephalons ($0.34 \pm 0.14 \mu\text{g.g}^{-1}$) $\approx$ remaining tissues ($0.21 \pm 0.11 \mu\text{g.g}^{-1}$). Nevertheless, it is worth noting that the Zn concentrations in intestines reached a plateau from day 2 onward of the accumulation phase. After 21 days of depuration (i.e., on day 28), the concentrations drastically decreased for all organs, reaching similarly low values: intestines at $0.13 \pm 0.054 \mu\text{g.g}^{-1}$, caeca at $0.10 \pm 0.0051 \mu\text{g.g}^{-1}$, gills at $0.098 \pm 0.025 \mu\text{g.g}^{-1}$, cephalons at $0.068 \pm 0.013 \mu\text{g.g}^{-1}$, and remaining tissues at $0.062 \pm 0.0091 \mu\text{g.g}^{-1}$.

3.3 Modeling the toxicokinetics of Cd and Zn for each *G. fossarum* organ

To study the question of bioaccumulation from a dynamic point of view and to estimate kinetic parameters (uptake and elimination rates, termed k_u and k_e , respectively), a one-compartment TK model was fitted to each metal/organ dataset separately. The median predictions of the concentration in each organ over time (and their 95% credible intervals) are presented in Figure 1 and superimposed onto the observed data. For all organs and for both metals, between 94% and 98% of the observed data are in the 95% credible intervals of the model predictions. Except for the intestines of the Zn dataset, the inference process quickly converged and thin posterior distributions were obtained for all kinetic parameters (Fig. S3 and S4). A summary of each marginal posterior distribution is given in Table 1, with the median of each parameter and their respective 95% credible interval. First, it is noteworthy that, except for the Cd uptake rate of gills ($k_{u,5}$), which is 2.6-fold higher than that of Zn, the k_u and k_e values for Zn were higher than those for Cd in all organs: i) from 2.9-fold higher in the remaining tissues to 695-fold in intestines for k_u ; and ii) from 3.6-fold higher in remaining tissues and cephalons to 341-fold in intestines for k_e (Table 1).

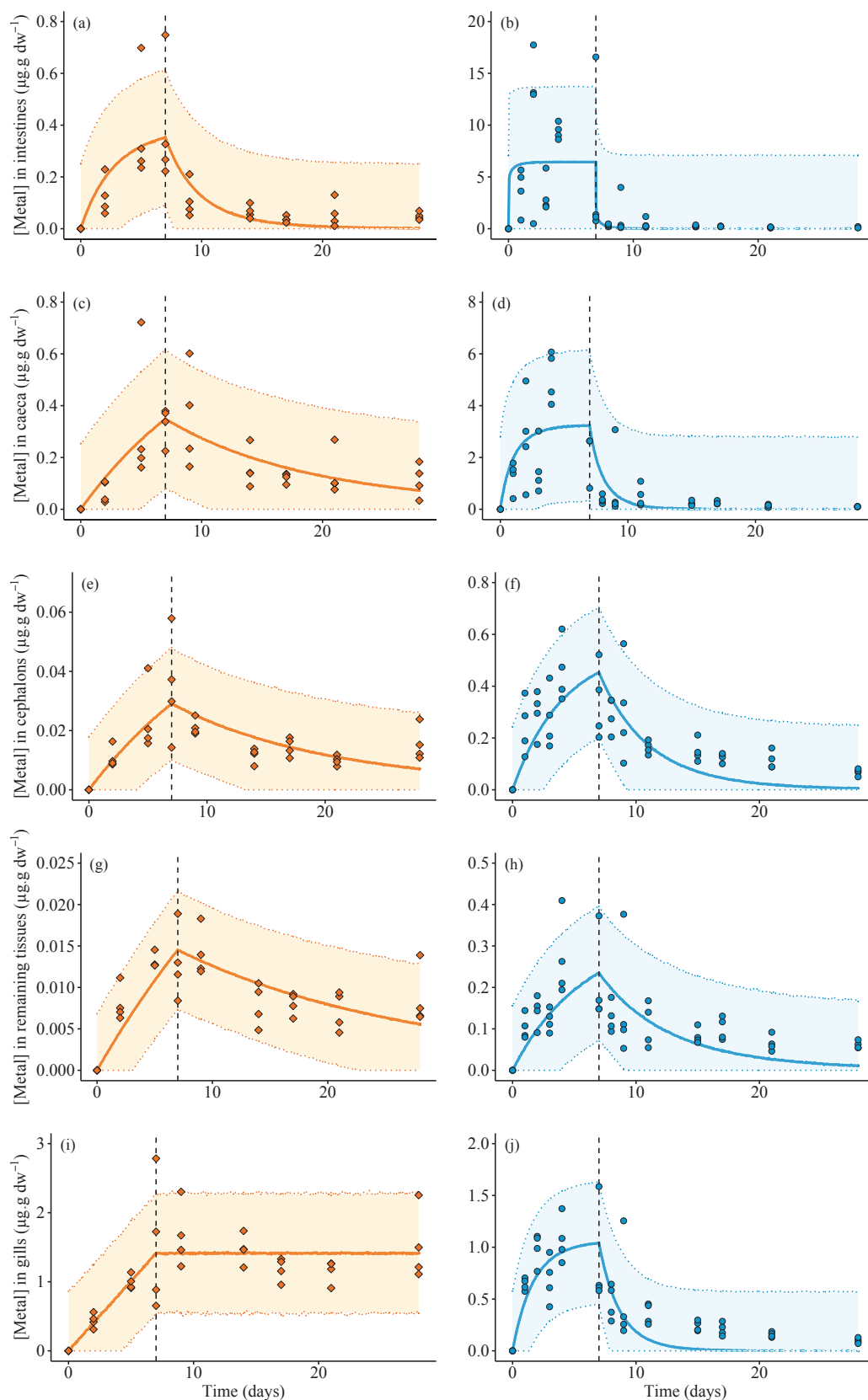


Figure 1. Measured (diamonds for Cd; dots for Zn) and predicted (solid line for the median and dashed lines for the 95% credible interval) concentrations of metals with the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) for a) and b) intestines; c) and d) caeca; e) and f) cephalons; g) and h) remaining tissues; and i) and j) gills of gammarids exposed to $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ of Cd (left column in orange) and $416 \pm 264 \text{ ng.L}^{-1}$ of Zn (right column in blue) during the uptake phase (days 0–7) followed by a depuration phase (days 7–28). These two phases are separated by the black dotted vertical line. Please note that the y-scale differs between the plots.

Table 1. Parameter estimates of the TK one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted separately to each organ of *Gammarus fossarum* exposed to dissolved Cd and Zn for 7 days before being placed in depuration conditions for 21 days.

Organs	Parameters	Priors	[Cd] = 52.1 ± 27.3 ng.L ⁻¹			[Zn] = 416 ± 264 ng.L ⁻¹		
			Median	Percentiles		Median	Percentiles	
				2.5%	97.5%		2.5%	97.5%
Intestines	$k_{u,1}$	log10.Unif (-5, 10)	2648	1439	8168	1,841,000	17911	1,058,000,000
Caeca	$k_{u,2}$		1249	833	1733	6901	3733	52770
Cephalons	$k_{u,3}$	log10.Unif (-5, 5)	101	71	136	326	219	483
Remaining tissues	$k_{u,4}$		47	37	57	138	88	223
Gills	$k_{u,5}$		3868	3412	4321	1509	993	2422
Intestines	$k_{e,1}$		0.352	0.016	1.38	120	1.11	70730
Caeca	$k_{e,2}$		0.077	0.033	0.142	0.877	0.460	7.92
Cephalons	$k_{e,3}$	log10.Unif (-5, 5)	0.068	0.030	0.12	0.242	0.136	0.406
Remaining tissues	$k_{e,4}$		0.046	0.023	0.072	0.165	0.077	0.341
Gills	$k_{e,5}$		0	0	0	0.591	0.367	1.02
Intestines	σ_1		0.12	0.10	0.16	3.5	2.9	4.4
Caeca	σ_2		0.13	0.09	0.16	1.4	1.2	1.7
Cephalons	σ_3	Gamma (0.001, 0.001)	0.009	0.007	0.011	0.12	0.10	0.15
Remaining tissues	σ_4		0.003	0.003	0.004	0.08	0.06	0.10
Gills	σ_5		0.42	0.33	0.55	0.28	0.24	0.35

$k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ are, respectively, the uptake and elimination rates (d⁻¹) of the organ i ($i=1..5$); σ_i is the standard deviation of the Gaussian stochastic part associated to the organ i ($i=1..5$); Priors: scale, law, and interval of values tested during the inference process; Median and Percentiles: median and percentiles of the posterior distribution for each parameter, the percentiles corresponding to the lower and upper limit of the 95% credibility interval of each parameter.

Overall, the highest estimated k_u values were different between the two metals tested. In view of the credibility intervals, for Cd, the intestines and the gills were the two tissues with the most accumulation, while for Zn, the k_u of the intestines only was prominent. For both metals, the highest k_e median values among organs were those of the intestines. Concerning the particular case of the kinetic parameters of Zn in the intestines, both k_u and k_e had a large credible interval (between an order of 10^4 and 10^{10} for $k_{u,5}$ and between an order of 10^0 and 10^4 for $k_{e,5}$) (Tables 1 and Fig. S4), meaning that the depuration rate might be overestimated and consequently also the accumulation rate (Tables S6). This high uncertainty resulted from the very fast accumulation and depuration of Zn in the intestines (Fig. 1b), as shown by the highest k_u and k_e values and the uptake kinetics reaching a plateau within a few hours (Fig. 1b).

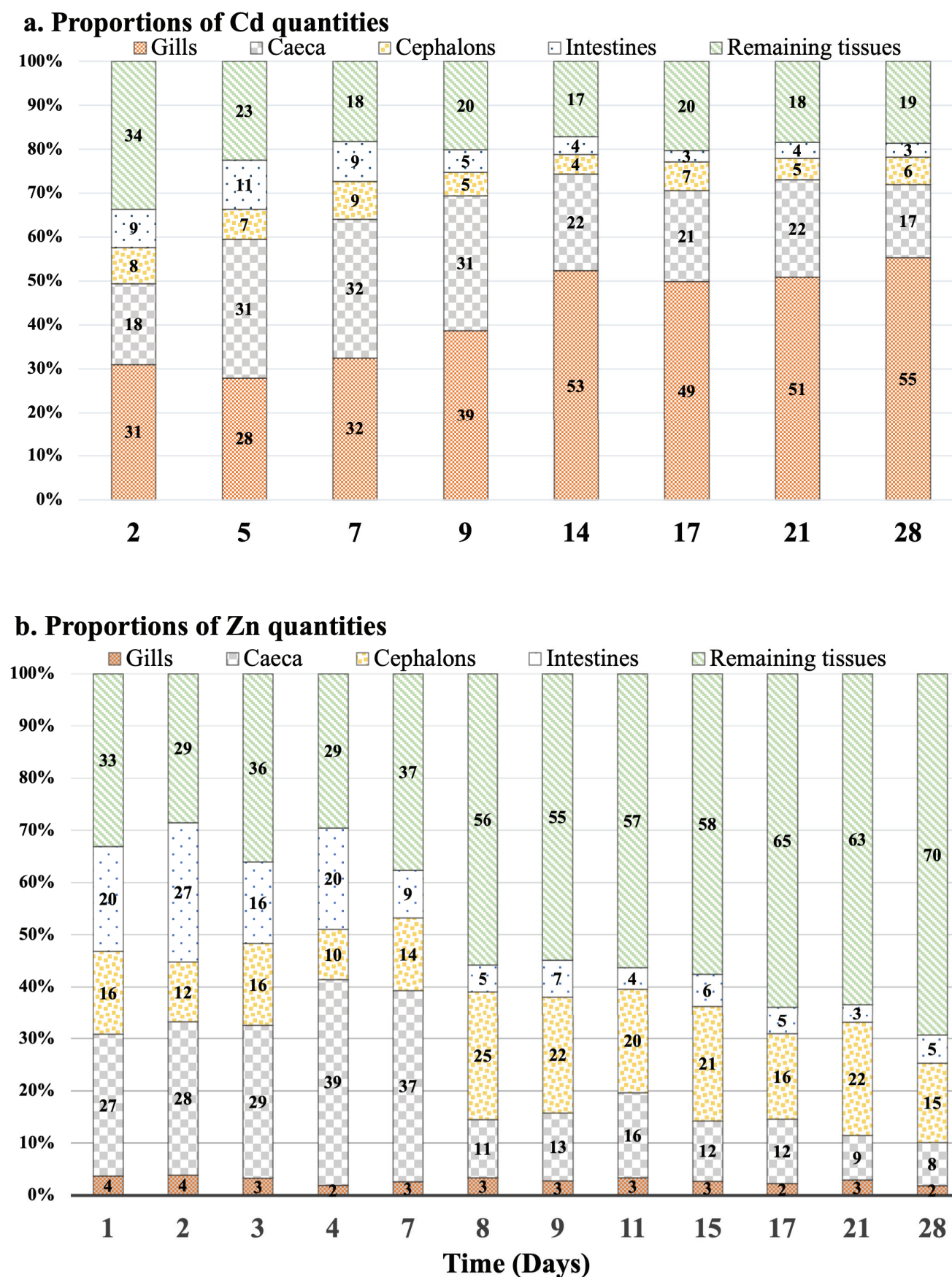


Figure 2. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens (figure a. for Cd and b. for Zn) per organ (gills, caeca, cephalons, intestines, and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) for accumulation (days 0–7) and depuration phases (days 8–28).

3.4 Cd and Zn distribution among organs during the uptake and loss phases

The proportions of metal amount found in each organ at all sampling times are presented in Figure 2. These distribution patterns highlighted the contrasting organotropism between the two elements. It is noteworthy that, during the accumulation phase, more than 30% of the total amount of accumulated Cd was found in the gills, despite their very small size (and low weight). This proportion increased to more than 50% during the depuration phase, while the proportion remained stable or decreased in the other compartments. These results suggest that gills provide a key contribution to the Cd bioaccumulation efficiency in gammarids. Aside from the gills, Cd was found in the caeca and the remaining tissues (i.e., up to 31% and 20% for Cd on day 9, respectively). In the depuration phase, Zn was mainly found in the remaining tissues and the cephalons (i.e., up to 55% and 22% for Cd on day 9, respectively).

4. Discussion

First, using radioisotopes as tracers allowed us to accurately quantify the low concentrations of bioaccumulated metals in the tiny organs of small invertebrates (e.g., ~ 1.54 mg for each pool of gills) exposed to environmentally relevant concentrations. Indeed, the gammarid exposure concentrations of 52.1 and 416 ng.L⁻¹ for Cd and Zn, respectively, are assessed as environmentally similar to the concentrations measurable in rivers (i.e., <100 and <500 ng.L⁻¹ for Cd and Zn, respectively) (Cresswell et al., 2014b; Urien et al., 2016). Thus, the low mortality rate observed throughout the experiment attests to the good rearing conditions and the absence of acute metal toxicity for gammarids.

One of the main goals of this study was to compare bioaccumulation behavior, at the organ level, of a non-essential (Cd) and an essential (Zn) metal. Greatly contrasting contamination patterns were found between the two elements. First, our data strongly suggest a fast regulation of Zn, as has been reported at the whole-body level in *Gammarus fasciatus*, *Echinogammarus marinus*, and *Gammarus pulex* (Amyot et al., 1994; Ramiro Pastorinho et al., 2009; Xu and Pascoe, 1993). This is a common feature for Zn in crustacean species (Rainbow, 2002) but also shared with other essential metals (e.g., copper and iron), in order to maintain a constant internal level to meet the metabolic needs (Lebrun et al., 2017). Indeed, Zn was taken up very quickly during the accumulation phase and was lost during the depuration phase (Fig. 1): 72% of the total Zn eliminated during the depuration phase was lost during the first 24 h (Fig. 2 and Table S5). This efficient depuration has already been demonstrated in *Hyalella azteca* at the scale of the whole organism, which depurated Zn mainly in the first 24 h, and reached its baseline after 5 days of depuration (Shuhaimi-Othman

and Pascoe, 2007). This efficient excretion, confirmed by high k_e values, indicated a fast regulation capacity of Zn by gammarids at the organ level. Moreover, following the rapid 24-h loss, the measured data (Fig. 1 and Tables S4 and S5) showed that Zn concentrations in all organs reached a plateau on day 9 until the end of that phase, implying that elimination drastically slowed down or stopped. This peculiar pattern suggests two pools of accumulated Zn in gammarid organs: the first one is very labile and rapidly eliminated, while the second one seems to be retained much longer and eliminated more slowly (White and Rainbow, 1984). This latter pattern would correspond to metabolically available Zn, which is required for essential metabolic purposes (i.e., co-factor of enzymes, DNA; Dixit and Witcomb, 1983), or to some elements reversibly detoxified by metalloproteins such as metallothioneins; Rainbow and Luoma, 2011).

The remaining tissues showed the lowest Cd concentration throughout the experiment, which contained around 20% of the total body burden (Fig. 2). This is in contrast to our previous results that showed approximately twofold higher Cd concentrations in the remaining tissues than in the cephalons of gammarids exposed to $11 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Cd (i.e., where remaining tissues included gills) (Gestin et al., 2021). Moreover, the k_u values of Cd were 2.87-fold higher and the k_e values 1.77-fold lower in the remaining tissues of gammarids exposed to $11 \mu\text{g.L}^{-1}$ compared to the values calculated for 52 ng.L^{-1} . When considered alone, the gills displayed a high value and null values of k_u and k_e , respectively, implying an efficient bioaccumulation and a strong retention of metal. The differences in kinetic parameter values for the remaining tissues in the two studies could thus be attributed to the presence of gills in the remaining tissues in the first study, which, despite their tiny size, accumulated significant amounts of Cd as the first organ susceptible to waterborne uptake (see Discussion below).

Concerning Zn, the amount of metal in the remaining tissues accounted for one third of the total Zn body burden (Fig. 2) during the exposure phase. In the literature, Nunez-Nogueira and Rainbow (2005) reported that 40% of Zn is associated with the exoskeleton of decapods, *Penaeus indicus* (i.e., the exoskeleton that mainly comprises, with muscles, the “remaining tissues” compartment in our study). Following depuration, the proportion increased to $\sim 70\%$ of the total amount of Zn (Fig. 2). The same value has also been shown in the gammarids *G. fasciatus*, from Lake St. Louis (Canada), in which 68% of the total Zn body burden was found in the remaining tissues after 24 h of depuration (Amyot et al., 1996). This is consistent with a controlled distribution of Zn in the organisms. Indeed, at the end of the depuration phase, the increase in the relative contribution of the remaining tissues and cephalons is explained by a more rapid depuration of Zn by the other tissues.

Regarding the other organs, the results obtained here suggest that the caeca and intestines often play a key role in metal regulation, with the highest concentrations reached at the end of the accumulation phase for both metals (Fig. 1).

In terms of metal amounts, the caeca accounted for around one third of the total metal body burden at the end of the accumulation phase (Fig. 2), which is similar to the proportion already reported for the caeca of amphipods: i) *Orchestia gammarellus* stored 30% of the Zn body burden at higher concentrations (i.e., 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$) (Nassiri et al., 2000; Weeks and Rainbow, 1991); and ii) *G. fasciatus* stored 38% of the Cd body burden (Amyot et al., 1996). The elimination rate (k_e) of Zn by the caeca is six-fold greater than that of Cd. The caeca are known to be an organ of metal detoxification, through various sequestration mechanisms. Subcellular mechanisms have already been described in amphipods, including binding to metallothioneins, insoluble granules, or lysosomes (Nunez-Nogueira et al., 2006). Among these processes, some lead to a long retention of non-essential metals, such as Cd, and a short retention of essential metals, such as Zn. Indeed, to decrease their metabolic bioavailability, and thereby any possible toxicity, Cd and Zn bind to two different groups of metallothionein, type C and B, respectively, in the caeca of crustaceans, suggesting that they are controlled and detoxified differently (Nunez-Nogueira et al., 2006). For both metals, the elimination rates of the caeca were the second highest (i.e., 0.077 and 0.877 d^{-1} for Cd and Zn, respectively), after those of the intestines (i.e., 0.352 and 120 d^{-1} for Cd and Zn, respectively). It is already known that metals can be temporarily stored in the lysosomes of the caeca before being eliminated in the lumen of the intestines, making the latter tissue a major organ in the elimination of metals (Schaller et al., 2011).

It is noteworthy that the literature tends to summarize the role of the intestines in the uptake of metal only in cases of trophic exposure (Ahearn et al., 2004), presenting the gills as the primary pathway for accumulation of metals from waterborne contamination (Henry et al., 2017; Nunez-Nogueira et al., 2006). For Cd, the 95% credible interval around the median prediction of the intestine k_u value encompasses that of gills, making them the two dominant pathways of Cd accumulation. Surprisingly, the k_u value of Zn for intestines is 1,220 times higher than that of gills. These results support the idea that intestines are a predominant uptake pathway of waterborne metals, when gammarids drink water contaminated to environmentally relevant concentrations.

Concerning the gills, one of the major results of this study was the highest Cd concentration found in the gills when compared to the other organs, with more than 30% of the total metal amount in the accumulation phase, despite their very small size and low weight. Indeed, the gills displayed a very high bioconcentration capacity of Cd, with maximal concentrations measured on day 7 up to

3.5-fold higher than those recorded in the caeca and the intestines. This high bioaccumulation of Cd in the gills was already reported in other genera of crustaceans, such as the prawns *P. australiensis* and *Macrobrachium australiense*, with gills accumulating four times more Cd than caeca (Cresswell et al., 2017; McDonald et al., 2020). This can be explained by the fact that most of the Cd taken up by the gills would remain in this tissue, even during depuration. Regarding the kinetics parameters, the k_u values of Cd in the gills for *Mytilus galloprovincialis*, *Ruditapes decussatus*, and *Oncorhynchus mykiss* (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015) are, respectively, 14, 22, and 326 times lower than the values for *G. fossarum*. This suggests that the gills of gammarids accumulate Cd more rapidly than those of bivalves and fish. However, regarding the elimination rate (k_e) of Cd by the gills, the values were null or very low ($k_e = 6.93 \cdot 10^{-7} \text{ d}^{-1}$) in the bivalves *M. galloprovincialis* and *R. decussatus*, respectively, suggesting that Cd is not eliminated from the gills as observed in gammarids. On the contrary, the trout *O. mykiss* eliminates Cd more rapidly, with a significantly higher k_e value of 0.32 d^{-1} . Cresswell et al. (2017) showed that after 6 h of exposure to $0.56 \pm 0.14 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Cd, the concentration in the gills of *M. australiense* decreases rapidly during the depuration phase, whereas it decreases much more slowly when the shrimp were exposed for 7 days. Nevertheless, for gammarids, bioaccumulation data at the organ scale are still lacking for determining whether the absence or very low depuration of Cd by the gills: i) is characteristic of the invertebrate group as opposed to fish; and/or ii) is instead related to the duration of exposure, as already discussed for the crustacean *M. australiense* (Cresswell et al., 2017). Some authors make the assumption that the gills of crustaceans store Cd for a later elimination by the exuviae (Amyot et al., 1994; Nunez-Nogueira et al., 2006). However, there is no consensus on this topic, as other authors have determined that the molting phenomenon has no influence on Cd efflux (Cresswell et al., 2014a). The amount of Cd contained in the exuviae was not measured in this study. Nevertheless, this absence of apparent Cd depuration from the highly concentrated gills leads to two hypotheses: i) the accumulated metal is tightly bound to the cellular components of gills resulting in a long-term storage of Cd (Table 1); and ii) alternatively, stable Cd concentrations during the depuration phase could result from a dynamic balance between the influx rate from the other organs into the gills and the efflux rate from the gills toward the medium. Considering that the other organs showed very low levels of Cd concentrations at the end of the depuration phase, while concentrations in the gills remained constant, we assume that the gills of gammarids are characterized by a high Cd accumulation and retention capacity. This would make it an independent organ from the rest of the gammarid, in terms of Cd uptake and elimination.

The development of a multicompartiment modeling approach could help to further investigate the hypothesis of linkages and exchanges between the gills and other organs.

This study provides the base for understanding the organotropism and toxicokinetic of essential and non-essential metals in a sentinel species. Firstly, the measurements obtained for Zn confirmed its good regulation by all organs of gammarids and consistent with the essential character of this element whose accumulation has to meet the metabolomic needs (Amyot et al., 1996; Rainbow and Luoma, 2011). Moreover, this regulation is very rapid, with 65% of the Zn lost in the first 24 h of the depuration phase for all organs. This implies that in the context of biomonitoring, the duration of exposure will not have an impact on the Zn concentrations measured in gammarids. Instead, these concentrations will tend to reflect a constant or a very recent contamination in the environment. On the contrary, the absence of Cd elimination in the gills during the 21 days of the depuration phase shows that this tissue integrates the contamination changes to which the organism is exposed. Indeed, at the end of the depuration phase, it appears that the concentration in the gills is still the same as that measured at the end of the accumulation phase and represents $55 \pm 8.0\%$ of the total dissolved Cd of the whole body. The fact that gills are an organ of Cd accumulation in gammarids is consistent with previous work conducted on *G. pulex* and *G. fossarum* (Felten et al., 2008; Issartel et al., 2010c). The gills can therefore be considered a very good indicator of aqueous Cd contamination, assuming no loss of Cd during the molting event. This storage function makes them an organ of great interest in biomonitoring, but their low mass and difficult extraction from other tissues make this tissue of choice somewhat difficult to use in routine compared to the whole organism, as is currently done. Secondly, the gills are an organ essential for maintaining homeostasis and respiration, which makes them particularly vulnerable to metal-induced toxic effects. Indeed, environmental Cd contamination leads in particular to a decrease in iono- and osmoregulation, linked to the induction of critical cellular damage after exposure (Felten et al., 2008; Issartel et al., 2010c).

Finally, one of the major objectives in the field of ecotoxicology is the development of biomarkers to help understand and predict the impact of metal contamination on organisms. The study of organotropism and toxicokinetic can be useful for identifying key organs in the accumulation, storage, or regulation of metals. Thus, in gammarids, the ability of the gills to integrate non-essential metals, such as Cd, may make them a tissue of interest for the development of biomarkers of the effect of dissolved metal contamination. The caeca, whose detoxification role enables the establishment of molecular responses to regulate metals, both essential and non-essential, would instead be an organ in which biomarkers of metal exposure could be developed. However, in this work we raised the issue that some studies may show that the trophic pathway is the main route of metal accumulation in invertebrate freshwater species or fish (Cresswell et al., 2014a; Mijošek et al., 2020). It will therefore be necessary in the future to improve the mechanistic understanding of the

processes governing organotropism, toxicokinetic, and the fate of metals (Wang and Rainbow, 2008) so as to consider the trophic pathway that can have a major impact on the bioaccumulation mechanisms (Vijver et al., 2004).

5. Conclusions

This study provides a proof of concept that organotropism of metals in a tiny invertebrate species, *G. fossarum*, can be studied at environmentally relevant concentrations. Our results demonstrate that gammarid organs handle Zn and Cd very differently. Whereas Zn is quickly accumulated and depurated, Cd is more persistently retained, especially in the gills and caeca, which may be explained by the essential (Zn) or non-essential (Cd) character of the two metals studied here. These results of metal-specific bioaccumulation are consistent with other studies on freshwater crustaceans performed on whole organisms.

In addition, we showed that the bioaccumulation of these two metals is strongly organ-specific in *G. fossarum*, with undoubtedly contrasting distribution and management. The main findings were that gills represent the major site of persistent Cd accumulation, while the intestines and caeca are central organs for both Cd and Zn accumulation and depuration.

Acknowledgment

This work has been supported by the APPROVe project funded by the ANR (ANR-18-CE34-0013-01). This work benefitted from the French GDR "Aquatic Ecotoxicology" framework which aims at fostering stimulating scientific discussions and collaborations for more integrative approaches. We thank the "Radioecology lab" of the Institut du Littoral, Environnement et Sociétés (UMR 7266 LIENSs) and Christine Dupuy and Thomas Lacoue-Labarthe as Competent Radiological Protection Persons for their technical support.

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Author statement

Ophélia Gestin: Methodology, Formal Analysis, Writing - original draft, Visualization.

Christelle Lopes: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - Review & Editing, Supervision, Funding acquisition

Nicolas Delorme: Resources

Laura Garnero: Resources

Olivier Geffard: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - Review & Editing, Supervision, Funding acquisition

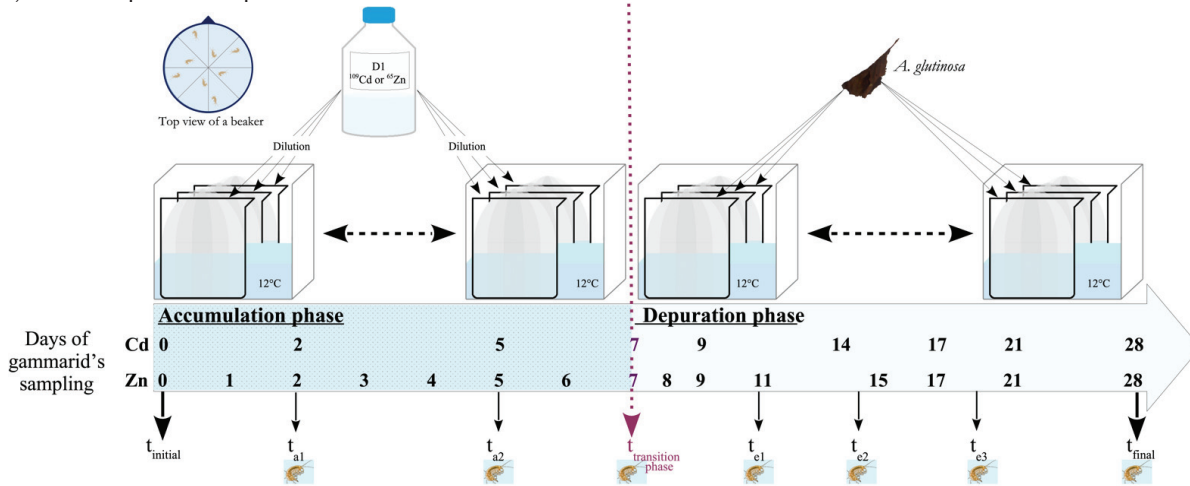
Thomas Lacoue-Labarthe: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - Review & Editing, Supervision, Funding acquisition

Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »

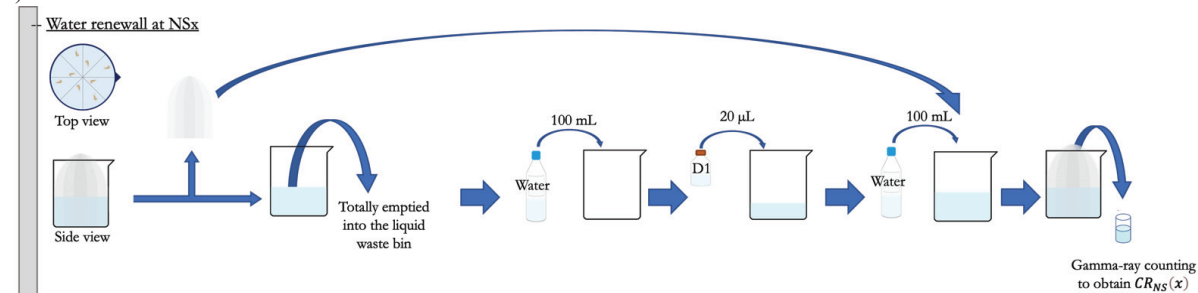
Table S1. Characteristics of the Évian® water used for the experiments.

	Concentrations (mg.L ⁻¹)
Bicarbonates HCO ₃ ⁻	360
Calcium Ca ²⁺	80
Chlorides Cl ⁻	10
Magnesium Mg ²⁺	26
Nitrates NO ₃ ⁻	3.8
Potassium K ⁺	1
Silica SiO ₂	15
Sodium Na ⁺	6.5
Sulfates SO ₄ ²⁻	14
pH = 7.2	

a) Global experimental plan



b) Water renewals



c) Monitoring of ^{109}Cd and ^{65}Zn concentrations

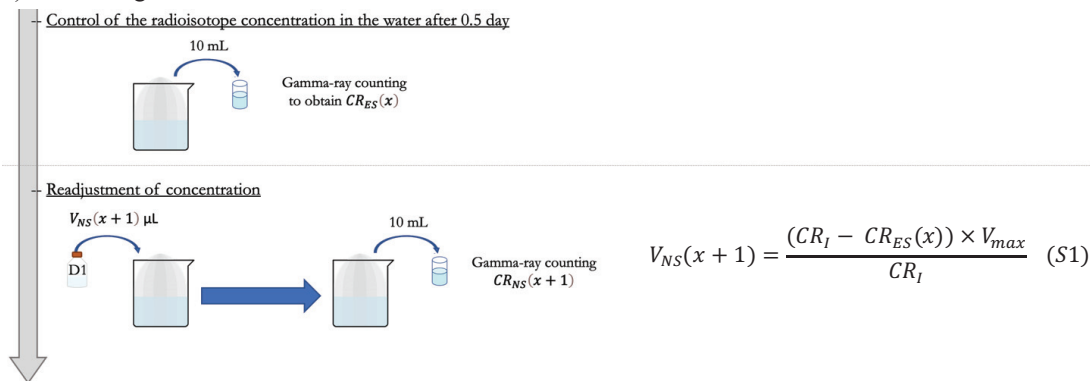


Figure S1. Main parts of the experimental plan. a) Global experimental plan, where $t_{\text{initial}}=0$ is the beginning of the experiment, t_{a1} and t_{a2} are sampling timesteps during the accumulation phase, t_c is the duration of the accumulation phases ($t_c = 7$ days), t_{c1} , t_{c2} and t_{c3} are sampling timesteps during the depuration phase and t_{final} is the total duration of the experiment ($t_{\text{final}} = 28$ days). During the accumulation phase, there will be no food placed. Moreover, the individualized exposure avoids inter-individual cannibalism; b) For water renewal, the baskets were placed in another « transition » beaker and the contaminated water was thrown. To begin, 100 mL of uncontaminated Évian® water was poured into the beaker, then 20 µL of ^{109}Cd or ^{65}Zn D1 solution followed by another 100 mL of uncontaminated Evian water. The basket containing the gammarids was then repositioned in the beaker that had just been prepared. The operation was repeated for each beaker, every 2 days; and c) Monitoring of ^{109}Cd and ^{65}Zn concentrations in real time. To compensate the loss of ^{109}Cd or ^{65}Zn , due to ad- and uptake, and thus keep the exposure concentration as constant as possible, the activity concentration in water was monitored twice a day (Tables S4 and S5). Around every 0.5 days after the last « new spike » (abbreviated NS), 5 samples of 10 mL of water were taken in 5 different beakers for gamma-counting, called « end spike » (abbreviated ES). To control and readjust the contamination pressure, the difference between the theoretical concentration and the average of the measured concentrations at ES, was added in each beaker. The volume of D1 required was calculated according to Eq. (S1): where $V_{NS}(x+1)$ is the volume of D1 solution to be added to the beaker for the $x+1^{\text{th}}$ spike; CR_I is the nominal concentration to be reached (i.e. 15 Bq.mL $^{-1}$); $CR_{ES}(x)$ is the concentration measured at the end of the x^{th} spike (just before the $x+1^{\text{th}}$ spike); and V_{max} is the maximum volume that can be spiked to reach the CR_I (i.e. $V_{max} = 0.02$ mL).

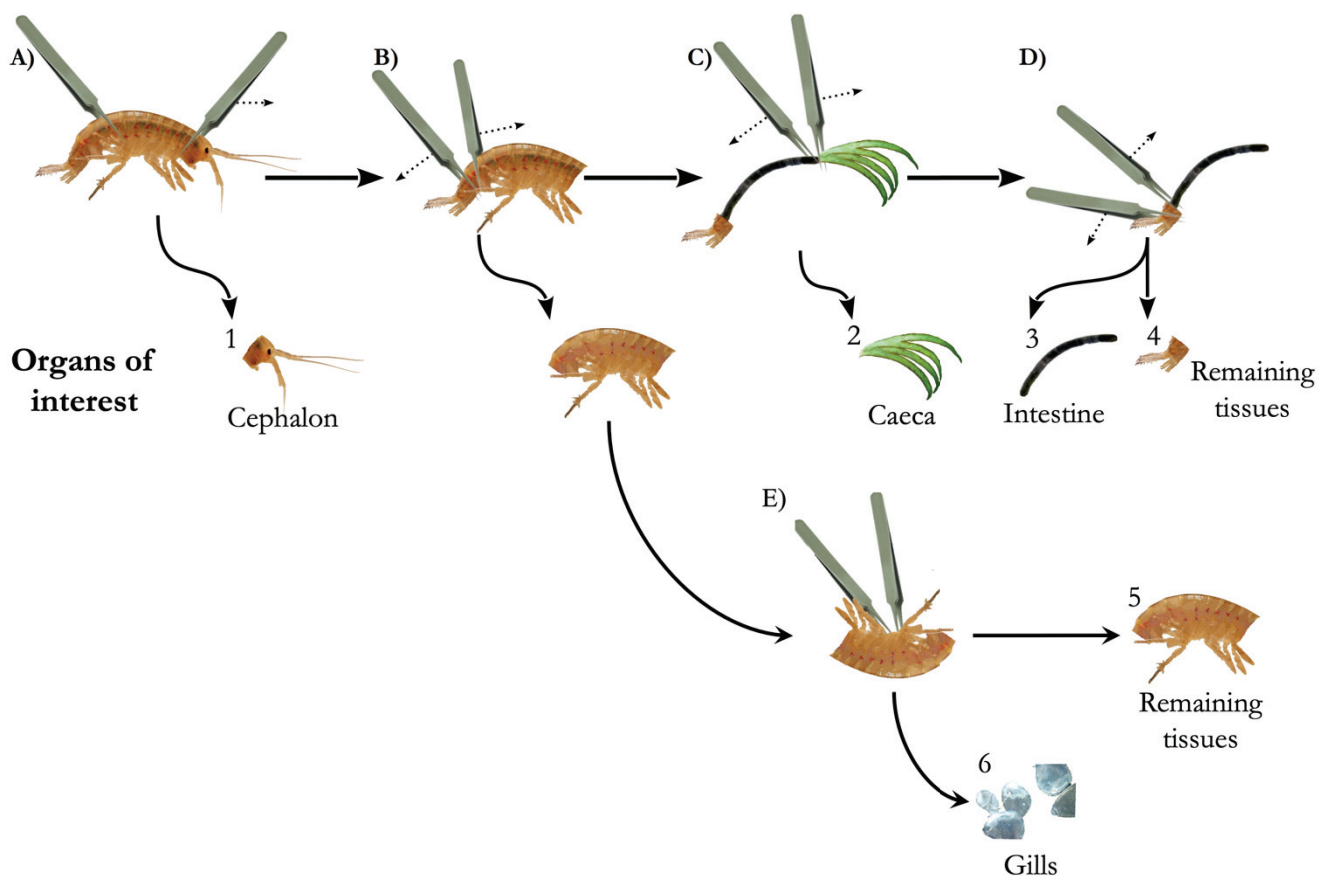


Figure S2. Dissection steps. A) separation of the cephalon from the rest of the organism; B) separation of the thorax and the abdomen from the urosome; C) separation of the caeca from the intestine; D) separation between the urosome and the intestine; and E) separation of the gills from the thorax and abdomen. To recover the organs of interest, with: 1 = cephalon, 2 = caeca, 3 = intestine, 4 = abdomen + thorax, 5 = urosome (4 + 5 = remaining tissues) and 6 = gills.

Table S2. Measured concentrations of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq.mL $^{-1}$) and calculated concentrations of Cd in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L $^{-1}$) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{109}Cd in waters during the 7 days of exposure.

Time of sampling (in hour from the gammarids are put in the beakers)	Moment of sampling	Concentrations					
		^{109}Cd (Bq.mL $^{-1}$)			Cd in stable equivalent (ng.L $^{-1}$)		
		Nominale	Measured	Mean measured	Nominale	Calculated	Mean calculated
-60.0	New spike 1		22.1 $\pm$ 2.26			53.3 $\pm$ 5.65	
0	End spike 1		2.27 $\pm$ 2.38			5.67 $\pm$ 5.96	
0	New spike 2		17.8 $\pm$ 2.49			44.5 $\pm$ 6.22	
7.3	End spike 2		11.8 $\pm$ 3.72			29.4 $\pm$ 9.29	
7.3	New spike 3		18.9 $\pm$ 1.13			47.3 $\pm$ 2.82	
23.2	Middle spike 3		17.1 $\pm$ 5.01			42.8 $\pm$ 12.5	
29.2	End spike 3		12.1 $\pm$ 2.46			30.3 $\pm$ 6.14	
29.2	New spike 4		30.5 $\pm$ 5.85			76.2 $\pm$ 14.6	
48.5	Middle spike 4		23.1 $\pm$ 1.94			57.7 $\pm$ 14.8	
53.0	Middle spike 4 bis		29.6 $\pm$ 9.09			74.0 $\pm$ 22.7	
71.8	Middle spike 4 ter		33.5 $\pm$ 16.6			83.8 $\pm$ 41.5	
80.3	End spike 4	15	16.2 $\pm$ 6.12	18.6 $\pm$ 11.0	50	40.4 $\pm$ 15.3	52.1 $\pm$ 27.3
80.3	New spike 5		34.5 $\pm$ 5.17			86.2 $\pm$ 12.9	
101.5	End spike 5		23.6 $\pm$ 11.9			58.9 $\pm$ 29.6	
101.5	New spike 6		23.2 $\pm$ 2.13			58.1 $\pm$ 5.34	
120.5	End spike 6		7.83 $\pm$ 6.32			19.6 $\pm$ 15.8	
120.5	New spike 7		28.9 $\pm$ 5.65			72.3 $\pm$ 14.1	
127.5	End spike 7		5.52 $\pm$ 8.82			13.8 $\pm$ 22.0	
127.5	New spike 8		25.5 $\pm$ 6.26			63.9 $\pm$ 15.6	
144.8	End spike 8		5.44 $\pm$ 5.77			13.6 $\pm$ 14.4	
144.8	New spike 9		19.1 $\pm$ 4.87			47.7 $\pm$ 12.2	
151.8	End spike 9		7.04 $\pm$ 5.26			17.6 $\pm$ 13.2	
151.8	New spike 10		24.7 $\pm$ 5.24			61.8 $\pm$ 13.1	
167.0	End spike 10		6.89 $\pm$ 5.45			17.2 $\pm$ 13.6	

Table S3. Measured concentrations of ^{65}Zn (Mean $\pm$ SD; Bq.mL^{-1}) and calculated concentrations of Zn in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L^{-1}) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{65}Zn in waters during the 7 days of exposure.

Time of sampling (in hour from the gammarids are put in the beakers)	Moment of sampling	Concentrations					
		^{65}Zn (Bq.mL^{-1})			Zn in stable equivalent (ng.L^{-1})		
		Nominale	Measured	Mean measured	Nominale	Calculated	Mean calculated
-68.0	New spike 1		14.62 $\pm$ 1.250			408.7 $\pm$ 34.94	
-60.0	End spike 1		10.21 $\pm$ 1.283			285.6 $\pm$ 35.88	
-60.0	New spike 2		23.47 $\pm$ 3.029			656.7 $\pm$ 84.68	
0.0	End spike 2		1.214 $\pm$ 0.4714			33.9 $\pm$ 13.18	
0.0	New spike 3		14.53 $\pm$ 0.9808			406.2 $\pm$ 27.42	
7.2	End spike 3		7.397 $\pm$ 0.8870			206.8 $\pm$ 24.80	
7.2	New spike 4		19.42 $\pm$ 2.362			543.0 $\pm$ 66.04	
23.4	End spike 4		8.665 $\pm$ 1.157			242.2 $\pm$ 32.35	
23.4	New spike 5		24.79 $\pm$ 5.110			693.1 $\pm$ 142.9	
29.8	Middle spike 5		14.90 $\pm$ 2.281			416.6 $\pm$ 63.78	
48.6	End spike 5		10.25 $\pm$ 1.757			286.6 $\pm$ 49.12	
48.6	New spike 6		16.24 $\pm$ 1.133			454.0 $\pm$ 31.69	
55.0	End spike 6		7.432 $\pm$ 3.969			207.8 $\pm$ 111.0	
55.0	New spike 7		22.44 $\pm$ 6.707			627.3 $\pm$ 187.5	
72.1	End spike 7		6.276 $\pm$ 6.937			175.5 $\pm$ 193.9	
72.1	New spike 8	15	20.81 $\pm$ 9.351	14.89 $\pm$ 9.3	420	581.8 $\pm$ 261.4	416 $\pm$ 263.8
78.7	End spike 8		10.52 $\pm$ 9.721			294.1 $\pm$ 271.8	
78.7	New spike 9		23.47 $\pm$ 11.07			656.2 $\pm$ 309.5	
96.0	End spike 9		10.55 $\pm$ 10.57			295.0 $\pm$ 295.6	
96.0	New spike 10		25.68 $\pm$ 15.14			717.9 $\pm$ 423.2	
102.7	End spike 10		16.45 $\pm$ 13.26			459.9 $\pm$ 370.6	
102.7	New spike 11		22.47 $\pm$ 15.19			628.2 $\pm$ 424.8	
121.3	End spike 11		15.83 $\pm$ 11.51			442.6 $\pm$ 321.8	
121.3	New spike 12		18.15 $\pm$ 5.009			507.5 $\pm$ 140.0	
126.8	End spike 12		6.210 $\pm$ 6.576			173.6 $\pm$ 183.8	
126.8	New spike 13		19.42 $\pm$ 7.644			542.8 $\pm$ 213.7	
143.9	End spike 13		3.710 $\pm$ 3.171			103.7 $\pm$ 88.64	
143.9	New spike 14		18.24 $\pm$ 7.702			510.0 $\pm$ 215.3	
150.8	End spike 14		10.46 $\pm$ 6.144			292.5 $\pm$ 171.8	
150.8	New spike 15		18.89 $\pm$ 7.179			528.2 $\pm$ 200.7	
167.9	End spike 15		11.39 $\pm$ 7.945			318.5 $\pm$ 222.1	

Table S4. Data sets of Cd, with for each organ: n = 5, except for the last sampling time (day 28) where n = 4. a) Measured quantities of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; b) weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and c) concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Cd.g organ in dry weight}^{-1}$).

a)

Day of sampling	Mean quantities of ^{109}Cd measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	42.13 $\pm$ 22.94	19.11 $\pm$ 5.745	69.65 $\pm$ 16.75	20.57 $\pm$ 11.19	76.58 $\pm$ 19.24
5	195.2 $\pm$ 159.6	39.42 $\pm$ 20.13	147.8 $\pm$ 16.33	57.59 $\pm$ 27.61	118.4 $\pm$ 12.68
7	191.2 $\pm$ 42.33	56.01 $\pm$ 27.69	219.9 $\pm$ 136.4	59.83 $\pm$ 35.11	113.4 $\pm$ 35.42
9	196.7 $\pm$ 94.06	31.92 $\pm$ 2.839	236.7 $\pm$ 48.26	33.53 $\pm$ 19.63	121.4 $\pm$ 22.26
14	93.19 $\pm$ 39.47	18.69 $\pm$ 4.558	217.7 $\pm$ 25.57	16.90 $\pm$ 5.093	70.90 $\pm$ 25.00
17	77.27 $\pm$ 12.39	24.34 $\pm$ 4.629	187.0 $\pm$ 36.95	9.903 $\pm$ 2.272	76.30 $\pm$ 17.01
21	76.91 $\pm$ 52.41	14.62 $\pm$ 2.055	160.3 $\pm$ 26.80	12.52 $\pm$ 9.305	59.90 $\pm$ 20.93
28	43.05 $\pm$ 25.26	15.92 $\pm$ 5.558	144.2 $\pm$ 44.15	7.687 $\pm$ 3.353	48.88 $\pm$ 18.00

b)

Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	6.347 $\pm$ 0.5749	17.69 $\pm$ 1.602	1.590 $\pm$ 0.1440	1.689 $\pm$ 0.1529	95.94 $\pm$ 8.689
5	5.947 $\pm$ 0.4428	16.57 $\pm$ 1.234	1.490 $\pm$ 0.1109	1.582 $\pm$ 0.1178	89.89 $\pm$ 6.692
7	5.823 $\pm$ 0.2368	16.23 $\pm$ 0.6599	1.459 $\pm$ 0.05932	1.549 $\pm$ 0.06300	88.02 $\pm$ 3.580
9	5.839 $\pm$ 0.6426	15.21 $\pm$ 1.743	1.447 $\pm$ 0.1602	3.105 $\pm$ 0.2839	86.56 $\pm$ 9.633
14	5.977 $\pm$ 0.2990	15.94 $\pm$ 0.9188	1.486 $\pm$ 0.07601	2.638 $\pm$ 0.2339	89.19 $\pm$ 4.642
17	6.334 $\pm$ 0.5525	16.89 $\pm$ 1.562	1.575 $\pm$ 0.1384	2.794 $\pm$ 0.4059	94.51 $\pm$ 8.363
21	5.574 $\pm$ 0.1479	14.87 $\pm$ 0.6868	1.386 $\pm$ 0.04102	2.457 $\pm$ 0.4029	83.17 $\pm$ 2.664
28	3.838 $\pm$ 0.1685	10.32 $\pm$ 0.3490	0.9556 $\pm$ 0.03990	1.569 $\pm$ 0.3609	57.40 $\pm$ 2.306

c)

Day of sampling	Mean concentration of Cd in organs, calculated in stable equivalent ($\mu\text{g Cd.g organ dw}^{-1}$)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	0.06899 $\pm$ 0.04162	0.01089 $\pm$ 0.003644	0.4377 $\pm$ 0.1035	0.1255 $\pm$ 0.07469	0.008012 $\pm$ 0.002159
5	0.3282 $\pm$ 0.2639	0.02369 $\pm$ 0.01176	0.9942 $\pm$ 0.1044	0.3761 $\pm$ 0.2169	0.01317 $\pm$ 0.0009170
7	0.3284 $\pm$ 0.07127	0.03484 $\pm$ 0.01813	1.512 $\pm$ 0.9656	0.3910 $\pm$ 0.2419	0.01296 $\pm$ 0.004395
9	0.3505 $\pm$ 0.1946	0.02115 $\pm$ 0.002753	1.665 $\pm$ 0.4629	0.1106 $\pm$ 0.06998	0.01412 $\pm$ 0.002916
14	0.1587 $\pm$ 0.07610	0.01169 $\pm$ 0.002566	1.470 $\pm$ 0.2160	0.06559 $\pm$ 0.02560	0.007901 $\pm$ 0.002561
17	0.1223 $\pm$ 0.01872	0.01451 $\pm$ 0.003128	1.183 $\pm$ 0.1686	0.03641 $\pm$ 0.01203	0.008032 $\pm$ 0.001342
21	0.1364 $\pm$ 0.08885	0.009873 $\pm$ 0.001634	1.154 $\pm$ 0.1677	0.05729 $\pm$ 0.05270	0.007162 $\pm$ 0.002362
28	0.1117 $\pm$ 0.06423	0.01551 $\pm$ 0.005840	1.519 $\pm$ 0.5172	0.04859 $\pm$ 0.01483	0.008611 $\pm$ 0.003551

Table S5. Data sets of Zn, with for each organ: n = 5, except for the last sampling time (day 28) where n = 6. a) Measured quantities of ^{65}Zn (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; b) weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and c) concentrations of Zn in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Zn.g organ in dry weight}^{-1}$).

a)

Day of sampling	Mean quantities of ^{65}Zn measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	71.23 $\pm$ 35.21	37.30 $\pm$ 15.09	8.939 $\pm$ 1.247	55.39 $\pm$ 30.03	86.16 $\pm$ 20.38
2	145.6 $\pm$ 90.96	44.38 $\pm$ 11.71	13.40 $\pm$ 1.977	157.8 $\pm$ 103.1	116.1 $\pm$ 26.93
3	85.02 $\pm$ 50.64	41.78 $\pm$ 16.21	9.488 $\pm$ 3.247	46.86 $\pm$ 23.09	100.5 $\pm$ 19.97
4	304.0 $\pm$ 53.86	75.89 $\pm$ 19.41	15.92 $\pm$ 2.899	149.0 $\pm$ 16.14	240.5 $\pm$ 80.19
7	208.8 $\pm$ 183.8	55.00 $\pm$ 21.91	12.36 $\pm$ 6.587	74.61 $\pm$ 114.8	183.4 $\pm$ 88.22
8	16.91 $\pm$ 6.650	34.71 $\pm$ 7.489	5.268 $\pm$ 1.690	7.870 $\pm$ 2.884	85.39 $\pm$ 21.94
9	40.14 $\pm$ 62.40	35.28 $\pm$ 21.61	5.482 $\pm$ 5.391	24.04 $\pm$ 40.33	104.1 $\pm$ 93.42
11	28.68 $\pm$ 21.20	26.13 $\pm$ 4.048	5.166 $\pm$ 1.354	6.752 $\pm$ 5.213	93.85 $\pm$ 42.25
15	14.12 $\pm$ 6.175	24.11 $\pm$ 7.598	3.678 $\pm$ 0.9541	7.694 $\pm$ 3.007	75.62 $\pm$ 22.17
17	13.93 $\pm$ 2.959	18.82 $\pm$ 3.041	2.920 $\pm$ 0.8441	6.320 $\pm$ 0.6768	84.79 $\pm$ 22.71
21	6.996 $\pm$ 2.546	17.67 $\pm$ 4.262	2.253 $\pm$ 0.4939	2.656 $\pm$ 0.5041	55.31 $\pm$ 12.09
28	8.755 $\pm$ 0.5529	15.41 $\pm$ 3.397	2.102 $\pm$ 0.5579	5.973 $\pm$ 2.470	78.73 $\pm$ 7.978

b)

Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	6.203 $\pm$ 0.3586	17.28 $\pm$ 0.9992	1.554 $\pm$ 0.08982	1.650 $\pm$ 0.09539	93.76 $\pm$ 5.420
2	6.076 $\pm$ 0.3052	16.93 $\pm$ 0.8504	1.522 $\pm$ 0.07645	1.616 $\pm$ 0.08119	91.83 $\pm$ 4.613
3	6.177 $\pm$ 0.3308	17.21 $\pm$ 0.9217	1.547 $\pm$ 0.08286	1.643 $\pm$ 0.08800	93.37 $\pm$ 5.000
4	6.656 $\pm$ 0.2082	18.55 $\pm$ 0.5800	1.667 $\pm$ 0.05214	1.771 $\pm$ 0.05537	100.6 $\pm$ 3.146
7	6.557 $\pm$ 0.2033	18.27 $\pm$ 0.5666	1.642 $\pm$ 0.05093	1.744 $\pm$ 0.05409	99.11 $\pm$ 3.073
8	5.103 $\pm$ 0.2964	13.33 $\pm$ 0.7356	1.265 $\pm$ 0.07263	2.662 $\pm$ 0.3452	75.70 $\pm$ 4.311
9	5.013 $\pm$ 0.2584	13.19 $\pm$ 0.7184	1.244 $\pm$ 0.06451	2.479 $\pm$ 0.2363	74.51 $\pm$ 3.886
11	6.503 $\pm$ 0.5247	17.95 $\pm$ 1.318	1.626 $\pm$ 0.1291	1.973 $\pm$ 0.4690	98.02 $\pm$ 7.681
15	6.858 $\pm$ 0.4331	17.89 $\pm$ 1.130	1.700 $\pm$ 0.1071	3.609 $\pm$ 0.3807	101.7 $\pm$ 6.402
17	6.343 $\pm$ 0.2886	16.76 $\pm$ 0.7007	1.575 $\pm$ 0.07005	3.033 $\pm$ 0.4997	94.40 $\pm$ 4.132
21	6.494 $\pm$ 0.6792	17.53 $\pm$ 1.765	1.618 $\pm$ 0.1682	2.562 $\pm$ 0.3697	97.23 $\pm$ 10.06
28	9.711 $\pm$ 0.7834	25.26 $\pm$ 2.041	2.405 $\pm$ 0.1941	5.227 $\pm$ 0.4536	143.9 $\pm$ 11.61

c)

Day of sampling	Mean concentration of Zn in organs, calculated in stable equivalent ($\mu\text{g Zn.g organ dw}^{-1}$)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	1.277 $\pm$ 0.6006	0.2440 $\pm$ 0.1081	0.6416 $\pm$ 0.05790	3.773 $\pm$ 2.136	0.1038 $\pm$ 0.02955
2	2.735 $\pm$ 1.810	0.2956 $\pm$ 0.08714	0.9871 $\pm$ 0.1551	11.09 $\pm$ 7.401	0.1423 $\pm$ 0.03749
3	1.573 $\pm$ 1.011	0.2741 $\pm$ 0.1159	0.6857 $\pm$ 0.2227	3.245 $\pm$ 1.761	0.1209 $\pm$ 0.02689
4	5.120 $\pm$ 0.9813	0.4584 $\pm$ 0.1198	1.072 $\pm$ 0.2219	9.396 $\pm$ 0.7698	0.2692 $\pm$ 0.09812
7	3.638 $\pm$ 3.332	0.3392 $\pm$ 0.1444	0.8526 $\pm$ 0.4893	4.961 $\pm$ 7.748	0.2095 $\pm$ 0.1092
8	0.3749 $\pm$ 0.1577	0.2922 $\pm$ 0.06764	0.4718 $\pm$ 0.1688	0.3357 $\pm$ 0.1261	0.1271 $\pm$ 0.03616
9	0.9188 $\pm$ 1.437	0.3059 $\pm$ 0.1966	0.5029 $\pm$ 0.5053	1.027 $\pm$ 1.684	0.1595 $\pm$ 0.1468
11	0.5129 $\pm$ 0.4173	0.1632 $\pm$ 0.02506	0.3577 $\pm$ 0.1011	0.4300 $\pm$ 0.4148	0.1091 $\pm$ 0.05364
15	0.2264 $\pm$ 0.08451	0.1498 $\pm$ 0.04349	0.2403 $\pm$ 0.04987	0.2348 $\pm$ 0.06989	0.08235 $\pm$ 0.01900
17	0.2471 $\pm$ 0.06142	0.1253 $\pm$ 0.01755	0.2077 $\pm$ 0.06268	0.2361 $\pm$ 0.03012	0.1006 $\pm$ 0.02757
21	0.1248 $\pm$ 0.05742	0.1143 $\pm$ 0.03446	0.1553 $\pm$ 0.02518	0.1199 $\pm$ 0.03754	0.06480 $\pm$ 0.01943
28	0.1010 $\pm$ 0.005138	0.06804 $\pm$ 0.01321	0.09776 $\pm$ 0.02527	0.1280 $\pm$ 0.05441	0.06160 $\pm$ 0.009058



One-compartment models

As confirmed by the concentrations measured in water (Tables S4 and S5), we consider that concentration in water (C_w) is constant during the experiment. As a consequence, Eqs. (1) and (2) can be analytically solved:

$$C_i(t) = \begin{cases} \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} + \left(C_{0,i} - \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S2) \\ \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \times e^{-k_{e,i} \times (t - t_c)} + \left(C_{0,i} - \frac{k_{u,i} \times C_w}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S3) \end{cases}$$

where $C_{0,i}$ is the gammarids' initial internal concentration in the organ i , at the beginning of the experiment.

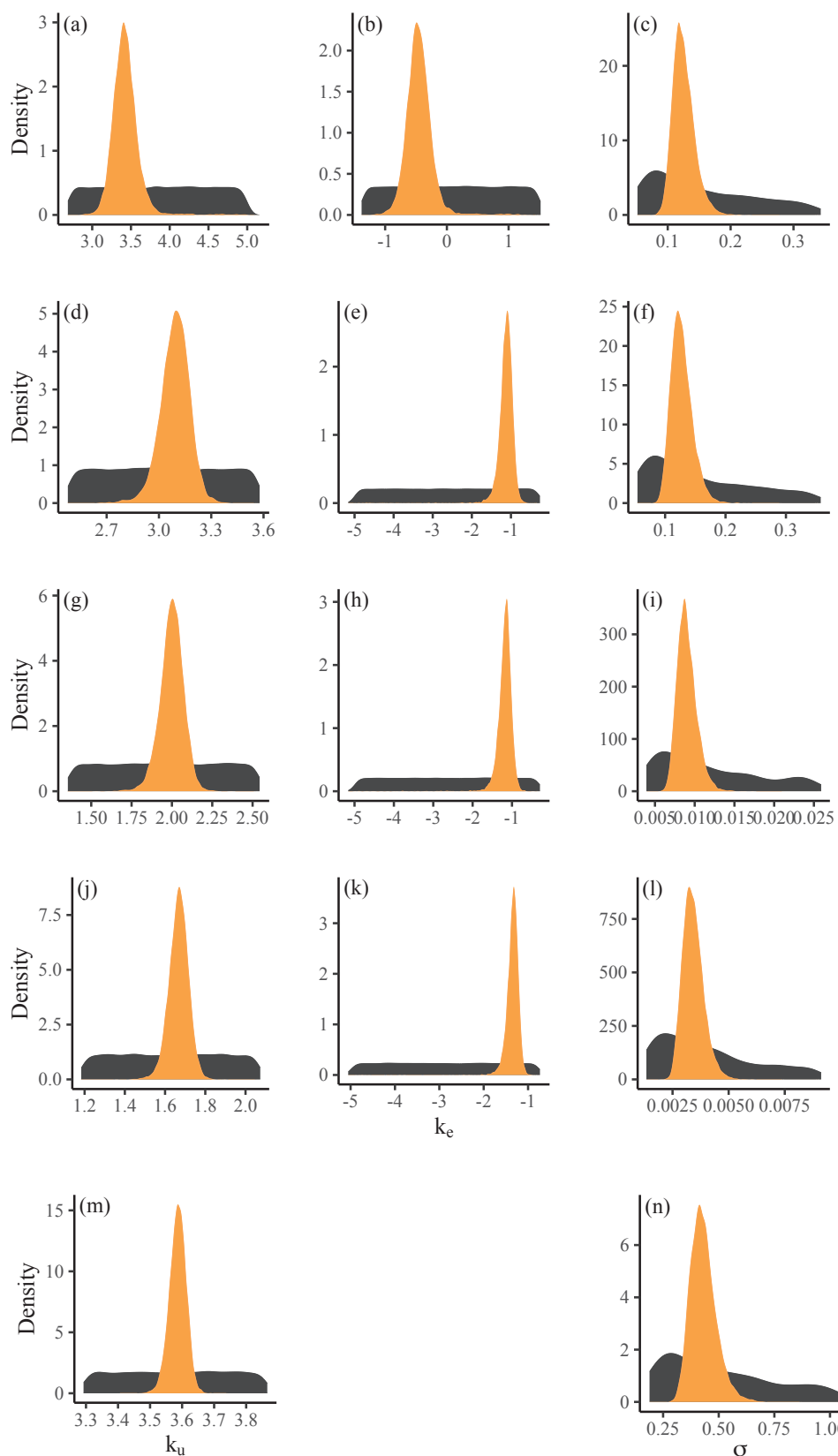


Figure S3. Representation of prior (dark grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Cd data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m) and n) for gills.

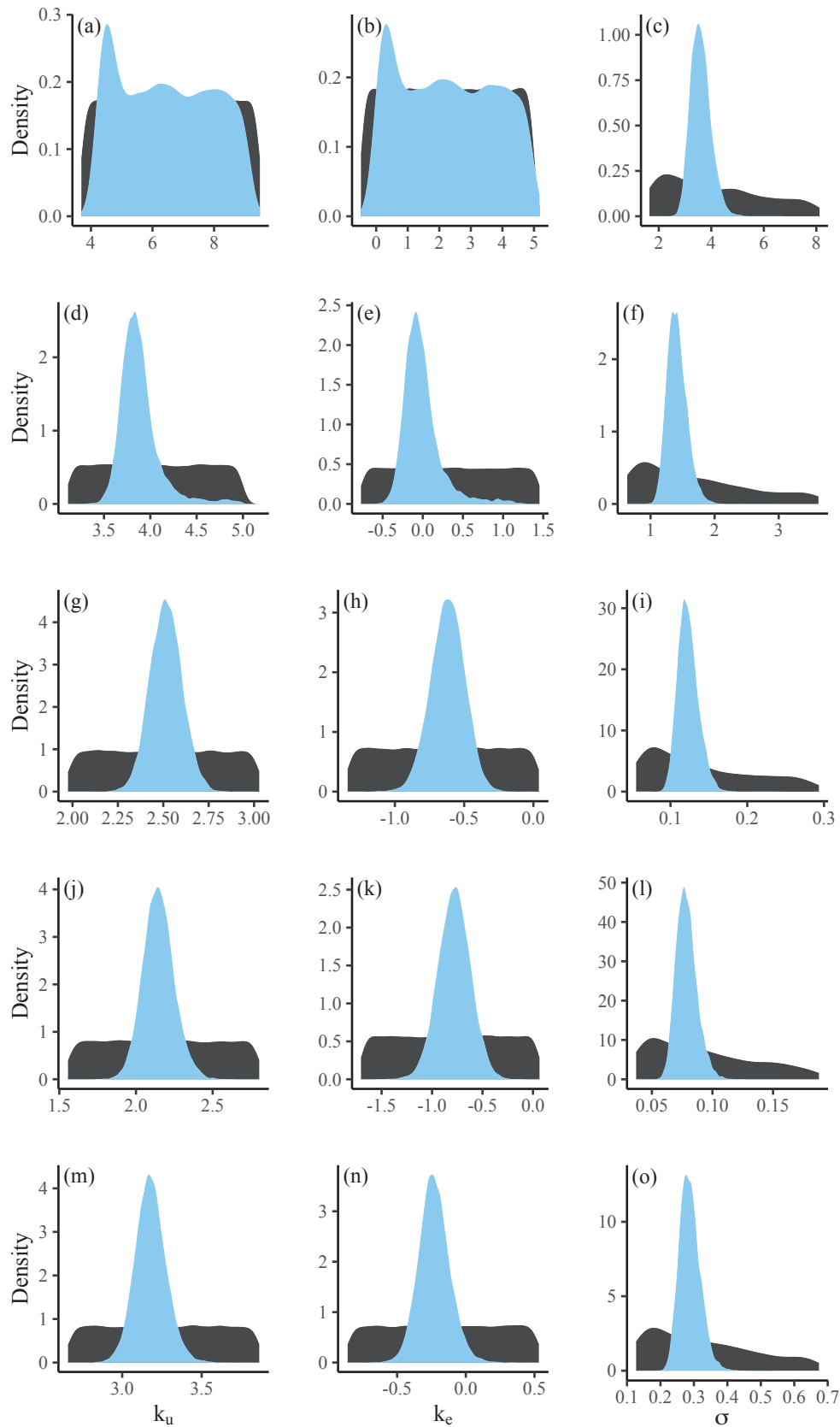


Figure S4. Representation of prior (dark grey) and posterior (blue) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Zn data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m), n) and o) for gills.

Table S6. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i}/k_{e,i}$, $k_{u,i}/\sigma_i$ and $k_{e,i}/\sigma_i$ ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) estimated by one compartment models for 52.1 ± 27.3 ng Cd.L⁻¹ or 416 ± 264 ng Zn.L⁻¹.

	i = 1 - Intestines		i = 2 - Caeca		i = 3 - Cephalons		i = 4 - Remaining tissues		i = 5 - Gills	
	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn
$k_{u,i}/k_{e,i}$	0.985	0.991	0.814	0.989	0.842	0.930	0.833	0.930	/	0.947
$k_{u,i}/\sigma_i$	0.160	0.007	- 0.053	0.145	- 0.035	0.006	- 0.071	0.017	- 0.026	0.036
$k_{e,i}/\sigma_i$	0.164	0.008	- 0.017	0.147	- 0.015	0.017	- 0.059	0.029	/	0.029

Références

- Adams, W.J., Blust, R., Borgmann, U., Brix, K. V., DeForest, D.K., Green, A.S., Meyer, J.S., McGeer, J.C., Paquin, P.R., Rainbow, P.S., Wood, C.M., 2010. Utility of Tissue Residues for Predicting Effects of Metals on Aquatic Organisms. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 75-98. <https://doi.org/10.1002/ieam.108>
- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: A review. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 174, 439-452. <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0438-0>
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., 1994. Abiotic and Seasonal Factors Influencing Trace Metal Levels (Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn) in the Freshwater Amphipod *Gammarus fasciatus* in Two Fluvial Lakes of the St. Lawrence River. <https://doi.org/10.1139/f94-203>
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., Déry, J.C., 1996. Total metal burdens in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus*: Contribution of various body parts and influence of gut contents. *Freshw. Biol.* 35, 363-373. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.00493.x>
- Besse, J.P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., Geffard, O., 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. *Water Res.* 47, 650-660. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024>
- Besse, J.P., Geffard, O., Coquery, M., 2012. Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 36, 113-127. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004>
- Conti, E., Dattilo, S., Costa, G., Puglisi, C., 2016. Bioaccumulation of trace elements in the sandhopper *Talitrus saltator* (Montagu) from the Ionian sandy coasts of Sicily. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 129, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.008>
- Cresswell, T., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A., Corry, M., Simpson, S.L., 2017. Metal Transfer among Organs Following Short- and Long-Term Exposures Using Autoradiography: Cadmium Bioaccumulation by the Freshwater Prawn *Macrobrachium australiense*. *Environ. Sci. Technol.* 51, 4054-4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06471>
- Cresswell, T., Simpson, S.L., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A.P., 2015. Bioaccumulation kinetics and organ distribution of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Macrobrachium australiense*. *Environ. Sci. Technol.* 49, 1182-1189. <https://doi.org/10.1021/es505254w>
- Cresswell, T., Simpson, S.L., Smith, R.E.W., Nuggeoda, D., Mazumder, D., Twining, J., 2014a. Bioaccumulation and retention kinetics of cadmium in the freshwater decapod *Macrobrachium australiense*. *Aquat. Toxicol.* 148, 174-183. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.01.006>
- Cresswell, T., Smith, R.E.W., Simpson, S.L., 2014b. Challenges in understanding the sources of bioaccumulated metals in biota inhabiting turbid river systems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 1960-1970. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2086-y>

- Dayras, P., Charmantier, G., Chaumot, A., Vigneron, A., Coquery, M., Quéau, H., Artells, E., Lignot, J.H., Geffard, O., Issartel, J., 2017. Osmoregulatory responses to cadmium in reference and historically metal contaminated *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) populations. *Chemosphere* 180, 412-422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.016>
- Dixit, S.S., Witcomb, D., 1983. Heavy metal burden in water, substrate, and macroinvertebrate body tissue of a polluted river Irwell (England). *Environ. Pollution. Ser. B, Chem. Phys.* 6, 161-172. [https://doi.org/10.1016/0143-148X\(83\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0143-148X(83)90031-9)
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, OJ L327, 22.12.2000.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 86, 413-425. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.002>
- Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Sertić Perić, M., Matonićkin Kepčija, R., Gulin, V., Velki, M., Ečimović, S., Hackenberger, B.K., Erk, M., 2016. Investigation of the soluble metals in tissue as biological response pattern to environmental pollutants (*Gammarus fossarum* example). *Chemosphere* 154, 300-309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.058>
- Frias-Espéricueta, M.G., Bautista-Covarrubias, J.C., Osuna-Martínez, C.C., Delgado-Alvarez, C., Bojórquez, C., Aguilar-Juárez, M., Roos-Muñoz, S., Osuna-López, I., Páez-Osuna, F., 2022. Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. *Aquat. Toxicol.* 242. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106024>
- Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccio, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals' organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. *Environ. Int.* 156, 106625. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>
- Grech, A., Brochot, C., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Bois, F.Y., Beaudouin, R., 2017. Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals. *Sci. Total Environ.* 578, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.146>
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F.Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Beaudouin, R., 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Sci. Total Environ.* 651, 516-531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.163>
- Henry, Y., Piscart, C., Charles, S., Colinet, H., 2017. Combined effect of temperature and ammonia on molecular response and survival of the freshwater crustacean *Gammarus pulex*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 137, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.011>
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010a. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere* 81, 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>

- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010b. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere* 81, 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010c. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere* 81, 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>
- Jakob, L., Bedulina, D.S., Axenov-gribanov, D. V, Ginzburg, M., Shatilina, Z.M., Lubyaga, Y.A., Madyarova, E. V, Gurkov, A.N., Timofeyev, M.A., Pörtlner, H., Sartoris, F.J., Altenburger, R., Luckenbach, T., 2017. Uptake Kinetics and Subcellular Compartmentalization Explain Lethal but Not Sublethal Effects of Cadmium in Two Closely Related Amphipod Species. *Environ. Sci. Technol.* 51, 7208-7218. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06613>
- Ju, Y.-R., Chen, W.-Y., Singh, S., Liao, C.-M., 2011. Trade-offs between elimination and detoxification in rainbow trout and common bivalve molluscs exposed to metal stressors. *Chemosphere* 85, 1048-1056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.033>
- Júdová, J., 2006. Crustacea and heavy metal accumulation. *Oecologia Mont.* 15, 29-37.
- Kadiene, E.U., Meng, P., Hwang, J., Souissi, S., 2019. Acute and chronic toxicity of cadmium on the copepod *Pseudodiaptomus annandalei*: A life history traits approach. *Chemosphere* 233, 396-404. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.220>
- Kunz, P.Y., Kienle, C., Gerhardt, A., 2010. *Gammarus* spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests, *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1
- Lebrun, J.D., Geffard, O., Urien, N., François, A., Uher, E., Fechner, L.C., 2015. Seasonal variability and inter-species comparison of metal bioaccumulation in caged gammarids under urban diffuse contamination gradient: Implications for biomonitoring investigations. *Sci. Total Environ.* 511, 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.078>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Fechner, L.C., 2017. Behavioural and biochemical responses to metals tested alone or in mixture (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) in *Gammarus fossarum*: From a multi-biomarker approach to modelling metal mixture toxicity. *Aquat. Toxicol.* 193, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.018>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Tusseau-vuillemin, M., Gourlay-francé, C., 2014. Essential metal contents in indigenous gammarids related to exposure levels at the river basin scale: Metal-dependent models of bioaccumulation and geochemical correlations. *Sci. Total Environ.* 466-467, 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.003>
- McDonald, S., Cresswell, T., Hassell, K., 2020. Bioaccumulation kinetics of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Paratya australiensis* following multiple pulse exposures. *Sci. Total Environ.* 720, 137609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137609>

- Mijošek, T., Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Ivanković, D., Krasnići, N., Redžović, Z., Veseli, M., Gottstein, S., Lajtner, J., Sertić Perić, M., Matonićkin Kepčija, R., Erk, M., 2020. Thallium accumulation in different organisms from karst and lowland rivers of Croatia under wastewater impact. *Environ. Chem.* 17, 201-212.
- Nassiri, Y., Rainbow, P.S., Smith, B.D., Nassiri, Y., Amiard-Triquet, C., Rainglet, F., 2000. Trace-metal detoxification in the ventral caeca of *Orchestia gammarellus* (Crustacea: Amphipoda). *Mar. Biol.* 136, 477-484. <https://doi.org/10.1007/s002270050707>
- Nunez-Nogueira, G., Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2006. Subcellular distribution of zinc and cadmium in the hepatopancreas and gills of the decapod crustacean *Penaeus indicus*. *Mar. Biol.* 150, 197-211. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0350-0>
- Nunez-Nogueira, G., Rainbow, P.S., 2005. Kinetics of zinc uptake from solution, accumulation and excretion by the decapod crustacean *Penaeus indicus*. *Mar. Biol.* 147, 93-103. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1542-0>
- O'Callaghan, I., Harrison, S., Fitzpatrick, D., Sullivan, T., 2019. The freshwater isopod *Asellus aquaticus* as a model biomonitor of environmental pollution: A review. *Chemosphere* 235, 498-509. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.217>
- Plummer, M., 2003. JAGS : A Program for Analysis of Bayesian Graphical Models Using Gibbs Sampling JAGS : Just Another Gibbs Sampler, in: 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing. Vienne, Austria, p. 8.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, in: R Foundation for Statistical Computing. Vienne, Austria.
- Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environ. Pollut.* 120, 497-507. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00238-5)
- Rainbow, P.S., Luoma, S.N., 2011. Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates-Modelling zinc in crustaceans. *Aquat. Toxicol.* 105, 455-465. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.08.001>
- Ramiro Pastorinho, M., Telfer, T.C., Soares, A.M.V.M., 2009. Amphipod susceptibility to metals: Cautionary tales. *Chemosphere* 75, 1423-1428. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.003>
- Ren, X., Wang, X., Liu, P., Li, J., 2019. Bioaccumulation and physiological responses in juvenile *Marsupenaeus japonicus* exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 214. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105255>
- Rocha, T.L., Gomes, T., Pinheiro, J.P., Sousa, V.S., Nunes, L.M., Teixeira, M.R., Bebianno, M.J., 2015. Toxicokinetics and tissue distribution of cadmium-based Quantum Dots in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environ. Pollut.* 204, 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.05.008>
- Schaller, J., Dharamshi, J., Dudel, E.G., 2011. Enhanced metal and metalloid concentrations in the gut system comparing to remaining tissues of *Gammarus pulex* L. *Chemosphere* 83, 627-631. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.063>

- Shuhaimi-Othman, M., Pascoe, D., 2007. Bioconcentration and depuration of copper, cadmium, and zinc mixtures by the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.03.003>
- Soegianto, A., Winarni, D., Handayani, U.S., Hartati, 2013. Bioaccumulation, elimination, and toxic effect of cadmium on structure of gills and hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium sintangense* (De Man, 1898). *Water. Air. Soil Pollut.* 224. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1575-4>
- Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Quéau, H., Coquery, M., Chaumot, A., Geffard, O., 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: Field experimentation at a large spatial scale (France). *Water Res.* 95, 330-339. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023>
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Immel, F., Wagner, P., Usseglio-Polatera, P., 2012. Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Environ. Pollut.* 160, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.09.002>
- Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., Lanno, R.P., Van Straalen, N.M., Peijnenburg, W.J.G.M., 2004. Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4705-4712. <https://doi.org/10.1021/es040354g>
- Wang, W.X., Rainbow, P.S., 2008. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 148, 315-323. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.003>
- Weeks, J.M., Rainbow, P.S., 1991. The uptake and accumulation of zinc and copper from solution by two species of talitrid amphipods (crustacea). *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 71, 811-826. <https://doi.org/10.1017/S0025315400053479>
- White, S., Rainbow, P., 1984. Regulation of zinc concentration by *Palaemon elegans* (Crustacea: Decapoda): zinc flux and effects of temperature, zinc concentration and moulting. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 16, 135-147. <https://doi.org/10.3354/meps016135>
- Xu, Q., Pascoe, D., 1993. The bioconcentration of zinc by *Gammarus pulex* (L.) and the application of a kinetic model to determine bioconcentration factors. *Water Res.* 27, 1683-1688. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90132-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90132-2)
- Zhang, H., Reynolds, M., 2019. Cadmium exposure in living organisms : A short review. *Sci. Total Environ.* 678, 761-767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>

Conclusion de l'article

Cette étude fournit la preuve de concept que l'organotropisme des métaux dans une minuscule espèce invertébrée, *G. fossarum*, peut être étudié à des concentrations pertinentes pour l'environnement. Nos résultats démontrent que les organes des gammares régulent très différemment le Cd et le Zn. En effet, alors que le Zn est rapidement accumulé et dépuré, le Cd est lui retenu de manière plus persistante, en particulier dans les branchies et les caeca. Ces différences de mécanisme entre les deux métaux peuvent s'expliquer par le caractère essentiel (Zn) ou non essentiel (Cd) des deux métaux étudiés ici. Ces résultats de bioaccumulation spécifique au métal sont cohérents avec d'autres études sur les crustacés d'eau douce réalisées sur organismes entiers.

De plus, nous avons montré que la bioaccumulation de ces deux métaux est fortement organe-spécifique chez *G. fossarum*, puisque leur distribution et leur gestion sont très contrastées. Les principaux résultats sont que les caeca sont des organes centraux dans l'accumulation, la détoxification et la dépuration du Cd et du Zn. Les branchies jouent également un rôle majeur dans l'accumulation du Cd mais semblent très peu, voire ne pas du tout, l'éliminer et/ou le redistribuer vers les autres organes ; les branchies seraient plutôt un lieu de stockage du Cd tandis qu'elles jouent un rôle mineur dans les processus ADME du Zn.

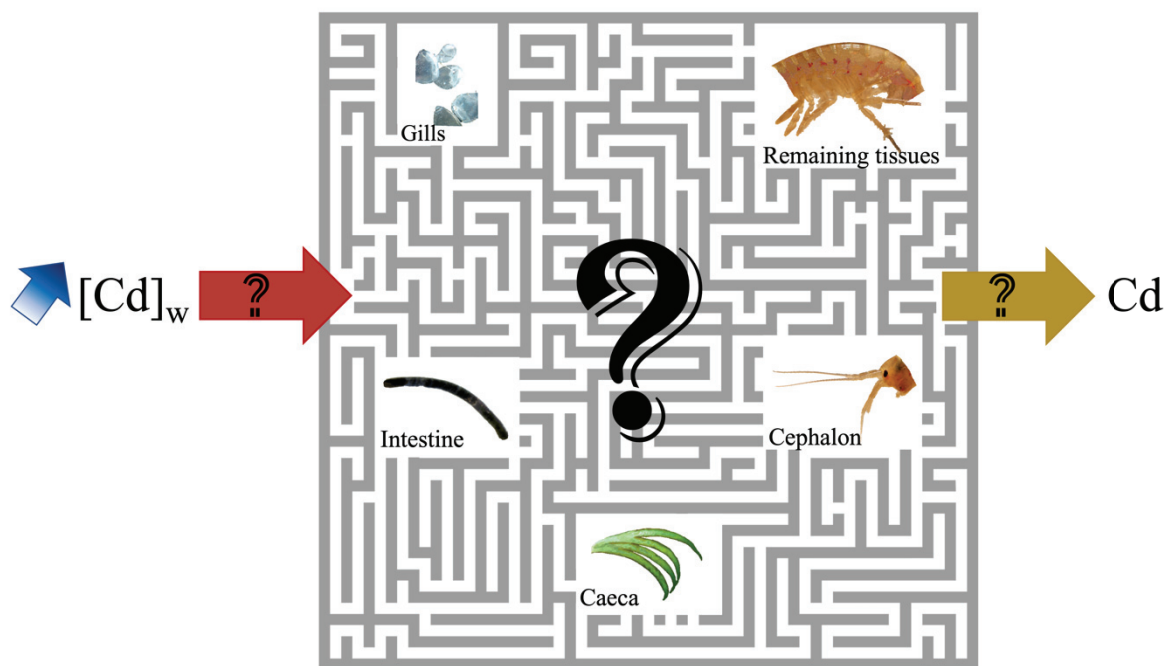
II. Influence de la concentration d'exposition de Cd sur son organotropisme et son devenir dans le gammarus

Article n°3

Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lopes, C., 2023.

Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxicokinetic and fate in *Gammarus fossarum*. Environ. Int. 171. DOI: 10.1016/j.envint.2022.107673

Résumé illustré



Faits marquants

- Les k_u de tous les organes (sauf l'intestin) dépendent de la concentration de l'exposition.
- Les k_e de tous les organes ne dépendent pas de la concentration de l'exposition.
- La régulation *in vivo* du Cd reste la même selon la concentration d'exposition.
- L'intestin et les branchies sont les deux voies d'absorption du Cd.
- Seul l'intestin élimine le Cd dans l'eau, tandis que les branchies jouent un rôle clé dans son stockage.

Résumé de l'article, en français

Il existe peu d'informations concernant la relation entre les concentrations d'exposition externe des métaux et leur biodistribution dans les organes des invertébrés. Les objectifs de cette étude sont de décrire l'organotropisme, la toxicocinétique et le devenir du cadmium (Cd) dans les différents organes de gammarus exposés à un radio-isotope dissous, le ^{109}Cd , et d'étudier comment ces

processus dépendent (ou non) de la concentration d'exposition. Pour cela, des gammarus ont été exposés pendant sept jours à l'une des trois concentrations environnementales de Cd (i.e. 4, 52 et 350 ng.L⁻¹) avant d'être placés en condition de dépuración (eau non contaminée). À plusieurs moments d'échantillonnage les cæca, le céphalon, les branchies, l'intestin et les tissus restants ont été séparés afin d'analyser la quantité de Cd qu'ils ont accumulés, par spectrométrie gamma. Les capacités et la cinétique d'accumulation de Cd spécifiques à chaque organe ont ainsi pu être décrites. Ensuite, des modèles toxicocinétiques (TK) un-compartiment ont été ajustés simultanément aux données d'accumulation et de dépuración de chaque organe indépendamment les uns des autres, par inférence bayésienne, afin d'estimer les paramètres cinétiques spécifiques d'accumulation et d'élimination de chaque organe. La méthode utilisée pour comparer les sorties entre les trois concentrations est la méthode des modèles emboîtés, permettant d'implémenter et d'ajuster en même temps les données des trois concentrations externes d'un même organe, afin de savoir si les k_u et k_e sont estimés au mieux simultanément pour les trois concentrations externe d'un même organe ou non. Enfin, un modèle TK multi-compartiments a été ajusté simultanément aux données de tous les organes pour décrire la distribution du Cd entre les organes au cours du temps et ce pour chaque concentration. Nos résultats montrent que : i) les taux d'accumulation de tous les organes (à l'exception des intestins) dépendent de la concentration d'exposition, mais pas leurs taux d'élimination ; ii) la gestion *in vivo* du Cd reste qualitativement la même entre les trois concentrations d'exposition étudiées, donnant des sorties de modèles TK multi-compartiments le plus parcimonieux qui possèdent le même schéma d'échanges inter-organes pour les trois concentrations testées indépendamment ; et iii) certains organes ont un rôle clé dans la gestion du Cd : régulation pour le caeca, stockage pour les branchies et voie d'entrée principale pour l'intestin.

Mots-clés

Amphipodes

Inférence bayésienne

Cadmium

Mercure

Organotropisme

Modèle toxicocinétique



Contents lists available at ScienceDirect

Environment International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envint



Full length article

Influence of the exposure concentration of dissolved cadmium on its organotropism, toxicokinetic and fate in *Gammarus fossarum*

Ophélie Gestin^{a,b,c}, Thomas Lacoue-Labarthe^b, Nicolas Delorme^c, Laura Garnero^c, Olivier Geffard^c, Christelle Lopes^{a,*}

^a Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive UMR 5558, 69622 Villeurbanne, France

^b Littoral Environnement et Sociétés (LIENSs), UMR 7266 CNRS - Université de la Rochelle, 2, rue Olympe de Gouges, 17000 La Rochelle, France

^c INRAE, RiverLy, Ecotoxicology Laboratory, 5 Avenue de la Doua, CS20244, 69625 Villeurbanne Cedex, France



ARTICLE INFO

Handling Editor: Hefa Cheng

Keywords:

Concentration-dependencies
Amphipods
Metal
One-compartment
Multi-compartment
Bayesian Inference

ABSTRACT

Information on the relationship between the exposure concentrations of metals and their biodistribution among organs remained scarce in invertebrates. The objective of this study was to investigate the effects of Cd concentration on the organotropism, toxicokinetic and fate of this metal in different organs of gammarids exposed to dissolved radioisotope ¹⁰⁹Cd. Gammarids male were exposed for 7 days to three environmental Cd concentrations (i.e. 4, 52 and 350 ng.L⁻¹) before being placed in depuration conditions (i.e. uncontaminated water). At several sampling times, Cd concentrations were determined by ¹⁰⁹Cd γ-counting in water, caeca, cephalon, gills, intestine and remaining tissues. Bioconcentration Factors (BCF) and Cd relative proportions in organs were calculated to assess the exposure concentration effect on the bioaccumulation capacities. The dependence of the organ-specific kinetic parameters to Cd water concentrations were estimated by fitting nested one-compartment toxicokinetic (TK) models to both the accumulation and depuration data, by Bayesian inference. Then, for each Cd concentrations, the metal exchanges among organs over time were formalized by a multi-compartment TK model fitted to all organ data simultaneously. Our results highlighted that, at the end of the exposure phase, BCF and Cd relative proportions, in each organ, were not significantly modulated by water concentrations. Kinetically, Cd accumulation rates in all organs (except intestines) were depended on the exposure concentration, but not the elimination rates. The *in vivo* management of Cd (i.e. metal exchanges among organs) remained qualitatively unchanged according to exposure concentration. All these results also highlighted key role of that organs in the management of Cd: bioconcentration by caeca, storage by gills and main entry pathway by intestine. This study shows the interest of implementing TK approaches to test the effect of environmental factors on bioaccumulation, inter-organ exchanges and fate of contaminants in invertebrate body to enhance the understanding of the toxicity risk.

1. Introduction

The quality of aquatic environments, classified according to different criteria by the European Water Framework Directive (WFD), is determined by combining data characterizing the physical-chemical, biological and contamination status of freshwater systems (EC, 2000). To assess the contamination of freshwater, including metals, sentinel species are classically used in biomonitoring programs (Besse et al., 2012; Lebrun et al., 2015). *Gammarus fossarum* is a detritivore crustacean widely distributed in European freshwaters that is easily sampled and

manipulated for *in situ* and *ex situ* experiments, making it a sentinel species (Alonso et al., 2010; Dedouge-Geffard et al., 2009; Gismondi et al., 2017). Indeed, a biomonitoring approach based on caged *G. fossarum* was recently developed (Alric et al., 2019; Ciliberti et al., 2017). However, to correctly interpret the recorded chemical concentrations and their potential effects, knowledge on the processes governing bioaccumulation, biodistribution and influx and efflux rates is needed (Allen and Weihrauch, 2021; Wang and Rainbow, 2008).

Cadmium (Cd) is a non-essential metal classified by the WFD as a substance of priority concern for organisms and particularly those living

* Corresponding author at: Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive UMR 5558, Université Lyon 1 (CNRS), 69622 Villeurbanne, France.

E-mail addresses: ophelia.gestin@etu.univ-lyon1.fr (O. Gestin), tlacouel@univ-lr.fr (T. Lacoue-Labarthe), nicolas.delorme@inrae.fr (N. Delorme), laura.garnero@inrae.fr (L. Garnero), olivier.geffard@inrae.fr (O. Geffard), christelle.lopes@univ-lyon1.fr (C. Lopes).

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107673>

Received 26 July 2022; Received in revised form 3 November 2022; Accepted 29 November 2022

Available online 5 December 2022

0160-4120/© 2022 Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

in aquatic environments (EC, 2000; Felten et al., 2008; Issartel et al., 2010; Lebrun et al., 2017). Cd accumulates extensively in aquatic organisms, including gammarids that have been described as net accumulators of this metal (Dedourge-Geffard et al., 2009; Rainbow and Luoma, 2011). Moreover, Cd and its presence in freshwater ecosystems, even at very low concentrations, can lead to toxic effect at different integration levels, ranging from DNA damage to decreased population fitness; according to its bioavailability, bioaccumulation and the organism detoxication mechanisms it induced (Felten et al., 2008; Lacaze et al., 2011; Péry et al., 2008; Zhang and Reynolds, 2019). In *Gammarus pulex*, it was shown that the LC50 of Cd is $82.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ at 96 h of exposure and $10.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ at 264 h (Felten et al., 2008). This metal can be found in very high concentrations in aquatic environments near mine sites, up to several tens of micrograms per liter, but it is more often found at concentrations of the order of tens or hundreds of nanograms per liter (Cresswell et al., 2014; Lebrun et al., 2017; Urien et al., 2016). The WFD has established environmental quality standards (EQS) for Cd, including an annual mean EQS value for inland waters of $0.08\text{--}0.25 \mu\text{g.L}^{-1}$ and a maximum allowable concentration of $0.45\text{--}1.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (EC, 2000).

In order to fulfill metabolic needs, essential metals are known to be taken up via dedicated pathways through the membranes of gills and intestinal epithelia, which may unfortunately also promote the bioaccumulation of non-essential elements (Ahearn et al., 1999; Allen and Weihrauch, 2021; Rainbow, 1997). Thus, different transmembrane pathways used for essential elements and based on facilitated diffusion or active ion pumping can be used by the non-essential elements (Rainbow, 1997; Zhang and Reynolds, 2019). For instance, Cd uses the calcium channel pathway to accumulate in the cytosol of cells, as demonstrated in *Gammarus pulex* (Birceanu et al., 2008; Ortega et al., 2017; Ramiro Pastorinho et al., 2009), because the radius of Cd^{2+} is very close to that of Ca^{2+} . However, the processes of metal accumulation and depuration are not constant but can be influenced by biotic and abiotic factors (Pourang et al., 2004; Zhang and Reynolds, 2019). As already described in gammarids and other crustaceans at the whole-organism level, the efficiency of bioconcentration is impacted by: i) ionic competition, notably through variation of the medium composition (e.g. pH, Ca^{2+} concentrations; Pellet et al., 2009; Wright, 1980); ii) the presence of other contaminants, which may act synergistically or antagonistically for accumulation (Van Ginneken et al., 2015; Vellinger et al., 2012c); and iii) the concentration of the metal itself, via saturation phenomena of its uptake (Frías-Espéricueta et al., 2022; Scheibener et al., 2021).

Concentration dependence is a recurring issue in the ecotoxicological literature, notably in studying the influence of the exposure concentration of metal on: i) its capacities to be bioaccumulated by organisms; ii) its subcellular distribution (Yen Le et al., 2021); or iii) its toxicity, as shown in dose-response studies (Péry et al., 2008; Ritz, 2010). Many studies with freshwater amphipods, focused on the individual level, showed that exposure concentration can influence the bioaccumulation capacities by affecting the uptake and elimination mechanisms. A decrease in the BioConcentration Factors (BCF) was regularly described with increasing dissolved Cd concentration, whether in the environment or in laboratory conditions (McGeer et al., 2003; Sarabia et al., 2006; Shuhaimi-Othman and Pascoe, 2007; Stephenson and Turner, 1993; Vellinger et al., 2012c, 2012b). Thus, Vellinger et al. (2012b) exposed *Gammarus pulex* to high Cd concentrations (i.e. between 2 and $872 \mu\text{g.L}^{-1}$) and observed a 50 % decrease in BCF between 2 and $60 \mu\text{g.L}^{-1}$, hypothesizing that it could be the consequence of saturation of chloride cells channels in gills.

The exposure to varying metal concentrations could also affect the bioaccumulation at the organ level (Amyot et al., 1996; Pourang et al., 2004), as previously shown for gill binding sites saturated with increasing Cd concentrations of $250\text{--}5000 \text{ nmol.L}^{-1}$ in *Oncorhynchus mykiss* (Birceanu et al., 2008). It is thus quite plausible that organs may have different bioaccumulation capacities and/or kinetic parameters (i.e. uptake and elimination rates) depending on the exposure

concentration (Vijver et al., 2004; Wang and Rainbow, 2008). Thus, this possible changes could be linked to the element-organ-specific tropism related to the respective role of tissues (including the role of organs in uptake, detoxification, storage, or transport of metals) in metal metabolism (i.e. organotropism) (Amyot et al., 1996; Nunez-Nogueira et al., 2006; van Hattum et al., 1989).

Thus, the objective of this work was to determine how the organotropism, toxico-kinetic and fate of dissolved Cd in the amphipod *G. fossarum* are affected by the water concentration at environmentally relevant levels. During phases of exposure to three concentrations of dissolved Cd (i.e. 4, 52 and 350 ng.L^{-1} stable equivalent) and depuration, ^{109}Cd activities was followed in water, caeca, cephalon, intestine, gills and remaining tissues. The 3 obtained datasets per concentration were used to: i) compare bioconcentration capacities between organs according to the concentrations of exposure, by calculating the BCFs and the Cd distribution at given time points; ii) study the influence of exposure concentration on accumulation and depuration kinetics of each organ by fitting nested one-compartment TK models simultaneously over the three concentrations of exposure; and iii) qualitatively describe and compare Cd regulation and its fate in gammarids according to the exposure concentration by fitting multi-compartment TK models to each concentration dataset separately.

2. Material and methods

2.1. Experimental conditions

Only males gammarids were used to limit biological variability related to gametogenesis, potential metal accumulation in female oocytes and/or potential metal elimination by egg-laying. Sampled gammarids ($20.5 \pm 3.82 \text{ mg}$ wet weight; adults *Gammarus fossarum*) from a former watercress plant of Saint-Maurice-de-Rémens, France (Gestin et al., 2021) were transferred to LIENSs (La Rochelle, France). Evian® water (see characteristics in Table S1) at $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$ was used to maintain gammarids, with a dark:light cycle of 8:16 h, under constant aeration, fed *ad libitum* with alder leaves (*Alnus glutinosa*) and kept for a 7-day acclimation period before experiments.

The gammarids were exposed to three different concentrations of dissolved cadmium radiolabeled with the corresponding radiotracer ^{109}Cd . From Eckert & Ziegler Isotope Products Inc., Valencia, USA, the ^{109}Cd solution carrier-free was received (CdCl_2 ; 0.1 M HCl). This stock solution was then diluted allowing to spike few μL of radiotracer solution to reach 15 to 20 Bq.mL^{-1} in the experimental beakers. The lowest exposure concentration was obtained by adding ^{109}Cd radiotracer to the fixed concentration of 20 Bq.mL^{-1} in the beakers, corresponding to a stable Cd concentration of 4 ng.L^{-1} . Then, two other environmental concentrations were tested by adding to a ^{109}Cd concentration (i.e. 15 Bq.mL^{-1}) a stable CdCl_2 solution ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, >98 %; Merck®; stock solution at 85 mg.L^{-1} , 0.5 M HCl) in order to reach a final concentration of 52 (see Gestin et al., 2022) and 350 ng.L^{-1} of Cd as equivalent stable, respectively. Indeed, it is conventionally accepted that radioactive isotopes of metals have identical characteristics and bioaccumulation behaviors for their stable equivalents (Warnau and Bustamante, 2007). The change of pH due to addition of stable Cd and/or ^{109}Cd diluted in acid solution was considered as negligible.

During the whole experiment, the gammarids were placed in hand-made baskets allowing to keep separated 8 individuals per experimental beaker, to avoid cannibalism.

During the first phase of the experiment (accumulation phase), 600 gammarids (i.e. 280, 160, and 160 gammarids at 4, 52 and 350 ng.L^{-1} , respectively) were placed in 75 beakers (i.e. 35, 20, and 20 beakers at 4, 52 and 350 ng.L^{-1} , respectively) filled with 200 mL of contaminated Evian® water and were exposed to the three concentrations of dissolved ^{109}Cd /stable Cd during 7 days. In order to keep the exposure concentration as constant as possible, dissolved ^{109}Cd activities were monitored twice daily (Tables S2a, b and c) and metal loss due to ad- and



absorption were compensated. During the 7 days of accumulation phase, the gammarids were not fed to avoid Cd bioaccumulation through trophic pathway.

At the end of the accumulation phase, the gammarids were individually transferred into clean beakers filled with Evian® water that we have not contaminated (i.e. without added ^{109}Cd or stable Cd) and fed *ad libitum*. This depuration phase lasted 10 days for the lowest exposure concentration (4 ng.L^{-1}) and 21 days for the two other exposure concentrations (52 and 350 ng.L^{-1}). Every day, water samples were radio-counted to check possible ^{109}Cd desorption or release from organisms. During the two phases of the experiments, the media (i.e. water at $12 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$) was aerated and renewed at least every-two days. The mortality was monitored daily.

During both the accumulation and depuration phases, 20 gammarids per concentration were regularly randomly collected from experimental beakers and weighted at each sampling time. Organisms were then dissected to sample organs of interest: caeca (equivalent to hepatopancreas), cephalons, gills, intestines and remaining tissues; the weights being estimated according to the method used in (Gestin et al., 2021) (Tables S3a, b and c). In order to reach ^{109}Cd activities above the detection threshold per sample, five separated organs were pooled in each replicates ($n = 4$) per sampling time and per exposure concentration. The pooled organs were then placed in a 1 mL plastic box with 500 μL of HCl (3,4%) fostering an homogeneous repartition of ^{109}Cd in accordance with the standard organs geometry (see below). The samples were then stored in the lab at ambient temperature before gamma-counting.

The ^{109}Cd activities in all samples were counted using two NaI detectors coupled to InterWinner 7.0 software (ITECH Instruments®). A calibration with inhouse liquid standards appropriate to the geometry of samples were made, i.e. a 10 mL water geometry and a 500 μL organ samples. The counting times ranged from 10 min to 48 h in order to obtain a counting uncertainty of less than 5 %. The measured activities were expressed in Bq and were then converted in μg of total Cd stable equivalent per g or mL of sample. All along the experiment, the rearing and lab materials were regularly decontaminated using 1/10 diluted certified AR for analysis HCl solution (Hydrochloric acid S.G. 32 %; Fischer Scientific®), 1/10 diluted detergent (Decon® 90 solution) and distilled water.

2.2. Data analysis

The Cd concentrations in organs of gammarids exposed to 52 ng.L^{-1} were already published in a previous study comparing organotropism of Cd and Zn (Gestin et al., 2022). They were re-interpreted here in another way to study concentration dependence of organotropism by comparing the results with an exposure of 4 and 350 ng.L^{-1} .

All the analysis were made on the calculated stable equivalent of Cd concentrations in water ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) and in organs ($\mu\text{g.g}^{-1}$), for the three concentrations of exposure.

2.2.1. Bioconcentration factors

For each organ and each exposure concentration, the BCF at day 7 (i.e. end of the accumulation phase) was calculated following the Equation (1):

$$BCF_{i,z} = \frac{C_i(t, C_{w,z})}{C_{w,z}(t)} \quad (1)$$

where $C_i(t, C_{w,z})$ is, for an organism exposed at the external concentration in water $C_{w,z}(t)$ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) ($z = 1..3$), the internal concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i ($i = 1..5$) at time t (here $t = 7$). Indexes i for organs correspond to intestines for $i = 1$, caeca for $i = 2$, cephalons for $i = 3$, remaining tissues for $i = 4$ and gills for $i = 5$. Indexes z for Cd concentrations in water are $z = 1$ for the lowest concentration of 4 ng.L^{-1} , $z = 2$ for the medium tested concentration of 52 ng.L^{-1} and $z = 3$ for 350 ng.L^{-1} .

the highest concentration of 350 ng.L^{-1} .

2.2.2. Nested one-compartment TK models

Nested one-compartment TK models were fitted, using Bayesian inference, to the three data sets of each organ simultaneously (one per concentration) to determine whether uptake and elimination rates of each organ are the same (or not) according to the external Cd concentration ($C_{w,z}$). The originality and strength of this approach of nested models is that it allows to fit simultaneously several datasets by testing different models (each one corresponding to a specific hypothesis on kinetic parameters according to exposure concentration) and thus determine which one induces the best fits on all the available data at the same time. More accurate outputs are thus obtained than when models are fitted one by one and then compared.

Because gammarids being not fed during the accumulation phase, we assumed that Cd uptake results only from the waterborne pathway. Furthermore, the growth of gammarids was considered negligible along the experiment, since no increase or decrease in the weight of gammarids was observed during the experiments (Tables S3).

The nested TK models fitted to each organ datasets can be formalized in a general way as followed:

$$\frac{dC_i(t, C_{w,z})}{dt} = \begin{cases} k_{u,i,z} \times C_{w,z}(t) - k_{e,i,z} \times C_i(t, C_{w,z}) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (a) \\ -k_{e,i,z} \times C_i(t, C_{w,z}) & \text{for } t > t_c \quad (b) \end{cases} \quad (2)$$

where $C_i(t, C_{w,z})$ is the internal concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i ($i = 1..5$) at time t (days) for an organism exposed at the external concentration in water $C_{w,z}(t)$ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) ($z = 1..3$); $k_{u,i,z}$ the accumulation rate from water (day^{-1}) for the organ i , at the external concentration in water $C_{w,z}(t)$ at time t ; $k_{e,i,z}$ the elimination rate (day^{-1}) for the organ i at the concentration $C_{w,z}(t)$, and t_c the duration of the accumulation phase (days). Indexes i for organs correspond to intestines for $i = 1$, caeca for $i = 2$, cephalons for $i = 3$, remaining tissues for $i = 4$ and gills for $i = 5$. Indexes z for Cd concentrations in water are $z = 1$ for the lowest concentration of 4 ng.L^{-1} , $z = 2$ for the medium tested concentration of 52 ng.L^{-1} and $z = 3$ for the highest concentration of 350 ng.L^{-1} .

The Cd concentrations measured in water for each experiment (Tables S2a, b and c) were considered remaining constant during the accumulation phase, implying that Eq. (2) could be analytically solved (SI, Eqs. (S1) to (S12)).

For each organ independently, we considered simultaneously the internal concentrations measured for the 3 exposure concentrations. We then fitted, to each organ datasets, the complete TK model (Eq. (2)) and different derived sub-models, each making a different assumption about the effect of exposure concentration on $k_{u,i,z}$ and/or $k_{e,i,z}$ (Table S4): i) complete model n°1 considers that uptake and elimination rates depend on the exposure concentration in water, meaning that $k_{u,i,1} \neq k_{u,i,2} \neq k_{u,i,3}$ and $k_{e,i,1} \neq k_{e,i,2} \neq k_{e,i,3}$ in Eq. (2); ii) on the contrary, sub-model n°2 considers no effect of the exposure concentration on both uptake and elimination rates, meaning that $k_{u,i,z}$ and $k_{e,i,z}$ are the same whatever the exposure concentration ($C_{w,z}$): $k_{u,i,1} = k_{u,i,2} = k_{u,i,3} = k_{u,i}$ and $k_{e,i,1} = k_{e,i,2} = k_{e,i,3} = k_{e,i}$; iii) sub-model n°3 supposes an effect on the elimination rate but not on the uptake rate, i.e. $k_{u,i,1} = k_{u,i,2} = k_{u,i,3} = k_{u,i}$ and $k_{e,i,1} \neq k_{e,i,2} \neq k_{e,i,3}$; and iv) sub-model n°4 considers an effect on the uptake rate but not on the elimination rate: $k_{u,i,1} \neq k_{u,i,2} \neq k_{u,i,3}$ and $k_{e,i,1} = k_{e,i,2} = k_{e,i,3} = k_{e,i}$. According to what we previously observed about the absence of Cd depuration for the gills (Gestin et al., 2022), two other specific sub-models were tested for gills by fixing the elimination rate for gills to 0 ($k_{e,5,1} = k_{e,5,2} = k_{e,5,3} = 0$): i) sub-model n°5 where the uptake rates for gills depend on the exposure concentration, i.e. $k_{u,5,1} \neq k_{u,5,2} \neq k_{u,5,3}$; and ii) sub-model n°6 where the uptake rates for gills are independent to the exposure concentration, meaning that $k_{u,5,1} = k_{u,5,2} = k_{u,5,3}$. Each model is detailed in SI (Eq. (S1) to (S12)).

Combined to these deterministic parts, as the stochastic part we assumed for each model that the contaminant concentration in an organ

follows a gaussian distribution:

$$C_{obs,i}(t, C_{w,z}) \sim \mathcal{N}(C_i(t, C_{w,z}), \sigma_i) \quad (3)$$

where $C_{obs,i}(t, C_{w,z})$ is the observed concentrations in the organ i ($i = 1..5$) at time t for the exposure concentration in water $C_{w,z}$ for ($z = 1..3$) and $\mathcal{N}$ represents the Normal law with the standard deviation σ_i for the organ i ($i = 1..5$).

The kinetic parameters of each model were estimated by fitting them to each organ datasets using Bayesian inference with R software and JAGS (Plummer, 2003; R Core Team, 2017). There is very little information in the literature for the kinetic parameters of gammarids' organs. We therefore chose non informative priors: a Uniform law on the decimal log scale for the uptake and elimination rates and a Gamma law for uncertainty parameters of the stochastic part (Table 1; see Gestin et al. 2021 for more details).

For each organ, we compared the predictions of all models by using the Deviance Information Criteria (DIC) (Spiegelhalter et al., 2002). The model selected *in fine* to be the one that describes the best the internal concentrations measured into an organ for the 3 exposure concentrations simultaneously is the one with the lowest DIC value. If two models showed similar DIC values, the parsimony principle is applied and the model with the fewest number of parameters is selected.

2.2.3. Multi-compartments TK model

One-compartment TK models thus provide a focused view of the dynamic bioaccumulation capacities of each organ as a function of exposure concentrations, but thus omit possible exchanges among the organs related to their role in metal metabolism (i.e. storage organs, etc.). However, biologically, organs are not disconnected from each other in the organism but are physiologically linked since in gammarids the circulatory system is an open system, implying that they are all physiologically linked to each other, particularly through the circulatory system (Kutlu et al., 2002). The multi-compartment TK model can provide a more complete picture of cadmium fate in gammarids and qualitatively assess the concentration impact on the overall pattern of Cd management, by taking into account the interconnection among organs. Here, we hypothesized that Cd exposure concentration can affect these organ functions and the subsequent fate of Cd into gammarid. We thus formalized Cd exchanges among organs and water with a multi-compartments TK model considering all organs simultaneously for each exposure concentration.

The complete model (Fig. S1) consists of 10 coupled ordinary differential equations (ODE): one for each organ in each phase (i.e. accumulation and depuration phases; see SI for details, Eqs. (S13) to (S22)), that can be generalized as:

$$\begin{cases} \frac{dC_i(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,i,z} \times C_{w,z} + \sum_{j \neq i} k_{ji,z} \times C_j(t, C_{w,z}) - \sum_{j \neq i} k_{ij,z} \times C_i(t, C_{w,z}) - k_{e,i,z} \times C_i(t, C_{w,z}) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (a) \\ \frac{dC_i(t, C_{w,z})}{dt} = \sum_{j \neq i} k_{ji,z} \times C_j(t, C_{w,z}) - \sum_{j \neq i} k_{ij,z} \times C_i(t, C_{w,z}) - k_{e,i,z} \times C_i(t, C_{w,z}) & \text{for } t > t_c \quad (b) \end{cases} \quad (4)$$

Where $k_{ji,z}$ is the passage rate of Cd from organ j ($j = 1..5$, with $j \neq i$) to organ i at the external concentration $C_{w,z}$ in water and $k_{ij,z}$ is the passage rate of Cd from organ i ($i = 1..5$, with $i \neq j$) to organ j at the external concentration $C_{w,z}$ in water.

The most parsimonious multi-compartments TK model for each exposure concentration (i.e. the one that best explains all observed organ concentrations simultaneously with the fewest parameters) was selected using the iterative inference process described in Gestin et al.

(2021). In summary, after successive fitting, the selection of the best multi-compartments TK model was based on several criteria: i) a good fit of model predictions to the data, showing the best compromise between predictive ability and model complexity; ii) a thin posterior distribution of the parameters; and iii) the smallest DIC value (Spiegelhalter et al., 2002). Based on the previous criteria, the finally selected multi-compartments model is the one with the smallest number of parameters that best describes all data simultaneously, while correctly reflecting realistic physiological processes. This procedure was realized for each exposure concentration: we finally obtained a multi-compartments model for $C_{w,1}$ (4 ng.L⁻¹), one for $C_{w,2}$ (52 ng.L⁻¹) and one for $C_{w,3}$ (350 ng.L⁻¹), allowing to compare Cd management according to exposure concentration.

3. Results and discussion

3.1. Experimental conditions

During the accumulation phase, the dissolved Cd concentrations were adjusted twice a day based on ¹⁰⁹Cd activities measured in water, in order to expose gammarids to a concentration as constant as possible. Thus, the time-integrated exposure concentrations were 4 ± 3 ng.L⁻¹, 52 ± 27 ng.L⁻¹ (see Gestin et al., 2022) and 350 ± 306 ng.L⁻¹ of Cd as stable equivalent (Tables S2). The relative variability in Cd concentrations despite regular controls and adjustment revealed a strong adsorption of Cd on the walls of polypropylene beakers and baskets. Indeed, despite a 48-h pre-conditioning of the exposure material, the significant increase in adsorption surface area caused by the presence of the baskets diminished the possibility of stabilizing the dissolved Cd concentration. However, the presence of the baskets was essential for the separation of the organisms to avoid cannibalism.

During the depuration phase, the mean concentrations of Cd measured in water were 0.12 ± 0.11 , 1.1 ± 2.3 and 2.2 ± 8.4 ng.L⁻¹ and were considered negligible compared to their respective exposure concentrations of 4, 52 and 350 ng.L⁻¹ of Cd during the accumulation phase, representing less than 3 % of the Cd concentration of each exposure condition (i.e. 2.76, 2.11 and 0.6 %, respectively). Since the beakers and baskets at the beginning of the depuration phase were ¹⁰⁹Cd-free, this shows that during the depuration phase the gammarids released some of the Cd previously accumulated in the accumulation phase.

The survival rates of gammarids throughout the experiments were 72, 97 and 90 % from the lowest to the highest concentrations, respectively.

3.2. Organotropism of Cd at different exposure concentrations

First, it should be noted that both for concentrations and for accu-

mulated amounts, the gammarid organs were ranked in the same order for the three different exposure concentrations. In terms of the relative proportions of Cd amount reached in each organ at the end of the accumulation phase, the organ order also remained the same regardless of the concentration in water, as follows (from highest to lowest proportion): caeca $\approx$ gills > remaining tissues > cephalons $\approx$ intestines (Fig. 1b); this was already observed by Gestin et al. (2022) for the exposure concentration of 52 ng.L⁻¹.

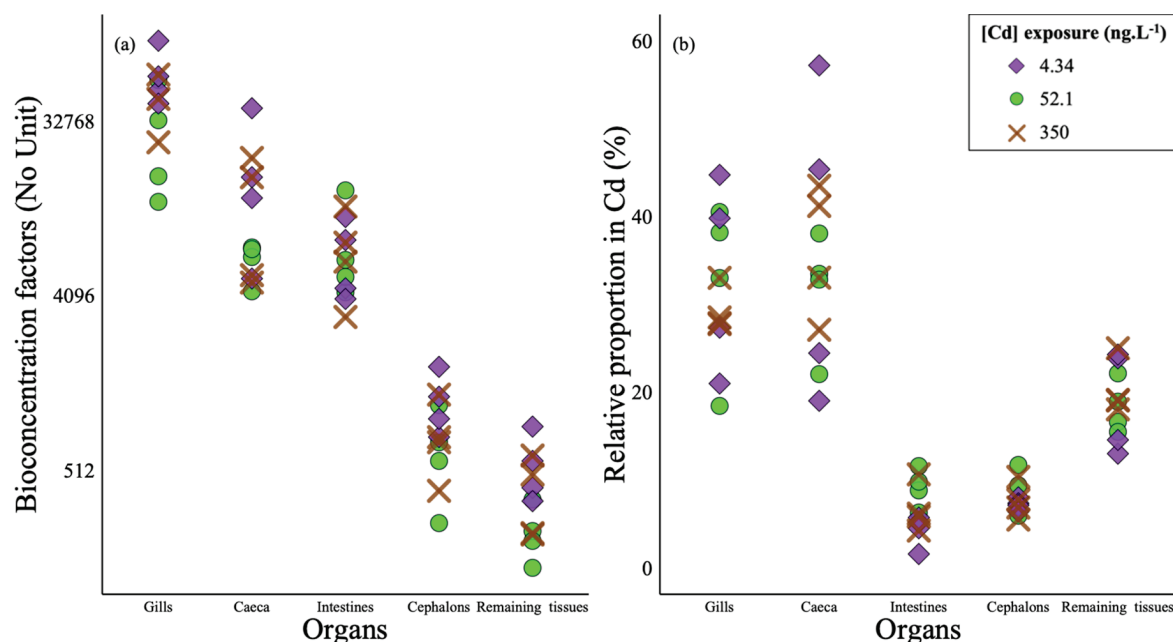


Fig. 1. Comparison at the 7th day (i.e. end of the accumulation phase) of the amounts of Cd measured in the pools ($n = 4$) of each organ according to the exposure concentration, expressed as: a) bioconcentration factors; and b) relative proportion of Cd compared to the total amount of Cd measured for all the organs of a same pool.

In terms of concentration, on day 7 (i.e. at the end of the exposure phase), organs were ordered from the highest to the lowest mean concentration as follows: gills $\gg$ caeca $\approx$ intestines $\gg$ cephalons $>$ remaining tissues (Fig. S3). The gills, caeca and intestines are therefore the organs with the highest capacity to concentrate Cd regardless of the exposure concentration. The exceptional Cd bioconcentration capacities of the gills of gammarids was previously highlighted and may be related to its non-essential character, since the results found for Zn were very different (Gestin et al., 2022). This strong Cd tropism for gills was observed in other invertebrates, such as in the giant prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Liu et al., 2021). Indeed, cells of gills are composed of numerous mitochondria, which reveal an intense activity of active transport and enable a significant uptake of Cd, making the gills an important organ for the storage and detoxification of metals (Ortega et al., 2017). This high concentration of mitochondria has also been found in the cells of the caecum, which is considered a Cd sink organ (Ahearn et al., 2004). In invertebrates, the cells of the intestinal epithelium are known to be a place of sequestration of cations and divalent anions before their elimination by the feces, partly explaining the high concentration found in this tissue, similar to that seen in caeca (Ahearn et al., 1999).

The BCFs calculated at the end of the accumulation phase (Fig. 1a) with respect to each organ were similar for all the exposure concentrations (Kruskal–Wallis test, $p > 0.1$ for all organs). This shows that the Cd bioconcentration capacity in gammarid tissues was not affected by the Cd exposure within the range of the tested concentrations. This no-effect of exposure concentration on the BCFs per organ is in contrast to reports in the literature for the individual level and for higher exposure concentrations. Indeed, it was reported that whole-body BCFs decreased in a non-linear way with increasing exposure concentrations of Cd for several species of invertebrates: *Artemia* sp. (from 0.1 to 10 mg.L⁻¹), *Gammarus oceanicus* (from 5 to 30 μ g.L⁻¹) and *G. pulex* (from 2 to 872 μ g.L⁻¹) (Clason et al., 2004; Sarabia et al., 2006; Vellinger et al., 2012b); with BCFs decreasing more strongly among the lowest exposure concentrations. Vellinger et al. (2012b) hypothesized that this phenomenon is due to the saturation of the sites of uptake mechanisms, such as at the ionic chloride channels of gills. Thus, the constant BCFs with increasing Cd exposure observed in the present study suggest that organs of

gammarids, especially those of entry and storage, do not reach their Cd bioconcentration capacities and/or the saturation of their Cd bindings sites at a threshold value above the highest Cd concentration of 350 ng.L⁻¹ tested here. Nevertheless, it is likely that at higher exposure concentrations, saturation mechanisms of binding capacity, hypometabolism or histopathological damages as seen above with organisms exposed to concentrations at least 1000 times higher than in our study, could modulate the Cd accumulation capacity (Clason et al., 2004; Sarabia et al., 2006; Soegianto et al., 2013; Vellinger et al., 2012b).

Focusing on specific time points, regardless of the day and phase (i.e. accumulation or depuration ones) of the experiments (Fig. S2), these results show that the Cd organotropism remains the same when gammarids are exposed to ranges of Cd from a few to several hundred nanograms per liter. When analyzing the data at times t (i.e. at specific times), other parameters of bioaccumulation may be non-visible such as accumulation, exchange and elimination rates, making it important to study these data from a more dynamic point of view.

3.3. Effect of exposure concentration on bioaccumulation kinetics per organ

Fitting one-compartment models at the organ level allows us to describe the accumulation and depuration kinetics for each organ from a dynamical perspective. For the concentrations accumulated in the gills, six models were fitted, while only four were tested for the other organs (SI (Eq. (S1) to (S12))), each making different assumptions on the overall effect of exposure concentration on accumulation and elimination rates (Table S4).

The DIC values obtained for each fitted model are summarized in Table S4 and a summary of the parameters of the selected sub-models is in Table 1. The inference process converged quickly for the sub-model selected for each organ and thin posterior distributions were obtained for all kinetic parameters (Fig. S3a–c); this is summarized in Table 2 with median and 95 % credible intervals. The median TK model predictions and their 95 % credible intervals were superimposed to observed data (see Fig. S4). Considering all organs, 96.0 ± 1.37 %, 95.0 ± 1.71 % and 95.6 ± 1.71 % of the observed data are, on average, in the 95 % credible intervals of model predictions (Fig. S4) for the exposure

Table 1

Summary of the selected one-compartment TK sub-models for each organ, according to whether or not there is a dependence of their accumulation and/or depuration rates (i.e. k_u and k_e parameters). The selection of the most parsimonious sub-model was made after fitting the different sub-models (Table S4) to the data of each organ separately but simultaneously among the 3 exposure concentrations tested.

Organs	Selected sub-model	Concentration dependence on the			
		accumulation rate		elimination rate	
		Yes	No	Yes	No
Intestines	Sub-model n°2		$k_{u,1,1} = k_{u,1,2} = k_{u,1,3}$		$k_{e,1,1} = k_{e,1,2} = k_{e,1,3}$
Caeca	Sub-model n°4	$k_{u,2,1} \neq k_{u,2,2} \neq k_{u,2,3}$			$k_{e,2,1} = k_{e,2,2} = k_{e,2,3}$
Cephalons	Sub-model n°4	$k_{u,3,1} \neq k_{u,3,2} \neq k_{u,3,3}$			$k_{e,3,1} = k_{e,3,2} = k_{e,3,3}$
Remaining tissues	Sub-model n°4	$k_{u,4,1} \neq k_{u,4,2} \neq k_{u,4,3}$			$k_{e,4,1} = k_{e,4,2} = k_{e,4,3}$
Gills	Sub-model n°6	$k_{u,5,1} \neq k_{u,5,2} \neq k_{u,5,3}$			$k_{e,5,1} = k_{e,5,2} = k_{e,5,3} = 0$

concentrations of 4, 52 and 350 ng.L⁻¹, respectively.

The sub-model retained for intestines was model no. 2, showing no overall effect of external concentration on accumulation and depuration rates (Table 1). For the caeca, cephalons and remaining tissues, sub-model no. 4 showed an effect of exposure concentration on their accumulation rates but not on their depuration rates (Table 1). Finally, for the particular case of the gills, the sub-model retained was no. 6, showing as before different accumulation rates according to the external concentration but a total absence of depuration (Table 1). Selecting the model with the best fit for the three datasets of each organ simultaneously, with the DIC as quantitative criterion, is the strength of this nested model approach. Indeed, the traditional way is to fit a one-compartment TK model to the three datasets of each organ independently, which is in fact done with the complete no. 1 model. From that, we obtained the posterior distribution of accumulation and elimination rates for each exposure concentration, summarized by their median and 95 % credible intervals. Our approach based on the comparison of different nested models fitted to the same datasets and the selection of one of them based on the quantitative criterion of the overall goodness-of-fit, appeared to be relevant for testing the underlying assumptions of each model about the overall effect of exposure concentration on TK parameters.

The organs showing the highest uptake rate were the gills followed by the intestines and then the caeca, cephalons and remaining tissues (Table 2). At the lowest exposure concentration (i.e. $C_{w,1}$), the caeca and intestines displayed similar values of estimated uptake rates (i.e. $k_{u,2,1}$ and $k_{u,1,1}$, respectively). Moreover, when an effect of the exposure

concentration on the uptake rate was determined (for caeca, cephalons, remaining tissues and gills), we noted that the higher k_u values were found for the lowest concentration (i.e. 4 ng.L⁻¹), since a similar $k_{u,i}$ was obtained for 52 and 350 ng.L⁻¹ concentrations (Table 2). Finally, regarding the elimination rates, the intestines displayed the highest values, i.e. 3-, 4- and 6-fold higher than those for the caeca, cephalon and remaining tissues, respectively (Table 2). However, the exposure concentration had no effect on $k_{e,i,z}$ values because they remained constant for all organs regardless of the exposure concentrations.

To the best of our knowledge, no studies have used one-compartment models in invertebrates to compare the metal accumulation and elimination rates at the organ level as a function of exposure concentration. At the whole-body level of *G. pulex* exposed to Cd, Pellet et al. (2009) observed a constant elimination rate when the exposure concentration increased from 1 to 9 µg.L⁻¹. This output appears to be consistent with the absence of any influence of Cd exposure concentrations on k_e for all organs as shown in this study. Similarly, in *Daphnia magna* exposed to a range of 10–200 µg.L⁻¹ of uranium (U), Scheibener et al. (2021) observed a significant decrease in k_u at the highest concentration of U but no significant differences in k_e . If the elimination rate is constant whatever the exposure concentration, the uptake processes could reach saturation with increasing exposure concentration, resulting in a negative correlation between the uptake rate parameters and the exposure concentration (Scheibener et al., 2021). One of the explanations may be the fact that uptake of free and charged metals would primarily occur through facilitated transport or active pumping of ions via transcellular uptake, both of which are saturable mechanisms (Allen and Weihrauch,

Table 2

Estimated parameters of the selected nested one-compartment TK models (Eq. (2)) for each organ of gammarids exposed in a 7-day accumulation phase to dissolved Cd followed by a 21-day depuration phase.

Organs	Parameters	Priors	$C_{w,1} = 4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$			$C_{w,2} = 52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$			$C_{w,3} = 350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$		
			Median	Percentiles		Median	Percentiles		Median	Percentiles	
				2.5 %	97.5 %		2.5 %	97.5 %		2.5 %	97.5 %
Intestines	$k_{u,1}$	log10.Unif (−5,5)	2584	1859	3691	2584	1859	3691	2584	1859	3691
Caeca	$k_{u,2}$		2597	1996	3307	1500	1137	1920	1788	1297	2334
Cephalons	$k_{u,3}$		192.3	165.1	221.6	110.5	88.1	134.1	126.7	106.1	150.1
Remaining tissues	$k_{u,4}$		101.6	87.57	116.4	51.74	43.52	60.61	67.88	56.86	79.88
Gills	$k_{u,5}$		8390	7503	9269	4328	3805	4838	6046	5080	6957
Intestines	$k_{e,1}$	Gamma (0.001, 0.001)	0.2991	0.1913	0.4741	0.2991	0.1913	0.4741	0.2991	0.1913	0.4741
Caeca	$k_{e,2}$		0.09089	0.05989	0.1287	0.09089	0.05989	0.1287	0.09089	0.05989	0.1287
Cephalons	$k_{e,3}$		0.06511	0.04694	0.08586	0.06511	0.04694	0.08586	0.06511	0.04694	0.08586
Remaining tissues	$k_{e,4}$		0.04497	0.03077	0.06077	0.04497	0.03077	0.06077	0.04497	0.03077	0.06077
Gills	$k_{e,5}$		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Intestines	σ_1		0.013	0.010	0.016	0.12	0.096	0.16	0.86	0.68	1.1
Caeca	σ_2		0.023	0.019	0.029	0.12	0.098	0.16	1.2	0.96	1.6
Cephalons	σ_3		1.1e−3	8.7e−4	0.0014	8.8e−3	7.0e−3	0.012	0.055	0.044	0.073
Remaining tissues	σ_4		6.6e−4	5.3e−4	8.3e−4	3.3e−3	2.6e−3	4.4e−3	0.035	0.028	0.047
Gills	σ_5		0.069	0.056	0.088	0.42	0.34	0.56	5.6	4.4	7.3

Priors correspond to scale, law and interval of values tested during the inference process; Percentiles and Median are, respectively for each parameter, percentiles and median of the posterior distribution, with the percentiles correspond, for each parameter, to the lower and upper limit of their 95 % credibility interval; the standard deviation of the Gaussian stochastic part associated to the organ i ($i = 1..5$) is σ_i ; the uptake and elimination rates (d^{-1}) of the organ i ($i = 1..5$) are respectively the parameters $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$.

2021; Birceanu et al., 2008; Rainbow, 1997; Wang and Rainbow, 2008). Similarly, at the organ level of the trout *Oncorhynchus mykiss*, Ju et al. (2011) observed that the accumulation rate of Cd by the gills decreased when the external Cd concentration increased. In addition, the elimination rates from gills increased with increasing water concentration, in accordance with the capacity of the gills to depurate Cd. It is possible that one or more saturation phenomena take place when the external concentration increases, but the decrease in k_u in gills seen for gammarids with increasing external concentration could also reflect a lower absorption of ions due to Cd-induced damage of the organ epithelium.

For intestines, the constant uptake rate regardless the exposure concentrations shows a lack of saturation of binding sites in this organ, which supports the hypothesis that it is a passage/transition organ with uptake occurring either: i) by a non-active and therefore non-saturable process or ii) also by a facilitated diffusion process, but with epithelial cells containing more transporters and calcium channels than the other organs, which will therefore saturate less rapidly.

Because the elimination rates remained constant for all three concentrations of all organs, it can be assumed that the elimination results of a passive mechanism depend on the exposure concentration: for example, passive diffusion in the gradient direction of Cd-metalloprotein complexes (Zhang and Reynolds, 2019) and/or exocytosis of insoluble granules.

The results presented here for *G. fossarum* showed that intestines and caeca are key organs in the accumulation and elimination of Cd, whereas

gills are also a key organ in accumulation but they do not eliminate Cd, as already shown for an exposure level of 52 ng.L⁻¹ (Gestin et al., 2022). This dynamic approach by toxico-kinetic modeling is thus complementary to the more static approach of BCFs. Indeed, while the BCFs show that the gills and intestines are organs that strongly bioconcentrate, the modeling shows that they behave in a very different way in the management of Cd. Thus, the gills have a high BCF, which is explained by a high accumulation rate and no elimination rate; whereas even if the intestines have a high accumulation rate, their lower BCF is related to the fact that the elimination rate is also important.

3.4. Inter-organ exchanges and fate of Cd in *G. fossarum*

The implementation of a multi-compartment TK model allowed us to describe the global regulation of Cd in gammarids (i.e. its patterns of distribution, inter-organ exchanges and fate) for each exposure concentration. For the most parsimonious multi-compartment TK model retained for each exposure concentration, the estimated median of the kinetic parameters (Fig. 2) and their respective 95 % credible intervals are summarized in Table S7. Medians of predicted internal concentrations and their 95 % credible intervals are superimposed to observed data in Fig. 3. For all organs and for each exposure concentration, the 95 % credible intervals of model predictions contain on average 99.0 ± 1.37 %, 96.9 ± 2.21 % and 97.5 ± 2.61 % of the observed data for, respectively, 4, 52 and 350 ng.L⁻¹ (Fig. 3). From day 14 to the end of the

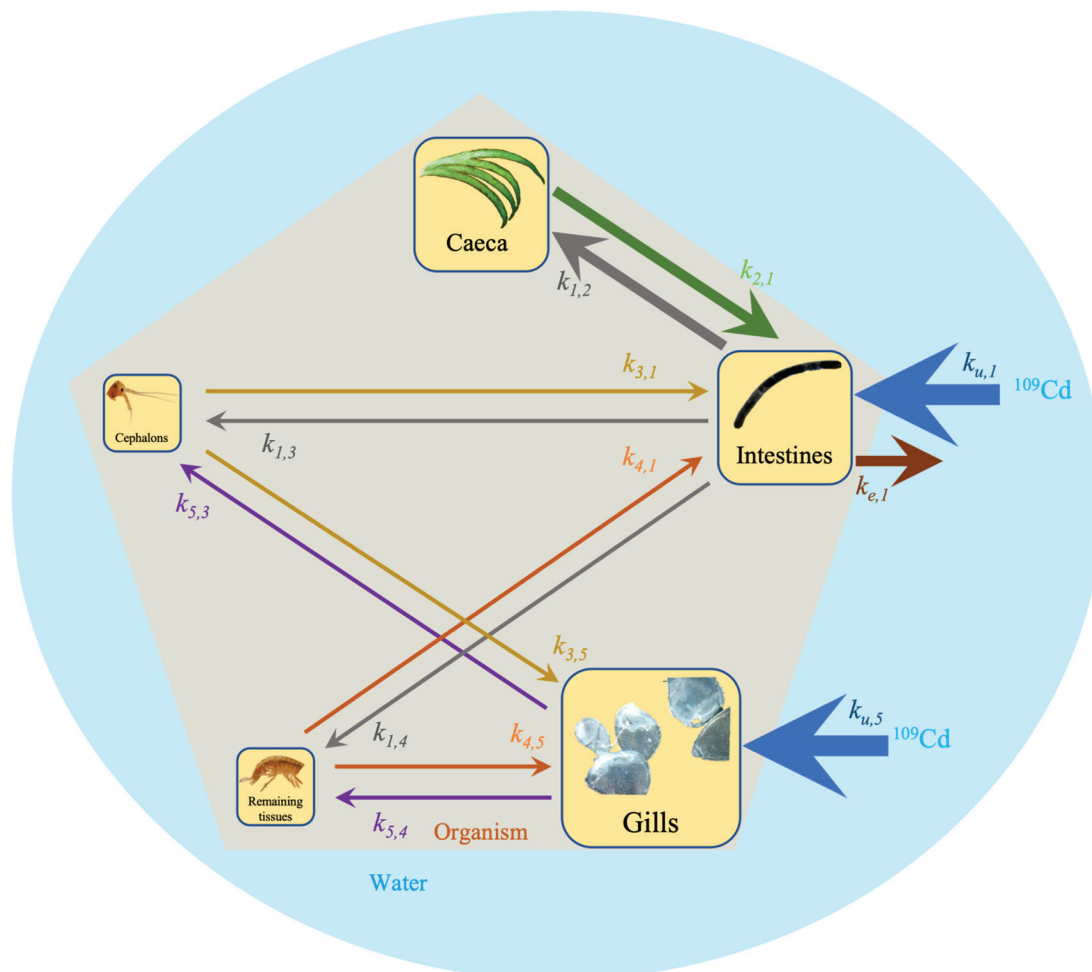


Fig. 2. Final pattern of the best multi-compartments models selected for the 3 concentrations of exposure. The blue background corresponds to water surrounding the gammarid, the brown pentagon corresponds to the whole organism and the yellow boxes inside correspond to the organs. The parameters $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ associated to the different arrows correspond, respectively, to the rates of uptake and elimination of Cd between water and the organ i , while the flow from an organ i to an organ j is symbolized by the parameters k_{ij} . (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

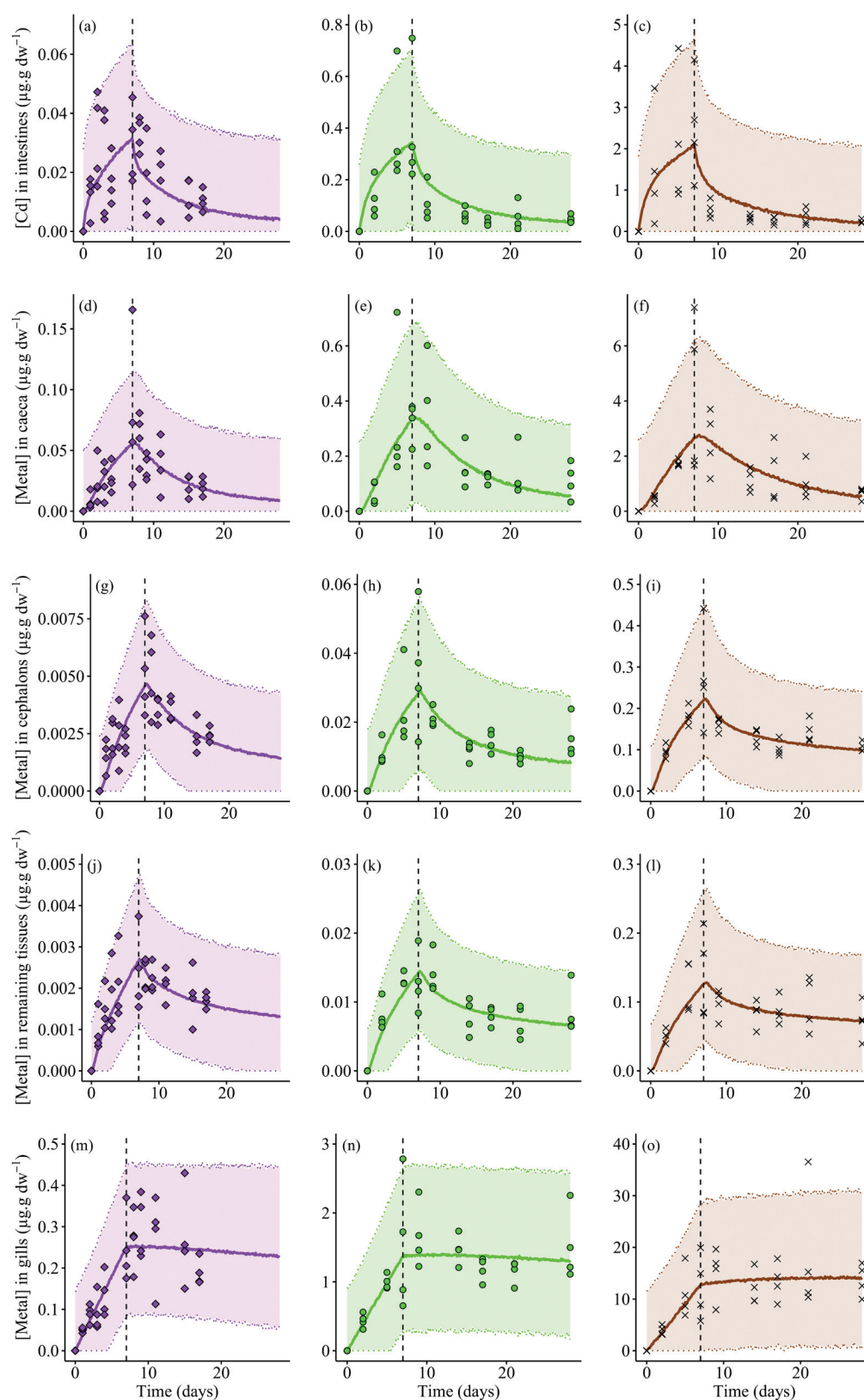


Fig. 3. Concentrations of Cd predicted (95 % credible interval in dashed lines and median in solid line) with the multi-compartments TK model (Eqs. (S13) to (S22)) and measured (diamonds, dots and crosses) for a), b) and c) intestines; d), e) and f) caeca; g), h) and i) cephalons; j), k) and l) remaining tissues; and m), n) and o) gills of gammarids exposed to $4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$ (left column in purple), $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ (middle column in green) and $350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$ (right column in brown) of Cd during the 7-day accumulation phase followed by a 21-day depuration phase. The black dotted vertical line separates these two phases. The y-scales of the plots may differ from one organ and/or concentration to another. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

experiments, the multi-compartment TK models provide a better fit for cephalon and intestine data, without reducing the goodness of fit for the other organs, compared to the nested one-compartment TK models (Fig. 3 and S5a–c).

To study how the exposure concentration impacts the global regulation of Cd in gammarids, we first described the general pattern of Cd regulation and fate in the gammarid observed for the lowest exposure concentration (i.e. 4.34 ng.L^{-1}) and in a second step we assessed

whether the proposed scheme is modulated or changed at the two other exposure concentrations.

The final pattern obtained at the lowest exposure concentration from the most parsimonious multi-compartment TK model showed that Cd was taken up similarly through the gammarid intestines and gills, with accumulation rates of 6019 d^{-1} ($3801\text{--}9133 \text{ d}^{-1}$) and 8397 d^{-1} ($6161\text{--}9817 \text{ d}^{-1}$), respectively (Fig. 2; Table S7). Once accumulated in the intestines, Cd is distributed mainly to the caeca at an accumulation rate of 1.4 d^{-1} ($0.74\text{--}2.1 \text{ d}^{-1}$) and also in a more minimal way to the cephalons and remaining tissues but at accumulation rates 10 times lower (i.e. 0.11 and 0.12 d^{-1} , respectively). These high rates of Cd exchanges between the caeca and the intestine are due their implication in Cd detoxification as they are known to be sinks of metal. The Cd present in caeca would be mostly bound to metallothioneins (MTs), implying reversible bonds (Ahearn et al., 2004; Ortega et al., 2017).

The caeca, cephalons and remaining tissues returned Cd at approximately similar rates to the intestines, revealing that i) the Cd elimination capacity of the caeca, cephalons and remaining tissues is similar, with constants ranging from 0.34 to 1.2 d^{-1} , $1.7\text{e-}4$ to 2.0 d^{-1} and $1.9\text{e-}4$ to 3.6 d^{-1} , respectively; and that ii) the intestine is thus the only organ that eliminates Cd from the body of the gammarids to the environment. In addition, the most parsimonious multi-compartment TK model showed that the gills exchange Cd only with the cephalons and the remaining tissues, although at very low rates. Indeed, the rate of Cd exchange from the gills to: i) the cephalons, it is 50 times lower than from the intestines to the cephalons; and ii) the remaining tissues, it is 10 times lower than from the intestines to remaining tissues (Table S7). Although the gills are not a compartment totally separated from the other organs, as was the hypothesis in our previous study based on one-compartment models (Gestin et al., 2022), the present study confirms that the gills are mainly a storage compartment and that the exchanges with the cephalon and the remaining tissues are negligible. The gills act as a barrier between the external environment and the hemolymph for contaminants such as Cd, letting through only very small quantities of metals (Allen and Weihrauch, 2021) and supporting the hypothesis of Cresswell et al. (2015) in their study of the prawn *Macrobrachium australiense*. This could be explained by reversible detoxification mechanisms such as Cd binding to MTs that are rapidly set up in the gills and before a progressive Cd inclusion in metal-rich granules (MRG), involving a long-term retention of the element (Vijver et al., 2004). It can therefore be hypothesized that after several days of Cd exposure, the metal is mostly bound and stored inertly in insoluble MRG, implying a low or absent efflux rate (Ortega et al., 2017; Vijver et al., 2004; Wang and Rainbow, 2008).

The most parsimonious multi-compartment TK models obtained independently for the three exposure concentrations, but simultaneously for all organs, showed a similar overall Cd regulation pattern among organs (Fig. 2) whatever the exposure concentration. Thus, the gills and intestines are both the main pathways of Cd entry into gammarids, but only the intestines would be: i) the predominant pathway of accumulation and distribution of Cd to the other organs of gammarids in the case of dissolved exposure; and they would also be ii) the exclusive pathway of elimination of Cd to the surrounding environment (Fig. 2 and Table S7).

4. Conclusions

This study investigated the influence of the exposure concentration on the different mechanisms of Cd bioaccumulation in gammarids at the organ level. First, from a static point of view, after exposure to three low environmental concentrations, our findings show that there are no effects of these exposure concentrations on the organotropism of Cd or on its capacity for bioaccumulation by the organs. However, the implementation of a more dynamic approach showed different accumulation kinetics as a function of exposure concentration for all organs except the intestines, with a higher uptake rate for the lowest exposure

concentration (i.e. 4 ng.L^{-1}) tested than for the two highest concentrations. Unlike all other organs, the intestines showed an independent accumulation rate, which remained constant for all three exposure concentrations. Apart from the particular case of the gills, which do not depurate (i.e. $k_e = 0$), all the other organs showed concentration-independent elimination rates, i.e. rates that remained constant whatever the exposure concentration tested here. The findings also indicated the output of an overall pattern of Cd management between organs that was found to be the same for all three exposure concentrations tested. Finally, our study shows, among other things, the importance of implementing TK approaches to obtain a better understanding of the mechanisms of accumulation, elimination, inter-organ exchanges and therefore the fate of metals in the body of invertebrates, so as to improve our knowledge on the mechanisms involved in their toxicity.

In order to better understand the bioaccumulation mechanisms taking place in the environment, it could be interesting to investigate the topic further by examining the impact of the trophic pathway on the accumulation, distribution, elimination and fate of Cd in gammarids.

CRedit authorship contribution statement

Ophélie Gestin: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing – original draft. **Thomas Lacoue-Labarthe:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Nicolas Delorme:** Methodology. **Laura Garnerio:** Methodology. **Olivier Gefard:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Christelle Lopes:** Supervision, Conceptualization, Formal analysis, Methodology, Writing – review & editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgement

The APPROVe project funded by the ANR (ANR-18-CE34-0013-01) supported this work. Work which also benefited from the encouragement of stimulating scientific discussions and collaborations for more integrative approaches, within the French GDR “Aquatic Ecotoxicology” framework.

In addition, we thank Thomas Lacoue-Labarthe and Christine Dupuy for their technical support as Competent Radiological Protection Persons and the « Radioecology lab » of the Institut du Littoral, Environnement et Sociétés (UMR 7266 LIENSs).

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107673>.

References

- Ahearn, G.A., Duerr, J.M., Zhuang, Z., Brown, R.J., Aslamkhan, A., Killebrew, D.A., 1999. Ion transport processes of crustacean epithelial cells. *Physiol. Biochem. Zool.* 72, 1–18. <https://doi.org/10.1086/316643>.
- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: A review. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 174, 439–452. <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0438-0>.
- Allen, G.J.P., Weihrauch, D., 2021. Exploring the versatility of the perfused crustacean gill as a model for transbranchial transport processes. *Comp. Biochem. Physiol. Part - B Biochem. Mol. Biol.* 254, 110572 <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110572>.

- Alonso, Á., De Lange, H.J., Peeters, E.T.H.M., 2010. Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. fossarum*. *Ecotoxicology* 19, 133–140. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0398-y>.
- Alric, B., Geffard, O., Chandesris, A., Ferréol, M., François, A., Perceval, O., Piffady, J., Villeneuve, B., Chaumot, A., 2019. Multisubstance indicators based on caged *Gammarus* bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France. *Environ. Sci. Technol.* 53, 5906–5915. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271>.
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., Désy, J.C., 1996. Total metal burdens in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus*: Contribution of various body parts and influence of gut contents. *Freshw. Biol.* 35, 363–373. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.00493.x>.
- Besse, J.P., Geffard, O., Coquery, M., 2012. Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 36, 113–127. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004>.
- Birceanu, O., Chowdhury, M.J., Gillis, P.L., McGeer, J.C., Wood, C.M., Wilkie, M.P., 2008. Modes of metal toxicity and impaired branchial ionoregulation in rainbow trout exposed to mixtures of Pb and Cd in soft water. *Aquat. Toxicol.* 89, 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.007>.
- Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesris, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M., Geffard, O., 2017. Caged *Gammarus* as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. *Water Res.* 118, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031>.
- Clason, B., Gulliksen, B., Zauke, G.-P., 2004. Assessment of two-compartment models as predictive tools for the bioaccumulation of trace metals in the amphipod *Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947 from Grunnfjord (Northern Norway). *Sci. Total Environ.* 323, 227–241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.09.035>.
- Cresswell, T., Smith, R.E.W., Simpson, S.L., 2014. Challenges in understanding the sources of bioaccumulated metals in biota inhabiting turbid river systems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 1960–1970. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2086-y>.
- Cresswell, T., Simpson, S.L., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A.P., 2015. Bioaccumulation kinetics and organ distribution of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Macrobrachium australiense*. *Environ. Sci. Technol.* 49, 1182–1189. <https://doi.org/10.1021/es505254w>.
- Dedouge-Geffard, O., Palais, F., Biagiotti-Risbourg, S., Geffard, O., Geffard, A., 2009. Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An in situ experiment. *Chemosphere* 77, 1569–1576. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.042>.
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, OJ L327, 22.12.2000.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 86, 413–425. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.002>.
- Frías-Espericueta, M.G., Bautista-Covarrubias, J.C., Osuna-Martínez, C.C., Delgado-Alvarez, C., Bojórquez, C., Aguilar-Juárez, M., Roos-Muñoz, S., Osuna-López, I., Páez-Osuna, F., 2022. Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. *Aquat. Toxicol.* 242 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106024>.
- Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccía, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxicokinetic modelling to understand metals' organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. *Environ. Int.* 156 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>.
- Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T., 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. *Environ. Pollut.* 308 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119625>.
- Gismonti, E., Thomé, J.P., Urien, N., Uher, E., Baiwir, D., Mazzucchielli, G., De Pauw, E., Fechner, L.C., Lebrun, J.D., 2017. Ecotoxicoproteomic assessment of the functional alterations caused by chronic metallic exposures in gammarids. *Environ. Pollut.* 225, 428–438. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.006>.
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere* 81, 701–710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>.
- Kutlu, M., Düzen, A., Bayçu, C., Özata, A., 2002. A transmission electron microscope investigation of the effect of lead acetate on the hepatopancreatic caeca of *Gammarus pulex*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 12, 181–187. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00036-4).
- Lacaze, E., Devaux, A., Mons, R., Bony, S., Garric, J., Geffard, A., Geffard, O., 2011. DNA damage in caged *Gammarus fossarum* amphipods: A tool for freshwater genotoxicity assessment. *Environ. Pollut.* 159, 1682–1691. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.038>.
- Lebrun, J.D., Geffard, O., Urien, N., François, A., Uher, E., Fechner, L.C., 2015. Seasonal variability and inter-species comparison of metal bioaccumulation in caged gammarids under urban diffuse contamination gradient: Implications for biomonitoring investigations. *Sci. Total Environ.* 511, 501–508. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.078>.
- Lebrun, J.D., Uher, E., Fechner, L.C., 2017. Behavioural and biochemical responses to metals tested alone or in mixture (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) in *Gammarus fossarum*: From a multi-biomarker approach to modelling metal mixture toxicity. *Aquat. Toxicol.* 193, 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.018>.
- Liu, X., Jiang, H., Ye, B., Qian, H., Guo, Z., Bai, H., Gong, J., Feng, J., Ma, K., 2021. Comparative transcriptome analysis of the gills and hepatopancreas from *Macrobrachium rosenbergii* exposed to the heavy metal Cadmium (Cd²⁺). *Sci. Rep.* 11, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95709-w>.
- McGeer, J.C., Brix, K.V., Skeaff, J.M., Deforest, D.K., Brigham, S.I., Adams, W.J., Green, A.S., 2003. Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure concentration for metals: Implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1017–1037. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2003\)022<1017:IRBBFA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2003)022<1017:IRBBFA>2.0.CO;2).
- Nunez-Nogueira, G., Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2006. Subcellular distribution of zinc and cadmium in the hepatopancreas and gills of the decapod crustacean *Penaeus indicus*. *Mar. Biol.* 150, 197–211. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0350-0>.
- Ortega, P., Custódio, M.R., Zanotto, F.P., 2017. Characterization of cadmium transport in hepatopancreatic cells of a mangrove crab *Ucides cordatus*: The role of calcium. *Aquat. Toxicol.* 188, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.04.012>.
- Pellet, B., Geffard, O., Lacour, C., Kermol, T., Gourlay-Francé, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2009. A model predicting waterborne cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex*: the effects of dissolved organic ligands, calcium, and temperature. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2434–2442. <https://doi.org/10.1897/09-042.1>.
- Péry, A.R.R., Geffard, A., Conrad, A., Mons, R., Garric, J., 2008. Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on *Chironomus riparius* based on cytosolic accumulation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 869–873. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.04.009>.
- Plummer, M., 2003. JAGS: A Program for Analysis of Bayesian Graphical Models Using Gibbs Sampling JAGS: Just Another Gibbs Sampler. In: 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing, Vienne, Austria, p. 8.
- Pourang, N., Dennis, J.H., Ghourchian, H., 2004. Tissue distribution and redistribution of trace elements in shrimp species with the emphasis on the roles of metallothionein. *Ecotoxicology* 13, 519–533. <https://doi.org/10.1023/b:ectx.0000037189.80775.9c>.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. In: R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Austria.
- Rainbow, P.S., 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 44, 169–176. <https://doi.org/10.1006/ecss.1996.0208>.
- Rainbow, P.S., Luoma, S.N., 2011. Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates-Modelling zinc in crustaceans. *Aquat. Toxicol.* 105, 455–465. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.08.001>.
- Ramiro Pastorinho, M., Telfer, T.C., Soares, A.M.V.M., 2009. Amphipod susceptibility to metals: Cautionary tales. *Chemosphere* 75, 1423–1428. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.003>.
- Ritz, C., 2010. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 220–229. <https://doi.org/10.1002/etc.7>.
- Sarabia, R., Varó, I., Amat, F., Pastor, A., Del Ramo, J., Díaz-Mayans, J., Torreblanca, A., 2006. Comparative toxicokinetics of cadmium in *Artemia*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 111–120. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-7026-5>.
- Scheibener, S., Song, Y., Tollefsen, K.E., Salbu, B., Teien, H.C., 2021. Uranium accumulation and toxicokinetics in the crustacean *Daphnia magna* provide perspective to toxicodynamic responses. *Aquat. Toxicol.* 235, 105836 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105836>.
- Shuhaimi-Othman, M., Pascoe, D., 2007. Bioconcentration and depuration of copper, cadmium, and zinc mixtures by the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.03.003>.
- Soegianto, A., Winarni, D., Handayani, U.S., Hartati, 2013. Bioaccumulation, elimination, and toxic effect of cadmium on structure of gills and hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium sintangense* (De Man, 1898). *Water. Air. Soil Pollut.* 224, 10.1007/s11270-013-1575-4.
- Spiegelhalter, D.J., Best, N.G., Carlin, B.P., Van Der Linde, A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 64, 583–639. <https://doi.org/10.1111/1467-9868.00353>.
- Stephenson, M., Turner, M.A., 1993. A field study of cadmium dynamics in periphyton and in *Hyalella azteca* (crustacea: amphipoda). *Water, Air, Soil Pollut.* 68, 341–361. <https://doi.org/10.1007/BF00478462>.
- Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Quéau, H., Coquery, M., Chaumot, A., Geffard, O., 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: Field experimentation at a large spatial scale (France). *Water Res.* 95, 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023>.
- Van Ginneken, M., De Jonge, M., Bervoets, L., Blust, R., 2015. Uptake and toxicity of Cd, Cu and Pb mixtures in the isopod *Asellus aquaticus* from waterborne exposure. *Sci. Total Environ.* 537, 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.153>.
- van Hattum, B., de Voogt, P., van den Bosch, L., van Straalen, N.M., Jooisse, E.N.G., Govers, H.A.J., 1989. Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.* 62, 129–151. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(89\)90183-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(89)90183-8).
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Immel, F., Wagner, P., Usseglio-Polatera, P., 2012b. Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Environ. Pollut.* 160, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.09.002>.
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Usseglio-Polatera, P., 2012c. Antagonistic toxicity of arsenate and cadmium in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Ecotoxicology* 21, 1817–1827. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0916-1>.
- Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., Lanno, R.P., Van Straalen, N.M., Peijnenburg, W.J.G.M., 2004. Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4705–4712. <https://doi.org/10.1021/es040354g>.



- Wang, W.-X., Rainbow, P.S., 2008. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 148, 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.003>.
- Warnau, M., Bustamante, P., 2007. Radiotracer techniques: A unique tool in marine ecotoxicological studies. *Environ. Bioindic.* 2, 217–218. <https://doi.org/10.1080/15555270701714822>.
- Wright, D.A., 1980. Cadmium and calcium interactions in the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Freshw. Biol.* 10, 123–133. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1980.tb01187.x>.
- Yen Le, T.T., Grabner, D., Nachev, M., García, M.R., Balsa-Canto, E., Peijnenburg, W.J.G. M., Hendriks, A.J., Sures, B., 2021. Development of a toxicokinetic-toxicodynamic model simulating chronic copper toxicity to the Zebra mussel based on subcellular

- fractionation. *Aquat. Toxicol.* 241, 106015 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106015>.
- Zhang, H., Reynolds, M., 2019. Cadmium exposure in living organisms : A short review. *Sci. Total Environ.* 678, 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>.

Further reading

- Vellinger, C., Felten, V., Sornom, P., Rousselle, P., Beisel, J.N., Usseglio-Polatera, P., 2012a. Behavioural and physiological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium and arsenate at three temperatures: Individual and combined effects. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039153>.

Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »

Table S1. Characteristics of waters Évian® used for the experiments.

	Évian®
Bicarbonates HCO_3^- (mg.L ⁻¹)	360
Calcium Ca^{2+} (mg.L ⁻¹)	80
Chlorides Cl^- (mg.L ⁻¹)	10
Magnesium Mg^{2+} (mg.L ⁻¹)	26
Nitrates NO_3^- (mg.L ⁻¹)	3.8
Potassium K^+ (mg.L ⁻¹)	1
Silica SiO_2 (mg.L ⁻¹)	15
Sodium Na^+ (mg.L ⁻¹)	6.5
Sulfates SO_4^{2-} (mg.L ⁻¹)	14
pH	7.2

Table S2. Measured concentrations of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq.mL^{-1}) and calculated concentrations of Cd in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; ng.L^{-1}) just after (New spike) and just before (End spike) the addition of D1 solution of ^{109}Cd in waters during the 7 days of exposure. a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L^{-1}); b) for the intermediate concentration tested (i.e. 52.1 ng.L^{-1}); and c) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L^{-1}).

a)

Time of sampling (in hour from the gammarids are put in the beakers)	Moment of sampling	Concentrations				
		^{109}Cd (Bq.mL^{-1})			Cd in stable equivalent (ng.L^{-1})	
		Nominale	Measured	Mean measured	Nominale	Calculated
-66.0	New spike 1		39.1 ± 9.64			7.11 ± 1.76
0	End spike 1		11.2 ± 8.93			2.04 ± 1.63
0	New spike 2		39.2 ± 15.7			7.14 ± 2.86
6.5	End spike 2		7.44 ± 2.11			1.35 ± 0.383
6.5	New spike 3		28.4 ± 3.17			5.17 ± 0.577
22.5	End spike 3		3.17 ± 2.63			0.577 ± 0.478
22.5	New spike 4		21.8 ± 8.63			3.96 ± 1.57
30.5	End spike 4		11.2 ± 1.81			2.03 ± 0.329
30.5	New spike 5		38.2 ± 4.61			6.96 ± 0.839
48.4	End spike 5		10.1 ± 4.22			1.83 ± 0.767
48.4	New spike 6		49.8 ± 6.76			9.06 ± 1.23
56.0	End spike 6		26.2 ± 10.2			4.77 ± 1.85
56.0	New spike 7		52.2 ± 3.66			9.50 ± 0.667
69.8	End spike 7		14.4 ± 14.5			2.62 ± 2.63
69.8	New spike 8	20	35.5 ± 10.6	24.0 ± 17.2	3.5	6.46 ± 1.93
78.5	End spike 8		12.9 ± 11.6			2.35 ± 2.11
78.5	New spike 9		42.4 ± 12.7			7.72 ± 2.31
94.8	End spike 9		6.95 ± 6.92			1.26 ± 1.26
94.8	New spike 10		35.0 ± 7.81			6.37 ± 1.42
102.1	End spike 10		8.56 ± 10.3			1.56 ± 1.87
102.1	New spike 11		44.2 ± 8.35			8.04 ± 1.52
119.0	End spike 11		8.01 ± 9.02			1.46 ± 1.64
119.0	New spike 12		33.3 ± 5.83			6.06 ± 1.06
127.5	End spike 12		6.52 ± 7.06			1.19 ± 1.29
127.5	New spike 13		42.3 ± 9.70			7.71 ± 1.77
142.0	End spike 13		6.58 ± 5.51			1.20 ± 1.00
142.0	New spike 14		33.5 ± 5.01			6.10 ± 0.912
152.0	End spike 14		8.67 ± 6.16			1.58 ± 1.12
152.0	New spike 15		33.9 ± 6.08			6.17 ± 1.11
168.0	End spike 15		6.43 ± 3.45			1.17 ± 0.627

b)

Time of sampling (in hour from the gammarids are put in the beakers)		Moment of sampling	Concentrations				
			¹⁰⁹ Cd (Bq.mL ⁻¹)		Cd in stable equivalent (ng.L ⁻¹)		
		Nominale	Measured	Mean measured	Nominale	Calculated	Mean calculated
-60.0	New spike 1	15	22.1 ± 2.26	18.6 ± 11.0	50	53.3 ± 5.65	52.1 ± 27.3
0	End spike 1		2.27 ± 2.38			5.67 ± 5.96	
0	New spike 2		17.8 ± 2.49			44.5 ± 6.22	
7.3	End spike 2		11.8 ± 3.72			29.4 ± 9.29	
7.3	New spike 3		18.9 ± 1.13			47.3 ± 2.82	
23.2	Middle spike 3		17.1 ± 5.01			42.8 ± 12.5	
29.2	End spike 3		12.1 ± 2.46			30.3 ± 6.14	
29.2	New spike 4		30.5 ± 5.85			76.2 ± 14.6	
48.5	Middle spike 4		23.1 ± 1.94			57.7 ± 14.8	
53.0	Middle spike 4 bis		29.6 ± 9.09			74.0 ± 22.7	
71.8	Middle spike 4 ter		33.5 ± 16.6			83.8 ± 41.5	
80.3	End spike 4		16.2 ± 6.12			40.4 ± 15.3	
80.3	New spike 5		34.5 ± 5.17			86.2 ± 12.9	
101.5	End spike 5		23.6 ± 11.9			58.9 ± 29.6	
101.5	New spike 6		23.2 ± 2.13			58.1 ± 5.34	
120.5	End spike 6		7.83 ± 6.32			19.6 ± 15.8	
120.5	New spike 7		28.9 ± 5.65			72.3 ± 14.1	
127.5	End spike 7		5.52 ± 8.82			13.8 ± 22.0	
127.5	New spike 8		25.5 ± 6.26			63.9 ± 15.6	
144.8	End spike 8		5.44 ± 5.77			13.6 ± 14.4	
144.8	New spike 9	19.1 ± 4.87	47.7 ± 12.2				
151.8	End spike 9	7.04 ± 5.26	17.6 ± 13.2				
151.8	New spike 10	24.7 ± 5.24	61.8 ± 13.1				
167.0	End spike 10	6.89 ± 5.45	17.2 ± 13.6				

c)

Time of sampling (in hour from the gammarids are put in the beakers)	Moment of sampling	Concentrations				
		¹⁰⁹ Cd (Bq.mL ⁻¹)		Mean measured	Cd in stable equivalent (ng.L ⁻¹)	
		Nominale	Measured		Nominale	Calculated Mean calculated
-18.0	New spike 1		16.8 ± 1.52			420 ± 37.9
0	End spike 1		1.56 ± 2.98			39.0 ± 74.4
0	New spike 2		15.3 ± 3.71			383 ± 92.8
7.1	End spike 2		3.10 ± 5.32			77.4 ± 133
7.1	New spike 3		18.9 ± 7.24			472 ± 181
26.3	End spike 3		3.21 ± 2.54			80.1 ± 63.4
26.3	New spike 4		24.6 ± 13.7			615 ± 343
31.8	End spike 4		12.4 ± 12.3			309 ± 306
31.8	New spike 5		32.9 ± 21.9			822 ± 548
47.4	End spike 5		16.0 ± 17.4			401 ± 434
47.4	New spike 6		27.3 ± 13.1			683 ± 328
57.4	End spike 6		10.2 ± 4.79			255 ± 120
57.4	New spike 7		30.6 ± 9.60			766 ± 240
73.9	End spike 7		6.77 ± 5.91			169 ± 148
73.9	New spike 8	15	16.3 ± 2.72	13.4 ± 12.1	500	408 ± 68.1
79.8	End spike 8		4.57 ± 7.11			114 ± 178
79.8	New spike 9		23.9 ± 9.39			599 ± 235
96.0	End spike 9		4.11 ± 5.80			103 ± 145
96.0	New spike 10		18.9 ± 5.37			473 ± 134
103.5	End spike 10		6.70 ± 8.22			168 ± 206
103.5	New spike 11		15.4 ± 12.0			384 ± 301
120.4	End spike 11		1.53 ± 3.42			38.3 ± 85.6
120.4	New spike 12		21.3 ± 5.48			533 ± 137
127.5	End spike 12		2.20 ± 3.81			55.0 ± 95.4
127.5	New spike 13		18.2 ± 5.79			456 ± 145
144.1	End spike 13		1.82 ± 2.77			45.4 ± 69.2
144.1	New spike 14		18.8 ± 5.77			470 ± 144
151.4	End spike 14		4.70 ± 4.36			118 ± 109
151.4	New spike 15		21.8 ± 8.32			546 ± 208
168.0	End spike 15		2.76 ± 5.35			69.1 ± 134

Table S3. Data sets of Cd. the measured quantities of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; the weight of the gammarids organs sampled from dissections estimated for each organ (Mean $\pm$ SD; mg) from the total weights weighed; and the concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Cd.g organ in dry weight}^{-1}$). a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L^{-1}); b) for the intermediate concentration tested (i.e. 52.1 ng.L^{-1}); and c) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L^{-1}).

a)

Day of sampling	Mean quantities of ^{109}Cd measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	49.84 $\pm$ 47.80	25.10 $\pm$ 11.50	72.80 $\pm$ 9.824	19.55 $\pm$ 10.68	84.57 $\pm$ 53.51
2	129.5 $\pm$ 83.90	36.66 $\pm$ 9.983	127.8 $\pm$ 35.59	45.91 $\pm$ 21.11	125.4 $\pm$ 39.24
3	149.5 $\pm$ 81.99	39.89 $\pm$ 19.87	138.5 $\pm$ 72.64	35.07 $\pm$ 30.61	158.6 $\pm$ 64.60
4	150.3 $\pm$ 53.91	33.68 $\pm$ 5.484	186.8 $\pm$ 65.08	25.33 $\pm$ 9.554	175.3 $\pm$ 56.39
7	429.9 $\pm$ 308.9	77.28 $\pm$ 24.50	340.4 $\pm$ 111.3	43.24 $\pm$ 20.78	197.7 $\pm$ 76.80
8	368.2 $\pm$ 121.6	78.72 $\pm$ 28.16	398.2 $\pm$ 104.2	98.88 $\pm$ 20.23	206.3 $\pm$ 37.14
9	212.3 $\pm$ 43.59	55.25 $\pm$ 8.587	452.9 $\pm$ 173.7	47.66 $\pm$ 31.91	200.2 $\pm$ 60.54
11	213.9 $\pm$ 112.4	54.48 $\pm$ 8.163	379.9 $\pm$ 149.4	40.46 $\pm$ 23.82	177.0 $\pm$ 17.12
15	120.8 $\pm$ 55.40	36.88 $\pm$ 12.54	376.5 $\pm$ 143.9	26.53 $\pm$ 16.06	156.0 $\pm$ 62.28
17	117.8 $\pm$ 39.24	37.56 $\pm$ 4.922	271.3 $\pm$ 47.82	28.64 $\pm$ 14.11	147.0 $\pm$ 14.90

Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	4.246 $\pm$ 0.4776	11.83 $\pm$ 1.331	1.064 $\pm$ 0.1196	1.130 $\pm$ 0.1271	64.18 $\pm$ 7.219
2	4.079 $\pm$ 0.3521	11.37 $\pm$ 0.9812	1.023 $\pm$ 0.08821	1.085 $\pm$ 0.09368	61.65 $\pm$ 5.322
3	4.423 $\pm$ 0.3273	12.32 $\pm$ 0.9121	1.108 $\pm$ 0.08200	1.176 $\pm$ 0.08708	66.85 $\pm$ 4.948
4	4.119 $\pm$ 0.3720	11.48 $\pm$ 1.037	1.032 $\pm$ 0.09319	1.096 $\pm$ 0.09897	62.25 $\pm$ 5.623
7	4.018 $\pm$ 0.2957	11.20 $\pm$ 0.8240	1.007 $\pm$ 0.07408	1.069 $\pm$ 0.07867	60.73 $\pm$ 4.470
8	4.336 $\pm$ 0.1357	11.38 $\pm$ 0.3307	1.076 $\pm$ 0.03283	2.193 $\pm$ 0.2676	64.40 $\pm$ 1.933
9	4.335 $\pm$ 0.6332	11.40 $\pm$ 1.544	1.076 $\pm$ 0.1553	2.147 $\pm$ 0.5060	64.42 $\pm$ 9.213
11	4.178 $\pm$ 0.4835	11.14 $\pm$ 1.072	1.039 $\pm$ 0.1169	1.846 $\pm$ 0.5600	62.35 $\pm$ 6.858
15	4.127 $\pm$ 0.3836	11.19 $\pm$ 1.098	1.029 $\pm$ 0.09646	1.559 $\pm$ 0.1790	61.88 $\pm$ 5.839
17	4.207 $\pm$ 0.2933	11.17 $\pm$ 0.9911	1.046 $\pm$ 0.07570	1.934 $\pm$ 0.3919	62.70 $\pm$ 4.679

Day of sampling	Mean concentration of Cd in organs, calculated in stable equivalent ($\mu\text{g Cd.g organ dw}^{-1}$)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
1	0.007998 $\pm$ 0.006736	0.001541 $\pm$ 0.0006729	0.04995 $\pm$ 0.005500	0.01233 $\pm$ 0.006612	0.0009278 $\pm$ 0.0004713
2	0.02423 $\pm$ 0.01801	0.002388 $\pm$ 0.0007785	0.09020 $\pm$ 0.02119	0.03138 $\pm$ 0.01552	0.001493 $\pm$ 0.0004911
3	0.02500 $\pm$ 0.01464	0.002400 $\pm$ 0.001321	0.09059 $\pm$ 0.04449	0.02225 $\pm$ 0.01979	0.001761 $\pm$ 0.0008316
4	0.02709 $\pm$ 0.01164	0.002161 $\pm$ 0.0004827	0.1340 $\pm$ 0.05219	0.01734 $\pm$ 0.007994	0.002096 $\pm$ 0.0008458
7	0.07934 $\pm$ 0.06144	0.005090 $\pm$ 0.001883	0.2482 $\pm$ 0.08583	0.02910 $\pm$ 0.01332	0.002395 $\pm$ 0.0009805
8	0.06182 $\pm$ 0.01997	0.005022 $\pm$ 0.001715	0.2696 $\pm$ 0.06933	0.03286 $\pm$ 0.005791	0.002328 $\pm$ 0.0003802
9	0.03649 $\pm$ 0.01042	0.003548 $\pm$ 0.0005499	0.3006 $\pm$ 0.07686	0.01763 $\pm$ 0.01297	0.002228 $\pm$ 0.0003334
11	0.03883 $\pm$ 0.02196	0.003570 $\pm$ 0.0005131	0.2722 $\pm$ 0.1110	0.01762 $\pm$ 0.01033	0.002096 $\pm$ 0.0003767
15	0.02109 $\pm$ 0.008902	0.002378 $\pm$ 0.0006929	0.2693 $\pm$ 0.1168	0.01195 $\pm$ 0.006299	0.001818 $\pm$ 0.0006622
17	0.02051 $\pm$ 0.006965	0.002453 $\pm$ 0.0002954	0.1892 $\pm$ 0.03202	0.01054 $\pm$ 0.003528	0.001711 $\pm$ 0.0001753

b)

Day of sampling	Mean quantities of ¹⁰⁹ Cd measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	42.13 ± 22.94	19.11 ± 5.745	69.65 ± 16.75	20.57 ± 11.19	76.58 ± 19.24
5	195.2 ± 159.6	39.42 ± 20.13	147.8 ± 16.33	57.59 ± 27.61	118.4 ± 12.68
7	191.2 ± 42.33	56.01 ± 27.69	219.9 ± 136.4	59.83 ± 35.11	113.4 ± 35.42
9	196.7 ± 94.06	31.92 ± 2.839	236.7 ± 48.26	33.53 ± 19.63	121.4 ± 22.26
14	93.19 ± 39.47	18.69 ± 4.558	217.7 ± 25.57	16.90 ± 5.093	70.90 ± 25.00
17	77.27 ± 12.39	24.34 ± 4.629	187.0 ± 36.95	9.903 ± 2.272	76.30 ± 17.01
21	76.91 ± 52.41	14.62 ± 2.055	160.3 ± 26.80	12.52 ± 9.305	59.90 ± 20.93
28	43.05 ± 25.26	15.92 ± 5.558	144.2 ± 44.15	7.687 ± 3.353	48.88 ± 18.00

Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	6.347 ± 0.5749	17.69 ± 1.602	1.590 ± 0.1440	1.689 ± 0.1529	95.94 ± 8.689
5	5.947 ± 0.4428	16.57 ± 1.234	1.490 ± 0.1109	1.582 ± 0.1178	89.89 ± 6.692
7	5.823 ± 0.2368	16.23 ± 0.6599	1.459 ± 0.05932	1.549 ± 0.06300	88.02 ± 3.580
9	5.839 ± 0.6426	15.21 ± 1.743	1.447 ± 0.1602	3.105 ± 0.2839	86.56 ± 9.633
14	5.977 ± 0.2990	15.94 ± 0.9188	1.486 ± 0.07601	2.638 ± 0.2339	89.19 ± 4.642
17	6.334 ± 0.5525	16.89 ± 1.562	1.575 ± 0.1384	2.794 ± 0.4059	94.51 ± 8.363
21	5.574 ± 0.1479	14.87 ± 0.6868	1.386 ± 0.04102	2.457 ± 0.4029	83.17 ± 2.664
28	3.838 ± 0.1685	10.32 ± 0.3490	0.9556 ± 0.03990	1.569 ± 0.3609	57.40 ± 2.306

Day of sampling	Mean concentration of Cd in organs, calculated in stable equivalent (µg Cd.g organ dw ⁻¹)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	0.06899 ± 0.04162	0.01089 ± 0.003644	0.4377 ± 0.1035	0.1255 ± 0.07469	0.008012 ± 0.002159
5	0.3282 ± 0.2639	0.02369 ± 0.01176	0.9942 ± 0.1044	0.3761 ± 0.2169	0.01317 ± 0.0009170
7	0.3284 ± 0.07127	0.03484 ± 0.01813	1.512 ± 0.9656	0.3910 ± 0.2419	0.01296 ± 0.004395
9	0.3505 ± 0.1946	0.02115 ± 0.002753	1.665 ± 0.4629	0.1106 ± 0.06998	0.01412 ± 0.002916
14	0.1587 ± 0.07610	0.01169 ± 0.002566	1.470 ± 0.2160	0.06559 ± 0.02560	0.007901 ± 0.002561
17	0.1223 ± 0.01872	0.01451 ± 0.003128	1.183 ± 0.1686	0.03641 ± 0.01203	0.008032 ± 0.001342
21	0.1364 ± 0.08885	0.009873 ± 0.001634	1.154 ± 0.1677	0.05729 ± 0.05270	0.007162 ± 0.002362
28	0.1117 ± 0.06423	0.01551 ± 0.005840	1.519 ± 0.5172	0.04859 ± 0.01483	0.008611 ± 0.003551

c)

Day of sampling	Mean quantities of ^{109}Cd measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	30.07 ± 10.58	17.12 ± 2.329	62.86 ± 13.35	26.34 ± 24.21	49.43 ± 6.828
5	108.9 ± 1.926	31.55 ± 1.791	174.7 ± 80.31	34.01 ± 23.68	117.3 ± 40.50
7	227.2 ± 149.1	41.74 ± 17.14	168.9 ± 79.49	36.61 ± 16.97	114.2 ± 48.78
9	167.0 ± 72.25	28.10 ± 4.546	246.3 ± 80.73	18.31 ± 8.086	95.37 ± 17.52
14	64.99 ± 26.98	19.57 ± 3.477	171.9 ± 46.92	9.639 ± 3.566	71.47 ± 16.10
17	72.09 ± 50.52	15.03 ± 2.599	180.8 ± 45.75	6.105 ± 2.222	70.71 ± 12.91
21	61.38 ± 35.04	23.43 ± 3.080	269.0 ± 166.1	8.019 ± 4.721	86.68 ± 29.12
28	37.82 ± 13.65	16.32 ± 2.773	194.3 ± 48.48	5.462 ± 2.015	62.96 ± 27.78
Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	6.445 ± 0.5717	17.96 ± 1.593	1.614 ± 0.1432	1.715 ± 0.1521	97.42 ± 8.641
5	6.266 ± 0.4398	17.46 ± 1.226	1.570 ± 0.1102	1.667 ± 0.1170	94.71 ± 6.648
7	5.547 ± 0.3031	15.45 ± 0.8445	1.389 ± 0.07592	1.475 ± 0.0806	83.83 ± 4.581
9	6.631 ± 0.3937	17.34 ± 1.138	1.644 ± 0.09918	3.436 ± 0.1576	98.39 ± 6.011
14	5.734 ± 0.3284	15.04 ± 0.7483	1.422 ± 0.07953	2.905 ± 0.4264	85.16 ± 4.675
17	5.494 ± 0.6710	14.72 ± 2.029	1.367 ± 0.1703	2.326 ± 0.3055	82.10 ± 10.39
21	6.073 ± 0.8228	16.41 ± 2.115	1.513 ± 0.2033	2.363 ± 0.5753	90.97 ± 12.14
28	5.651 ± 0.4836	15.23 ± 1.320	1.408 ± 0.1203	2.263 ± 0.4708	84.58 ± 7.229
Day of sampling	Mean concentration of Cd in organs, calculated in stable equivalent ($\mu\text{g Cd.g organ dw}^{-1}$)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	0.4592 ± 0.1312	0.09598 ± 0.01616	3.912 ± 0.8940	1.505 ± 1.404	0.05119 ± 0.009327
5	1.743 ± 0.1156	0.1819 ± 0.02285	11.03 ± 4.845	2.112 ± 1.637	0.1228 ± 0.03753
7	4.193 ± 2.884	0.2746 ± 0.1243	12.39 ± 6.310	2.527 ± 1.264	0.1383 ± 0.06463
9	2.542 ± 1.122	0.1613 ± 0.01633	15.08 ± 5.033	0.5278 ± 0.2097	0.09764 ± 0.02110
14	1.120 ± 0.4142	0.1299 ± 0.02019	12.09 ± 3.344	0.3240 ± 0.07797	0.08407 ± 0.01942
17	1.381 ± 1.068	0.1029 ± 0.01947	13.40 ± 3.678	0.2641 ± 0.09005	0.08709 ± 0.01962
21	1.048 ± 0.6544	0.1446 ± 0.02741	18.34 ± 12.32	0.3540 ± 0.2027	0.09781 ± 0.03996
28	0.6598 ± 0.2066	0.1069 ± 0.01215	13.76 ± 3.131	0.2376 ± 0.04816	0.07302 ± 0.02744

Table S4. Summary of all the one-compartment TK sub-models tested for each organ, the values of DIC obtained for each sub-model and the sub-model retained for each organ.

		Concentration dependence on the accumulation rate		elimination rate		Penalized deviance of DIC value	Sub-model retained
		Yes	No	Yes	No		
Intestines	Sub-model n°1	$k_u \neq$		$k_e \neq$		-187.8	
	Sub-model n°2		$k_u =$		$k_e =$	-191.2	X
	Sub-model n°3		$k_u =$	$k_e \neq$		-191.2	
	Sub-model n°4	$k_u \neq$			$k_e =$	-188.3	
Caeca	Sub-model n°1	$k_u \neq$		$k_e \neq$		-114.4	
	Sub-model n°2		$k_u =$		$k_e =$	-104.1	
	Sub-model n°3		$k_u =$	$k_e \neq$		- 107.2	
	Sub-model n°4	$k_u \neq$			$k_e =$	-119.1	X
Cephalons	Sub-model n°1	$k_u \neq$		$k_e \neq$		-727.9	
	Sub-model n°2		$k_u =$		$k_e =$	-694.4	
	Sub-model n°3		$k_u =$	$k_e \neq$		-711.4	
	Sub-model n°4	$k_u \neq$			$k_e =$	-731.5	X
Remaining tissues	Sub-model n°1	$k_u \neq$		$k_e \neq$		-857	
	Sub-model n°2		$k_u =$		$k_e =$	-806.1	
	Sub-model n°3		$k_u =$	$k_e \neq$		-835.9	
	Sub-model n°4	$k_u \neq$			$k_e =$	-861.2	X
Gills	Sub-model n°1	$k_u \neq$		$k_e \neq$		144.1	
	Sub-model n°2		$k_u =$		$k_e =$	202.8	
	Sub-model n°3		$k_u =$		$k_e = 0$	202.7	
	Sub-model n°4		$k_u =$	$k_e \neq$		179.6	
	Sub-model n°5	$k_u \neq$			$k_e =$	143.8	
	Sub-model n°6	$k_u \neq$			$k_e = 0$	143.7	X

One-compartment models

As confirmed by the concentrations measured in water (Tables S2 a-c), we consider that concentration in water (C_w) is constant during the experiment. As a consequence, Eqs. (2) and (3) can be analytically solved (with an initial internal concentration of 0: $C_i(0)=0$):

Sub-model n°1

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} \frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i,j}} + \left(\frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i,j}} \right) \times e^{-k_{e,i,z} \times t} & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S1) \\ \frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i,z}} \times e^{-k_{e,i,z} \times (t-t_c)} + \left(\frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i,z}} \right) \times e^{-k_{e,i,z} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S2) \end{cases}$$

Sub-model n°2

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} \frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} + \left(\frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S3) \\ \frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \times e^{-k_{e,i} \times (t-t_c)} + \left(\frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S4) \end{cases}$$

Sub-model n°3

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} \frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i,j}} + \left(\frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i,z}} \right) \times e^{-k_{e,i,z} \times t} & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S5) \\ \frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i,z}} \times e^{-k_{e,i,z} \times (t-t_c)} + \left(\frac{k_{u,i} \times C_{w,z}}{k_{e,i,z}} \right) \times e^{-k_{e,i,z} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S6) \end{cases}$$

Sub-model n°4

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} \frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} + \left(\frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S7) \\ \frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \times e^{-k_{e,i} \times (t-t_c)} + \left(\frac{k_{u,i,z} \times C_{w,z}}{k_{e,i}} \right) \times e^{-k_{e,i} \times t} & \text{for } t > t_c \quad (S8) \end{cases}$$

Sub-model n°5

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} k_{u,5,z} \times C_{w,z} \times t & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S9) \\ k_{u,5,z} \times C_{w,z} \times t_c & \text{for } t > t_c \quad (S10) \end{cases}$$

Sub-model n°6

$$C_i(t, C_{w,z}) = \begin{cases} k_{u,5} \times C_{w,z} \times t & \text{for } 0 < t \leq t_c \quad (S11) \\ k_{u,5} \times C_{w,z} \times t_c & \text{for } t > t_c \quad (S12) \end{cases}$$

where $k_{u,i,z}$ and $k_{e,i,z}$ are respectively the uptake and the elimination rates predicted for the organ i (with $i=1..5$: $i=1$ for intestine, $i=2$ for caecum, $i=3$ for cephalon, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) at the concentration $C_{w,z}$ (with $z=1$ for $[Cd] = 4.34 \text{ ng.L}^{-1}$, $z=2$ for $[Cd] = 52.1 \text{ ng.L}^{-1}$ and $z=3$ for $[Cd] = 350 \text{ ng.L}^{-1}$); $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ are respectively the uptake and the elimination rates predicted for the organ i when considering no effect of exposure concentration on them, i.e. when $k_{u,i,1} = k_{u,i,2} = k_{u,i,3} = k_{u,i}$ and $k_{e,i,1} = k_{e,i,2} = k_{e,i,3} = k_{e,i}$.

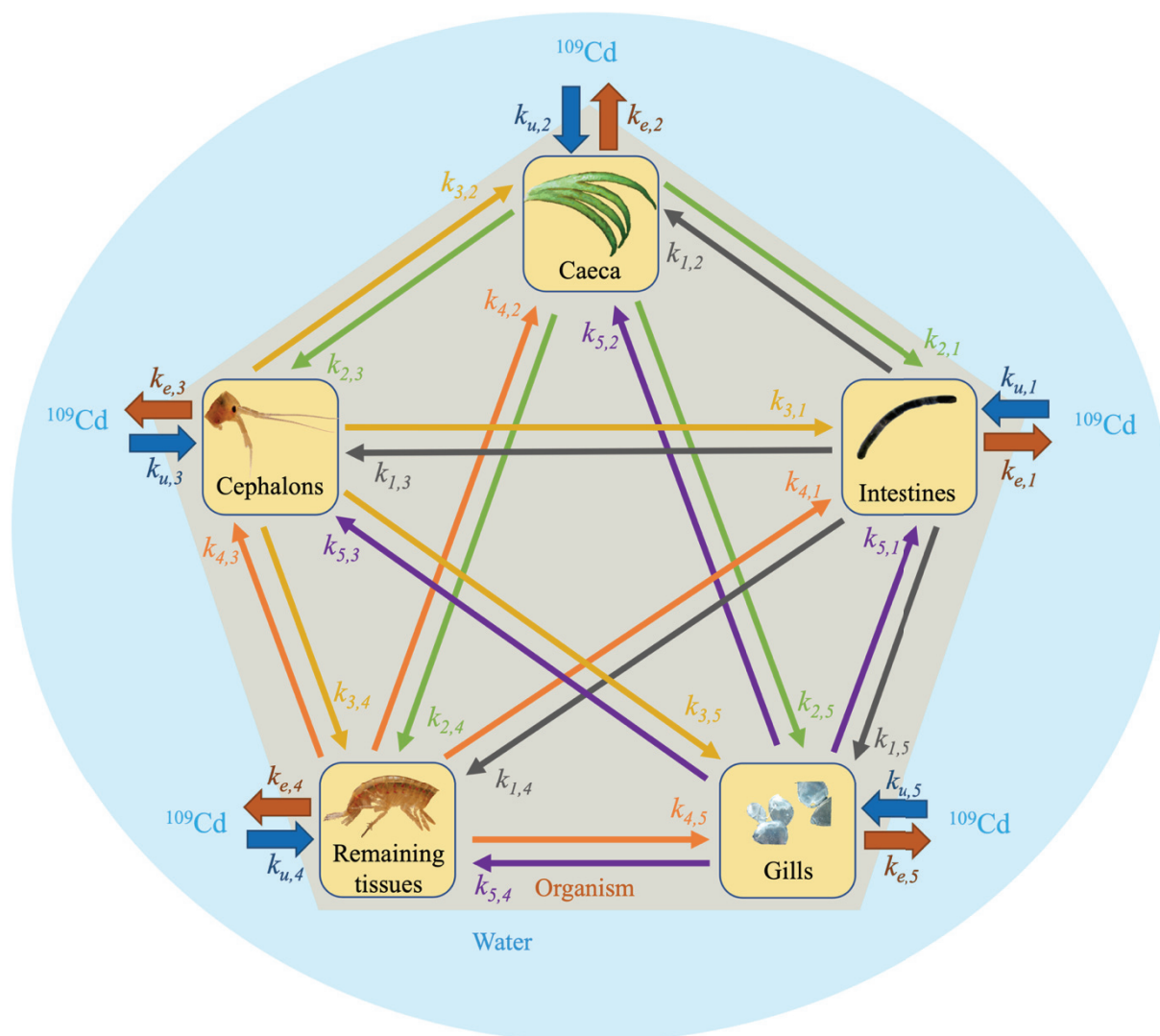


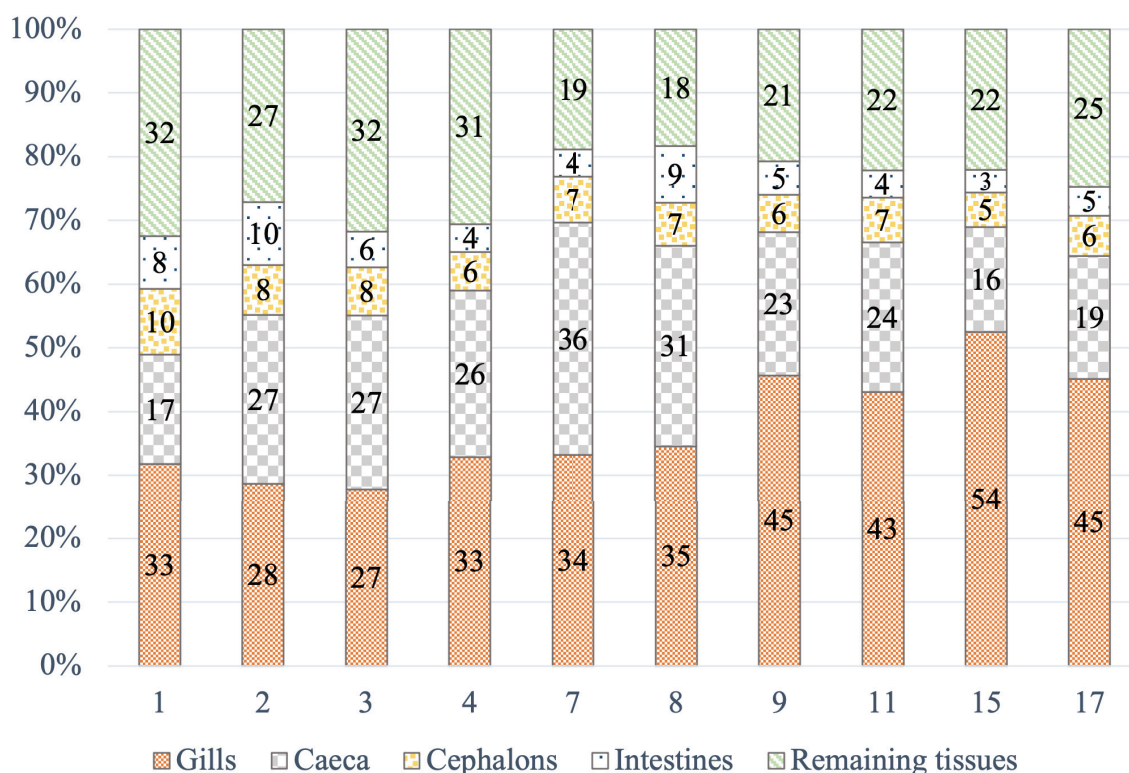
Figure S1. General complete scheme of the multi-compartments model. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the orange pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated with their respective concentrations C_i ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills). The different arrows with the parameters $k_{u,i}$ and $k_{e,i}$ correspond, respectively, to the rates of uptake and elimination of Cd between water and the organ i , and the parameters k_{ij} symbolize the flow from the organ i to the organ j .

Multi-compartments model

The complete model consists of 10 coupled ordinary differential equations (ODE): 5 for the accumulation phase (one for each organ) (Eqs. (S13) to (S17)) and 5 for the depuration phase (Eqs. (S18) to (S22)).

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dC_1(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,1} \times C_{w,z} + k_{21} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{31} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{41} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{51} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,1} + k_{12} + k_{13} + k_{14} + k_{15}) \times C_1(t, C_{w,z}) \quad \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (\text{S13}) \\ \frac{dC_2(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,2} \times C_{w,z} + k_{12} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{32} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{42} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{52} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,2} + k_{21} + k_{23} + k_{24} + k_{25}) \times C_2(t, C_{w,z}) \quad \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (\text{S14}) \\ \frac{dC_3(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,3} \times C_{w,z} + k_{13} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{23} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{43} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{53} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,3} + k_{31} + k_{32} + k_{34} + k_{35}) \times C_3(t, C_{w,z}) \quad \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (\text{S15}) \\ \frac{dC_4(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,4} \times C_{w,z} + k_{14} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{24} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{34} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{54} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,4} + k_{41} + k_{42} + k_{43} + k_{45}) \times C_4(t, C_{w,z}) \quad \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (\text{S16}) \\ \frac{dC_5(t, C_{w,z})}{dt} = k_{u,5} \times C_{w,z} + k_{15} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{25} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{35} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{45} \times C_4(t, C_{w,z}) - (k_{e,5} + k_{51} + k_{52} + k_{53} + k_{54}) \times C_5(t, C_{w,z}) \quad \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (\text{S17}) \\ \\ \frac{dC_1(t, C_{w,z})}{dt} = k_{21} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{31} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{41} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{51} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,1} + k_{12} + k_{13} + k_{14} + k_{15}) \times C_1(t, C_{w,z}) \quad \text{for } t > t_c \quad (\text{S18}) \\ \frac{dC_2(t, C_{w,z})}{dt} = k_{12} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{32} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{42} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{52} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,2} + k_{21} + k_{23} + k_{24} + k_{25}) \times C_2(t, C_{w,z}) \quad \text{for } t > t_c \quad (\text{S19}) \\ \frac{dC_3(t, C_{w,z})}{dt} = k_{13} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{23} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{43} \times C_4(t, C_{w,z}) + k_{53} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,3} + k_{31} + k_{32} + k_{34} + k_{35}) \times C_3(t, C_{w,z}) \quad \text{for } t > t_c \quad (\text{S20}) \\ \frac{dC_4(t, C_{w,z})}{dt} = k_{14} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{24} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{34} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{54} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,4} + k_{41} + k_{42} + k_{43} + k_{45}) \times C_4(t, C_{w,z}) \quad \text{for } t > t_c \quad (\text{S21}) \\ \frac{dC_5(t, C_{w,z})}{dt} = k_{15} \times C_1(t, C_{w,z}) + k_{25} \times C_2(t, C_{w,z}) + k_{35} \times C_3(t, C_{w,z}) + k_{45} \times C_5(t, C_{w,z}) - (k_{e,5} + k_{51} + k_{52} + k_{53} + k_{54}) \times C_5(t, C_{w,z}) \quad \text{for } t > t_c \quad (\text{S22}) \end{array} \right.$$

a. Proportions of Cd quantities for [Cd] = 4.34 ng.L⁻¹



b. Proportions of Cd quantities for [Cd] = 350 ng.L⁻¹

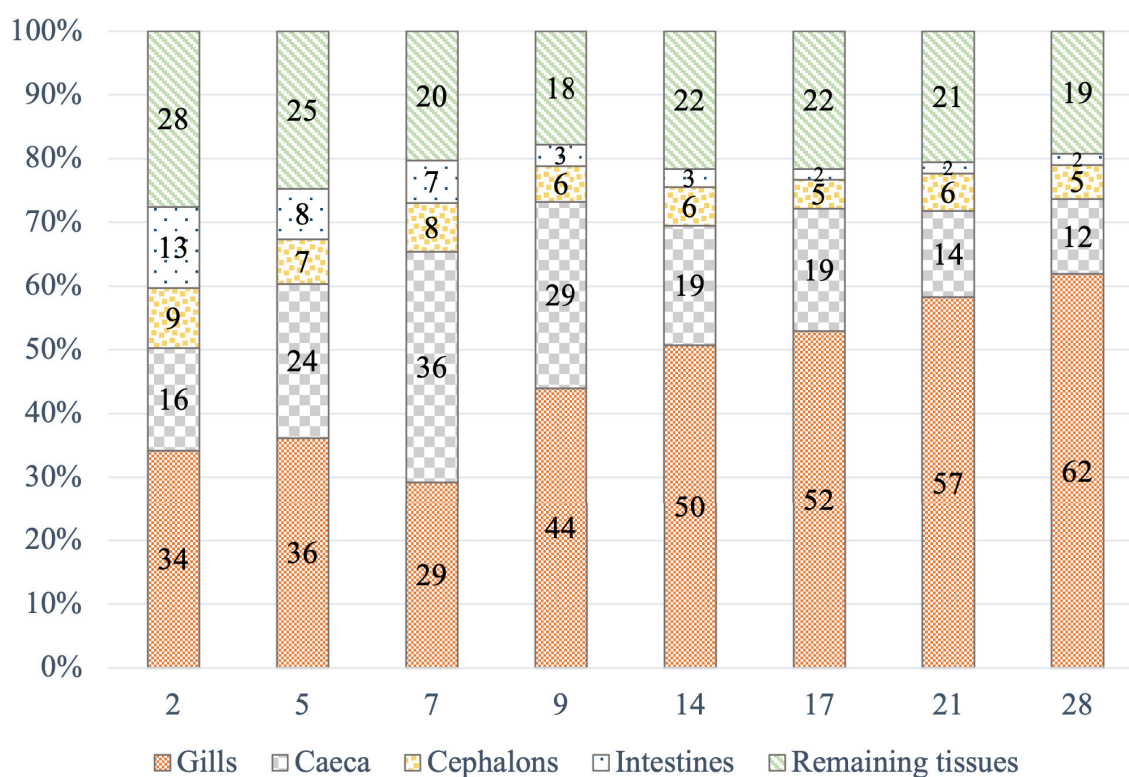
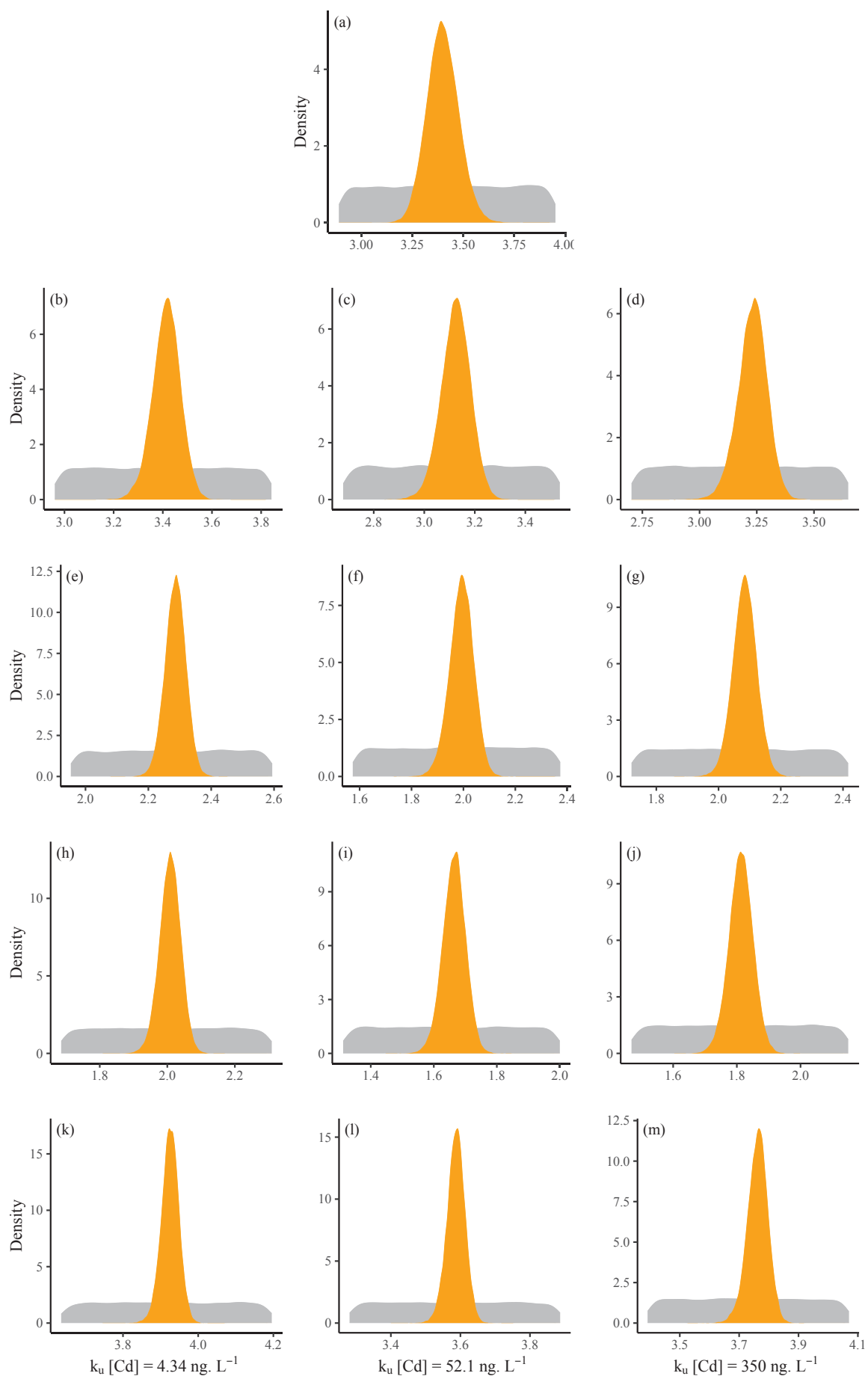
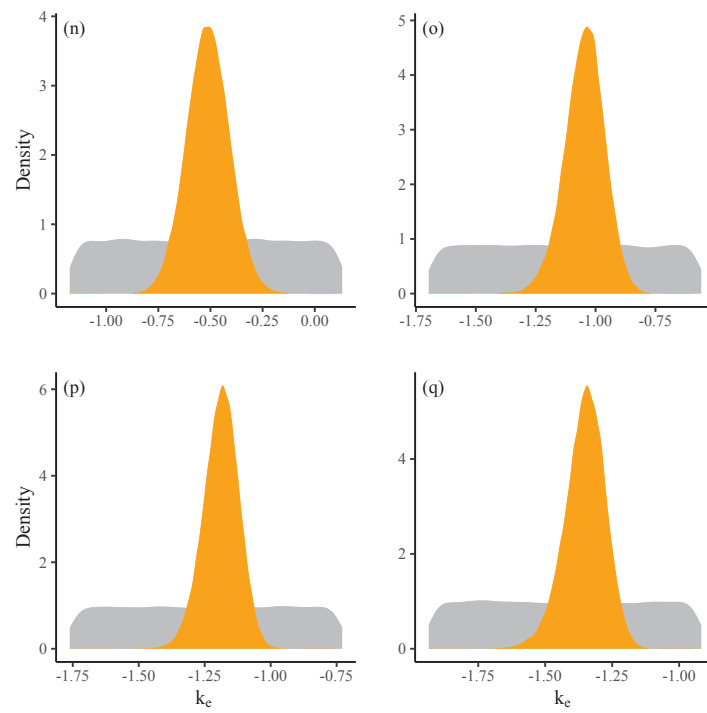


Figure S2. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens per organ (gills, caeca, cephalons, intestines and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) for accumulation (days 0-7) and depuration phases (days 8-28). a) For the lowest concentration tested (i.e. 4.34 ng.L⁻¹); and b) for the highest concentration tested (i.e. 350 ng.L⁻¹).





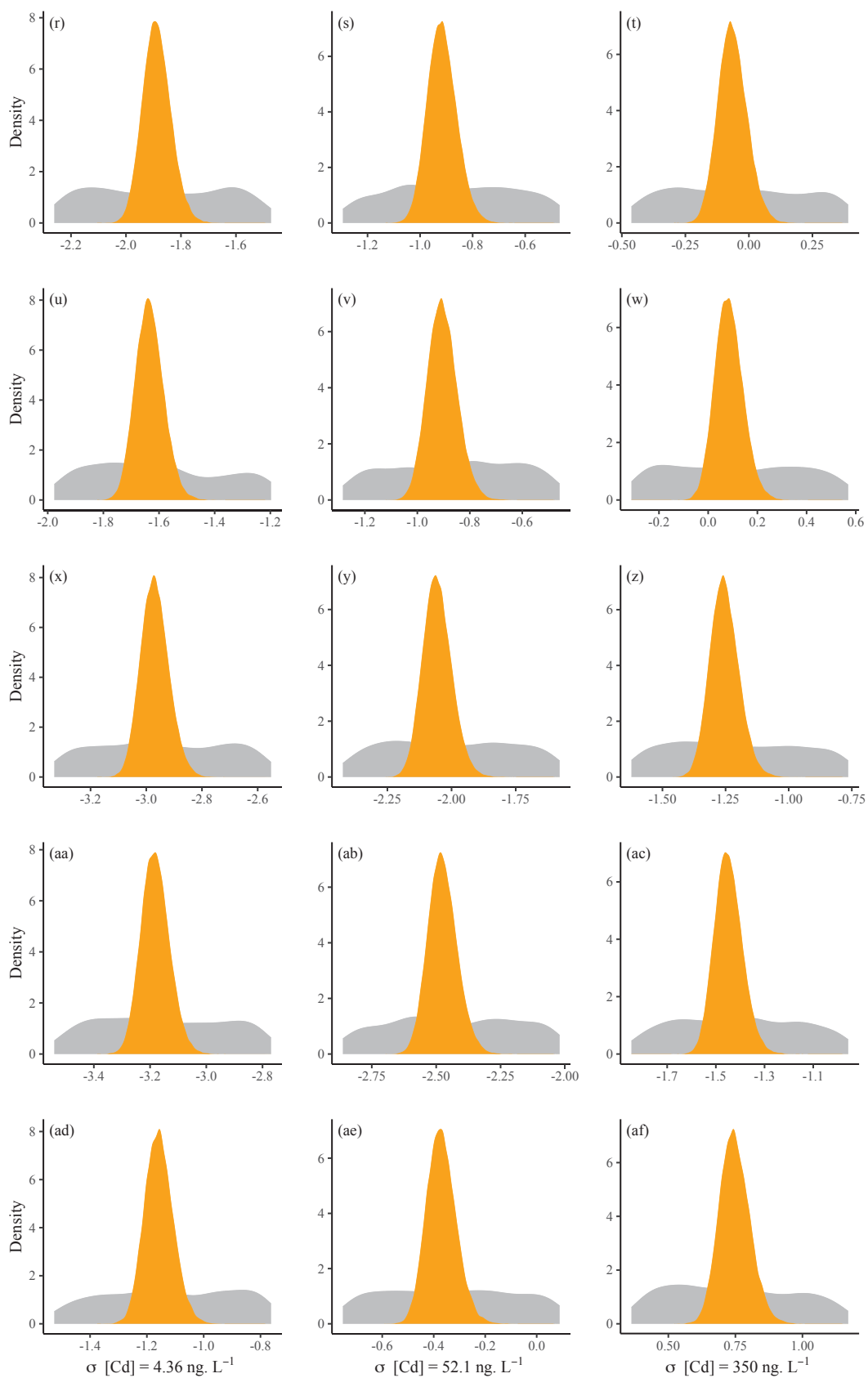


Figure S3. Representation of prior (grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the one-compartment model (Eqs. (1) and (2)) fitted to each organ for Cd data set: first line with a), b) and c) for intestines; second line with d) e) and f) for caeca; third line with g), h) and i) for cephalons; fourth line with j), k) and l) for remaining tissues; and last line with m) and n) for gills. a) For $k_{u,i}$; b) for $k_{e,i}$; and c) for σ_i .

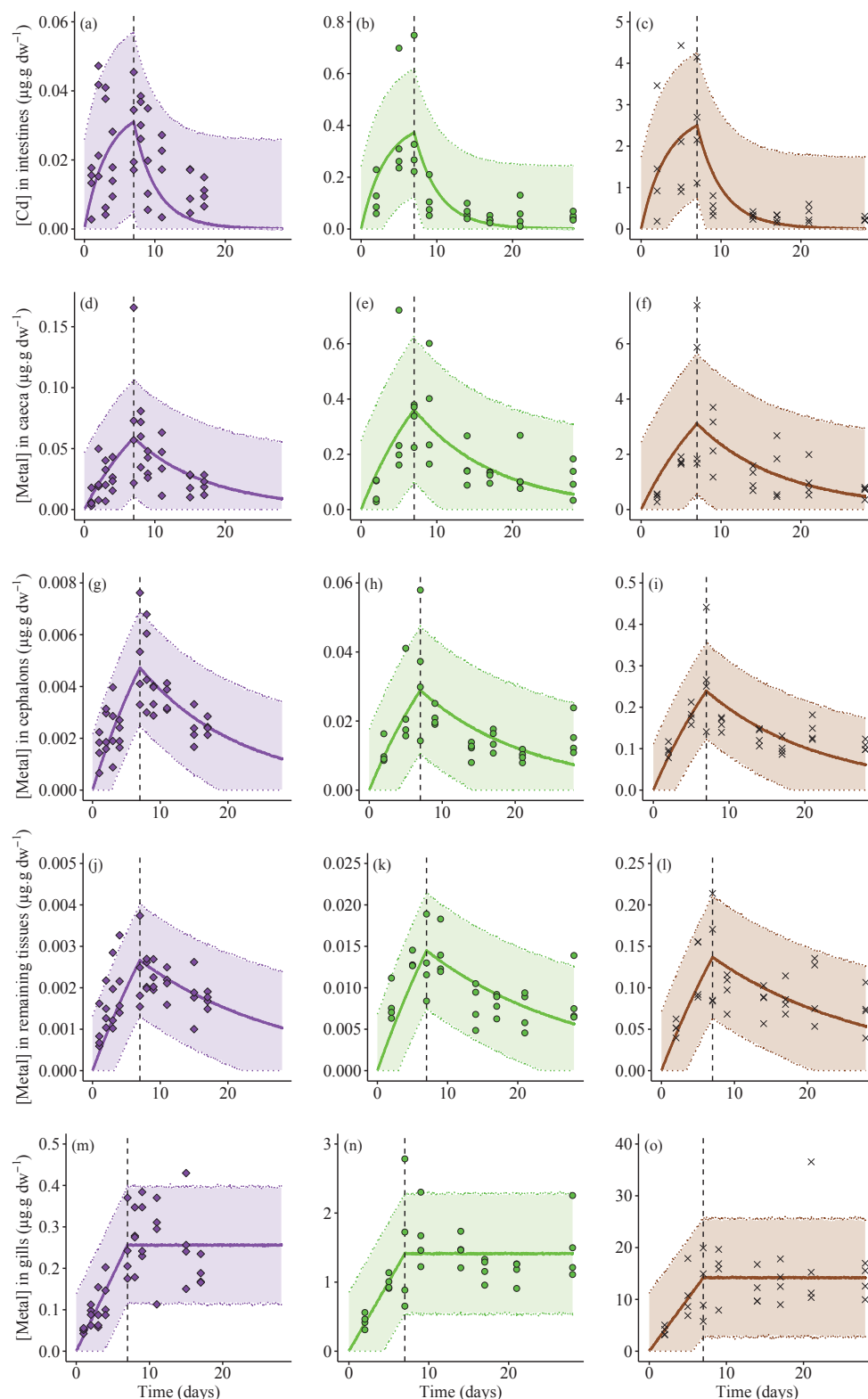


Figure S4. Measured (diamonds) and predicted (solid line for the median and dashed lines for the 95% credible interval) concentrations of metals with the one-compartment model (Eqs. (1), (2) and (S1) to (S12)) for a), b) and c) intestines; d), e) and f) caeca; g), h) and i) cephalons; j), k) and l) remaining tissues; and m), n) and o) gills of gammarids exposed to $4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$ (left column in purple), $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$ (middle column in green) and $350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$ (right column in brown) of Cd during the uptake phase (days 0-7) followed by a depuration phase (days 7-28). These two phases are separated with the black dotted vertical line. Please note that the y-scale differs between the plots.

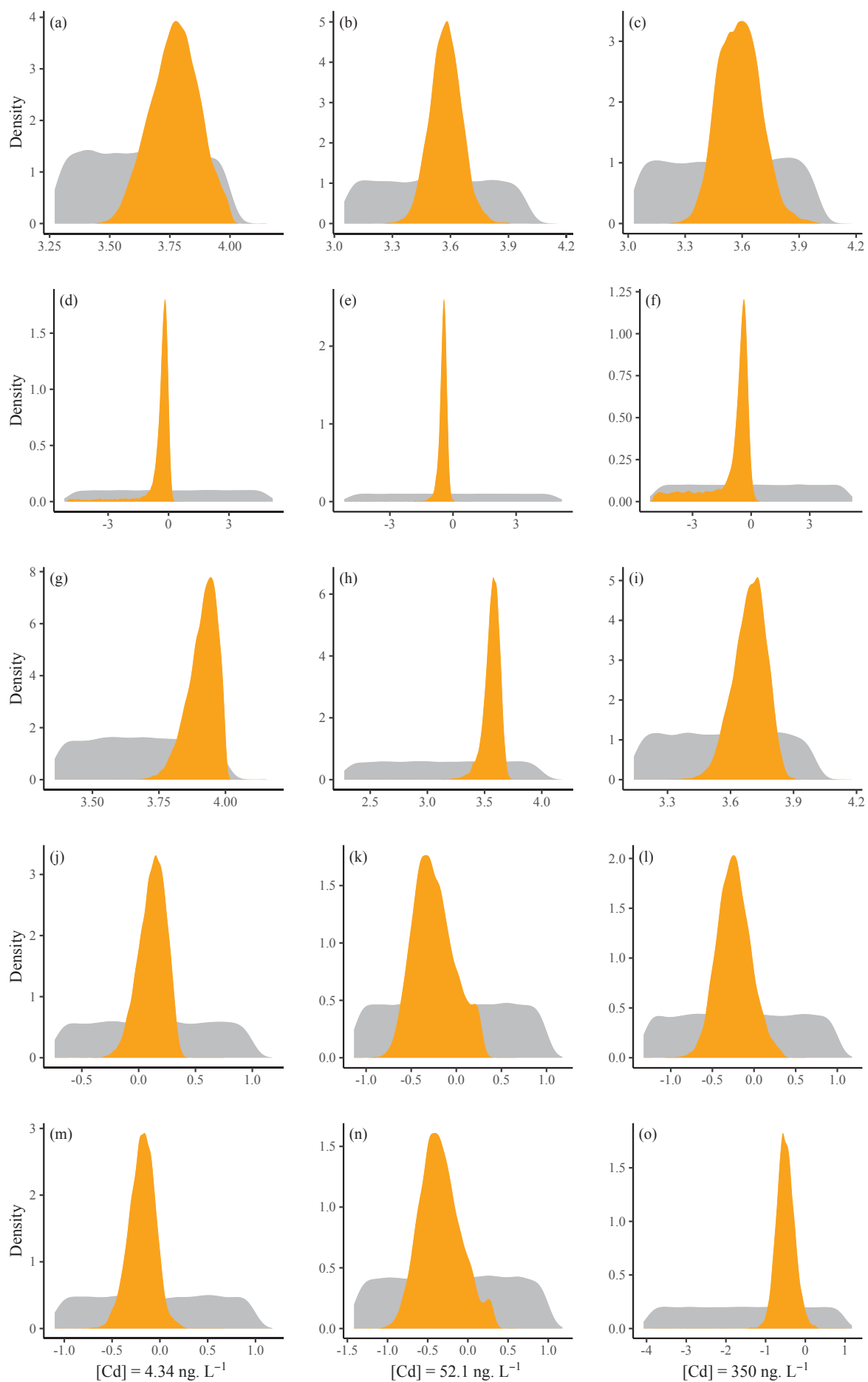
Table S5. Posterior correlations between the parameters $k_{u,i,k}/k_{e,i}$, $k_{u,i,k}/\sigma_{i,k}$ and $k_{e,i}/\sigma_{i,k}$ ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) estimated by one compartment models, for 52.1 ± 27.3 ng Cd.L⁻¹ or 416 ± 264 ng Zn.L⁻¹.

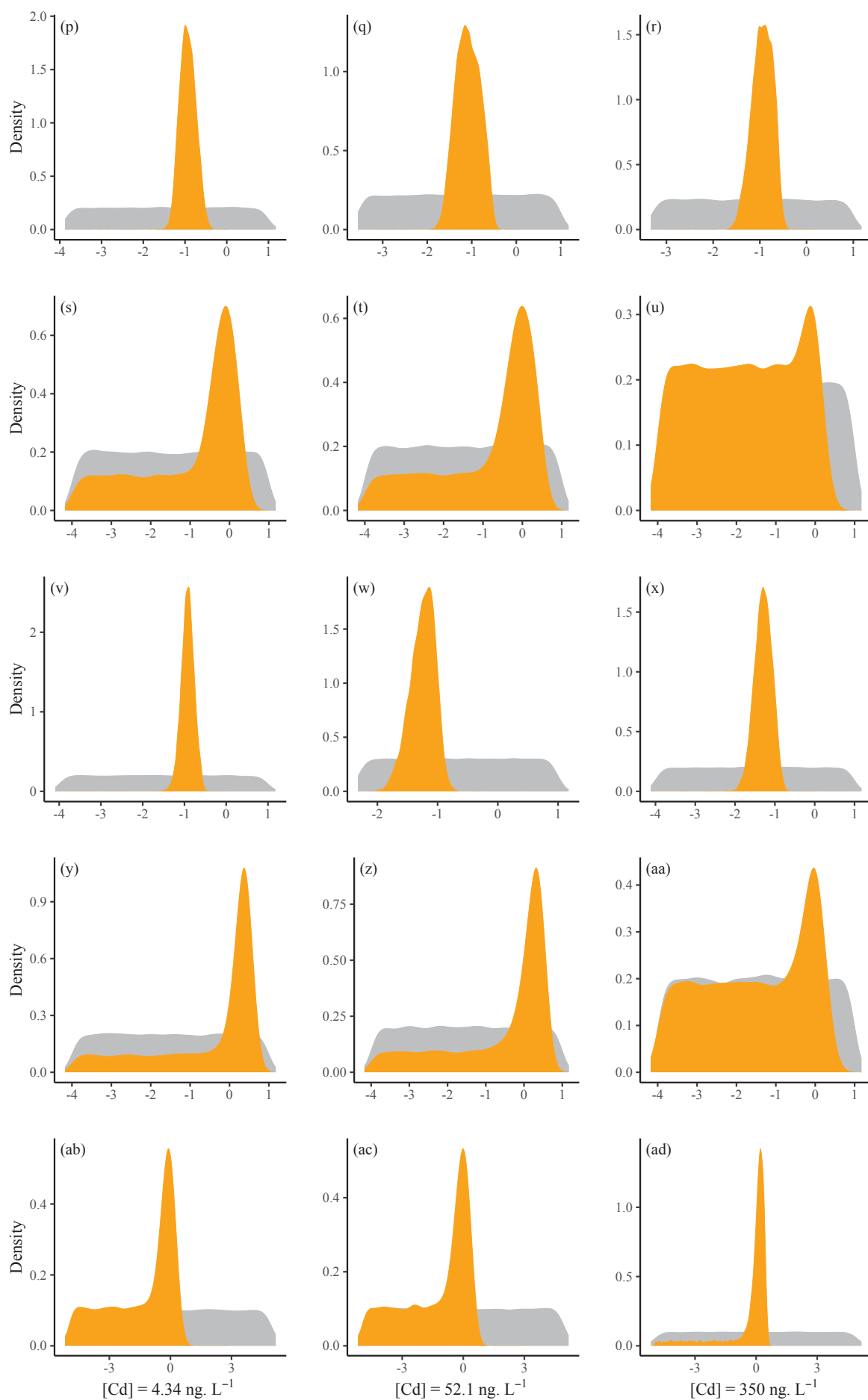
	i = 1 - Intestines	i = 2 - Caeca	i = 3 - Cephalons	i = 4 - Remaining tissues	i = 5 - Gills
$k_{u,4,34}/k_e$		0.650	0.706	0.641	
$k_{u,52,1}/k_e$	0.932	0.638	0.594	0.702	
$k_{u,350}/k_e$		0.593	0.673	0.631	
$k_e/\sigma_{4,34}$	0.231	-0.074	-0.099	-0.120	
$k_e/\sigma_{52,1}$	-0.041	0.067	-0.039	-0.039	
k_e/σ_{350}	-0.185	0.011	0.152	0.157	
$k_{u,4,34}/k_{u,52,1}$		0.414	0.420	0.451	0.002
$k_{u,4,34}/k_{u,350}$		0.382	0.471	0.405	0.000
$k_{u,52,1}/k_{u,350}$		0.378	0.398	0.444	-0.006
$k_{u,4,34}/\sigma_{4,34}$		-0.067	-0.081	-0.084	-0.012
$k_{u,52,1}/\sigma_{4,34}$	0.171	-0.048	-0.056	-0.085	-0.003
$k_{u,350}/\sigma_{4,34}$		-0.046	-0.080	-0.074	0.003
$k_{u,4,34}/\sigma_{52,1}$		0.038	-0.029	-0.028	-0.015
$k_{u,52,1}/\sigma_{52,1}$	-0.023	0.019	-0.041	-0.043	-0.017
$k_{u,350}/\sigma_{52,1}$		0.040	-0.028	-0.030	-0.018
$k_{u,4,34}/\sigma_{350}$		0.007	0.109	0.101	-0.004
$k_{u,52,1}/\sigma_{350}$	-0.144	0.009	0.077	0.105	-0.003
$k_{u,350}/\sigma_{350}$		-0.030	0.077	0.090	-0.030
$\sigma_{4,34}/\sigma_{52,1}$	-0.011	-0.001	0.005	0.008	-0.005
$\sigma_{4,34}/\sigma_{350}$	-0.056	0.000	-0.002	-0.019	-0.005
$\sigma_{52,1}/\sigma_{350}$	0.020	0.002	0.002	0.001	-0.003

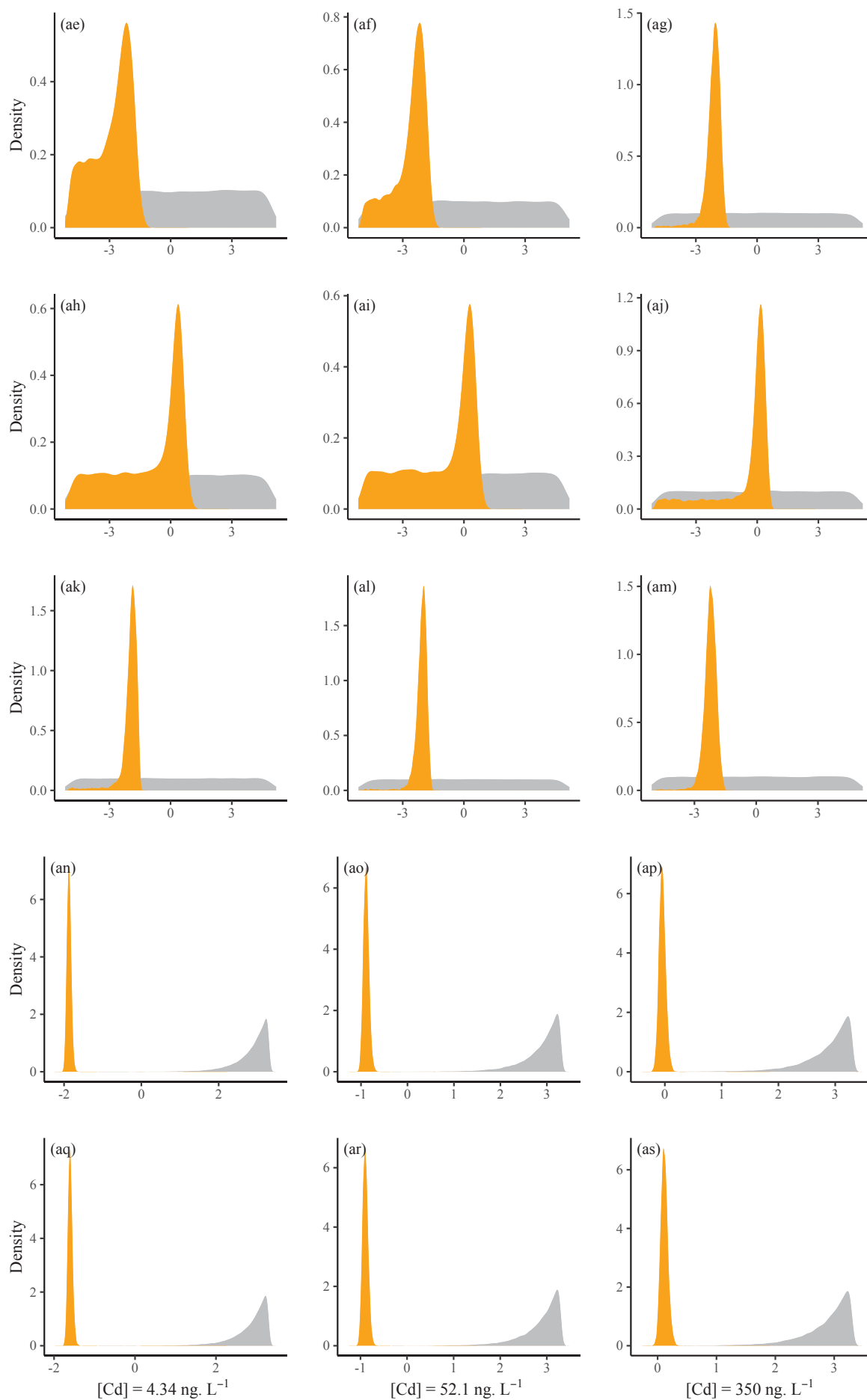


Table S6. Parameters estimates of the TK multi-compartment model (Eqs. (S13) to (S22)) fitted simultaneously to all the organs of *Gammarus fasciatus* exposed to dissolved Cd 7 days before being placed for 21 days in depuration conditions. The parameters $k_{u,2}$, $k_{e,2}$, $k_{u,3}$, $k_{e,3}$, $k_{u,4}$, $k_{e,4}$, $k_{e,5}$, $k_{u,5}$, k_{23} , k_{24} , k_{25} , k_{32} , k_{34} , k_{42} , k_{43} , $k_{5,1}$ and k_{52} are fixed to 0.

Organs linked	Parameters	Priors	[Cd] = $4.34 \pm 3.14 \text{ ng.L}^{-1}$			[Cd] = $52.1 \pm 27.3 \text{ ng.L}^{-1}$			[Cd] = $350 \pm 306 \text{ ng.L}^{-1}$		
			Median	Percentiles		Median	Percentiles		Median	Percentiles	
				2.5 %	97.5 %		2.5 %	97.5 %		2.5 %	97.5 %
Water - Intestines	$k_{u,1}$		6019	3801	9133	3776	2625	5508	3806	2450	6358
Intestines - Water	$k_{e,1}$		0.5683	$2.925\text{e-}4$	1.206	0.3586	0.1100	0.6699	0.2839	$2.639\text{e-}5$	0.9183
Water - Gills	$k_{u,5}$		8397	6161	9817	3757	2513	4697	4964	3347	6668
Intestines - Caeca	$k_{i,2}$		1.354	0.7378	2.084	0.5381	0.2370	1.686	0.5666	0.2463	1.500
Caeca - Intestines	k_{21}		0.6537	0.3384	1.159	0.4343	0.1651	1.623	0.3115	0.1165	0.9341
Intestines - Cephalons	$k_{i,3}$		0.1118	0.05144	0.2767	0.07902	0.02479	0.2524	0.1181	0.03952	0.2724
Cephalons - Intestines	k_{31}	$\log_{10} \text{Unif}(-5,5)$	0.3849	$1.737\text{e-}4$	1.985	0.4322	$1.716\text{e-}4$	2.859	0.01713	$1.294\text{e-}4$	1.464
Intestines - Remaining tissues	$k_{i,4}$		0.1167	0.05634	0.2299	0.05892	0.01983	0.1252	0.05140	0.01786	0.1295
Remaining tissues - Intestines	k_{41}		1.601	$1.910\text{e-}4$	3.628	1.272	$1.966\text{e-}4$	3.626	0.03780	$1.303\text{e-}4$	1.964
Cephalons - Gills	k_{35}		0.2487	$1.7428\text{e-}5$	2.104	0.2774	$1.946\text{e-}5$	2.720	1.307	$8.228\text{e-}5$	3.204
Gills - Cephalons	k_{53}		2.579e-3	$1.413\text{e-}5$	0.02405	3.676e-3	$1.827\text{e-}5$	0.02147	8.181e-3	$7.136\text{e-}4$	0.02237
Remaining tissues - Gills	k_{45}		0.4703	$1.738\text{e-}5$	3.762	0.3064	$1.661\text{e-}5$	3.537	1.0432	$2.927\text{e-}5$	3.223
Gills - Remaining tissues	k_{54}		0.01308	$4.849\text{e-}4$	0.02772	9.332e-3	$1.653\text{e-}3$	0.02017	5.992e-3	$1.167\text{e-}3$	0.01832
Intestines	σ_1		0.01341	0.01079	0.01754	0.1293	0.1007	0.1722	0.9041	0.6983	1.195
Caeca	σ_2		0.02478	0.01991	0.03196	0.1267	0.09919	0.1676	1.287	1.010	1.746
Cephalons	σ_3	Gamma (0.001, 0.001)	1.187e-3	$9.510\text{e-}4$	$1.546\text{e-}3$	8.936e-3	$6.880\text{e-}3$	0.01197	0.05286	0.04100	0.07151
Remaining tissues	σ_4		6.027e-4	$4.834\text{e-}4$	$7.906\text{e-}4$	3.002e-3	$2.338\text{e-}3$	$4.004\text{e-}3$	0.03385	0.02648	0.04583
Gills	σ_5		0.07121	0.05751	0.09113	0.4399	0.3456	0.5836	5.681	4.451	7.577







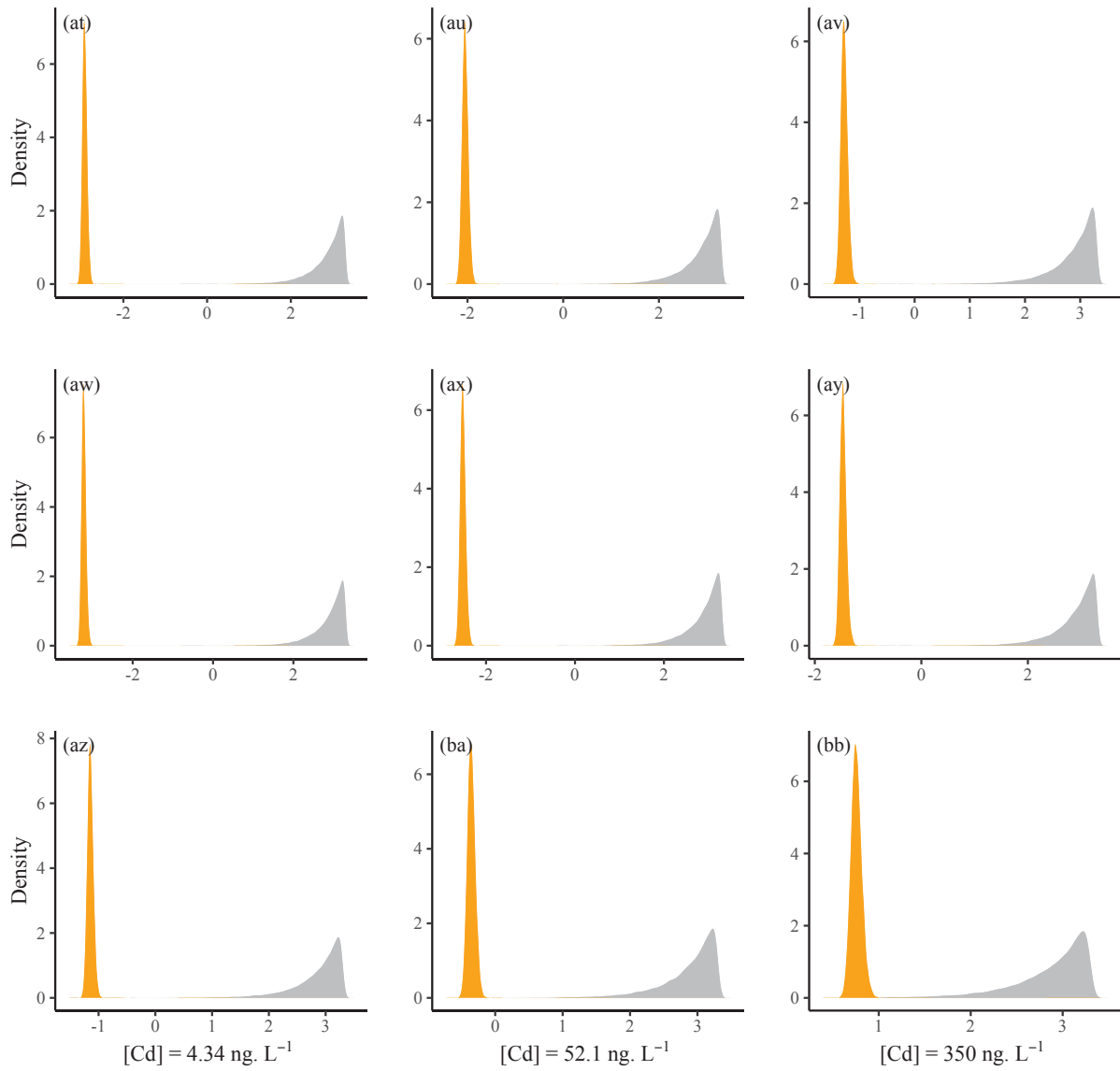


Figure S5. Representation of prior (dark grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the multi-compartment model (Eqs. (3) and (4)) fitted to each organ for Cd data set with: a), b) and c) for $k_{u,1}$; d) e) and f) for $k_{e,1}$; g), h) and i) for $k_{u,5}$; j), k) and l) for k_{12} ; m) and n) for k_{21} ; o), p) and q) for k_{13} ; r), s) and t) for k_{31} ; u), v) and w) for k_{14} ; x), y) and z) for k_{41} ; aa) ab) and ac) for k_{35} ; ad), ae) and af) for k_{53} ; ag), ah) and aj) for k_{45} ; ak), al) and am) for k_{54} ; an), ao) and ap) for σ_1 ; aq), ar) and as) for σ_2 ; at), au) and av) for σ_3 ; aw), ax) and ay) for σ_4 ; and az), ba) and bb) for σ_5 .

Conclusion de l'article

Cette étude a étudié l'influence de la concentration d'exposition, de faibles concentrations d'ordre environnemental, sur les différents mécanismes de bioaccumulation du Cd au niveau des organes du gammare, à travers divers outils. Tout d'abord, par l'approche des BCF, elle montre qu'il n'y a pas d'effet de ces concentrations d'exposition sur l'organotropisme du Cd ou sur les capacités de bioaccumulation des organes. Cependant, la mise en œuvre d'une approche plus dynamique, *via* l'implémentation de modèles TK, a montré des cinétiques d'accumulation différentes en fonction de la concentration d'exposition pour tous les organes à l'exception des intestins, avec un taux d'accumulation plus élevé pour la plus faible concentration d'exposition testée (i.e 4 ng.L⁻¹) que pour les deux plus élevées (i.e 52 et 350 ng.L⁻¹). Contrairement à tous les autres organes, les intestins ont montré un taux d'accumulation indépendant de la concentration externe de Cd, qui est resté constant pour les trois concentrations d'exposition. Mis à part le cas particulier des branchies, qui ne dépurent pas (i.e. $k_e = 0$), tous les autres organes présentent des taux d'élimination indépendants de la concentration, c'est-à-dire qui restent constants quelle que soit la concentration d'exposition, dans la gamme de concentrations testée ici. Il en résulte un schéma global de gestion du Cd entre les organes, qui s'avère être le même pour les trois concentrations d'exposition testées. Pour finir, notre étude montre, entre autres, l'importance de mettre en œuvre des approches TK pour obtenir une meilleure compréhension des mécanismes d'accumulation, d'élimination, d'échanges inter-organes et donc du devenir des métaux dans l'organisme des invertébrés, afin d'améliorer les connaissances concernant les mécanismes impliqués dans leur toxicité.

Afin de mieux comprendre les mécanismes de bioaccumulation ayant lieu dans l'environnement, il pourrait être intéressant d'aller plus loin en s'intéressant à l'impact de la voie trophique dans l'accumulation, la distribution, l'élimination et le devenir du Cd chez les gammarès.



Chapitre V : Organotropisme, toxico-cinétique et devenir du Cd après une exposition par la voie trophique, chez le gammare

Préambule

En 2015, [Urien](#) souligne le fait que « certains auteurs soutiennent l'importance de la voie trophique dans l'internalisation et dans la toxicité des métaux chez les organismes aquatiques », bien que la littérature ne fasse pas consensus sur le sujet. Elle déplore par la suite que l'étude de la voie trophique concentre peu de données du fait de la difficulté analytique lourde nécessitant des techniques plus pointues, comme l'utilisation de radio-isotopes.

L'objectif du chapitre suivant est de tirer avantage de l'utilisation du ^{109}Cd afin de déterminer les processus ADME de la voie trophique, notamment pour établir si les branchies sont une voie d'élimination ou de stockage du Cd, et quelle est la contribution relative de la contamination par voie trophique, par rapport à la voie dissoute, dans l'organotropisme et la toxico-cinétique de cet ETM.

L'efficacité d'assimilation (AE) est un paramètre indispensable à l'implémentation d'un modèle TK dans le cas d'une contamination par la voie trophique ; qui de plus s'avère être spécifique de l'espèce, du contaminant et du type de nourriture étudiés ([Ratier, 2019](#); [Urien, 2015](#)). Cependant, à notre connaissance, une seule étude fait référence à l'AE du Cd pour les organismes d'eau douce du genre *Gammarus*. En 2014, [Pellet et al.](#) ont mesuré de manière indirecte l'efficacité d'assimilation de différents métaux chez l'espèce *Gammarus pulex*, en utilisant des ratios d'isotopes stables. Cependant, ils soulignent dans leurs résultats une grande incertitude autour de la valeur calculée et une potentielle surestimation de l'efficacité d'accumulation déterminée pour le Cd. Il a donc, dans un premier temps, été nécessaire d'estimer l'AE du Cd chez l'espèce *Gammarus fossarum*, avant de mettre en place les expérimentations de contamination par la voie trophique. Pour cela, des disques de feuilles d'aulne calibrés ont préalablement été contaminés avec du ^{109}Cd afin d'obtenir l'efficacité d'assimilation chez *G. fossarum*. Le suivi de l'élimination de cette quantité ingérée par les gammarus après un pulse de contamination (i.e. une prise unique de nourriture contaminée sur un court laps de temps) a été effectué pendant les treize jours suivants, sur les organismes entiers vivants.

Afin de déterminer la contribution relative de la voie trophique, une nouvelle expérimentation a été mise en place (Partie I.), reprenant les mêmes caractéristiques générales que les précédentes (Chapitres III et IV). La différence réside dans le fait que lors de la phase d'exposition : i) les gammarus ont été placés en eau propre (i.e. non contaminée) ; ii) la contamination a été effectuée

de manière continue pendant six jours par une mise à disposition constante de disques de feuilles d'aulne contaminés au ^{109}Cd ; et iii) la phase de dépuración (c.-à-d. eau propre et nourriture propre, sans contaminant) a duré douze jours.

Ce chapitre se décompose en deux parties : la partie I présente « l'estimation de l'efficacité d'assimilation du Cd chez *G. fossarum* » et la partie II les résultats de la contamination par voie trophique, présentés sous la forme d'un article intitulé « Bioaccumulation, organotropism and fate of cadmium in *Gammarus fossarum* exposed through trophic pathway » et qui sera soumis très prochainement dans Environmental Science & Technology.

I. Estimation de l'efficacité d'assimilation du Cd chez G. fossarum

Afin de déterminer les valeurs d'efficacité d'assimilation (AE) en laboratoire, l'utilisation de traceurs isotopiques (stables et radioactifs) est largement utilisée et adaptée à la mise en place d'expérimentation par « pulse-chase-feeding ». Cette approche consiste à exposer en une fois un organisme à un aliment contaminé et à suivre la dépuración du traceur en fonction du temps (Pellet et al., 2014; Wang et Fisher, 1999a). Dans le cas de la contamination par les métaux, l'utilisation d'isotopes radioactifs γ comme traceurs est l'un des outils les plus pertinents, du fait de la sensibilité de détection qu'ils offrent sans destruction de l'échantillon, donc sur organisme vivant (Wang et Fisher, 1999a). De plus, il est conventionnellement admis que les isotopes radioactifs des métaux possèdent des caractéristiques identiques à leurs homologues stables (Warnau et Bustamante, 2007). Enfin, ils donnent la possibilité de mesurer uniquement la fraction de métal ingérée, en s'affranchissant du bruit de fond métallique déjà présent dans le milieu et/ou dans les organismes (Cresswell et al., 2017b). L'ajustement d'un modèle cinétique permet ensuite de déterminer le taux d'élimination (k_e) et l'AE, souvent définie comme étant métal- et espèce-spécifique. Lorsque les métaux sont ingérés par la voie trophique, leur élimination suit la plupart du temps un motif biphasique pouvant être représenté à l'aide de deux taux d'élimination différents : i) un taux d'élimination à court terme, caractérisant l'élimination de la fraction métallique considérée comme étant non assimilée et dépurée rapidement ; et ii) un taux d'élimination à plus long terme, caractérisant l'élimination de la fraction métallique assimilée et dépurée plus lentement (Gagnon et Fisher, 1997; Roditi et Fisher, 1999; Wang et Fisher, 1999a; Wen-Xiong et Fisher, 1996).

À notre connaissance, il n'existe pas dans la littérature de données établies sur l'efficacité d'assimilation du Cd chez l'espèce *G. fossarum*. Néanmoins, il existe des données d'AE du Cd pour l'espèce *G. pulex* estimée entre 5 et 47% après ingestion de feuilles contaminées (Pellet et al., 2014). Cependant, il est connu que ces valeurs peuvent différer d'une espèce à l'autre (Croteau et Luoma, 2009, 2008; Van Campenhout et al., 2009).

Dans ce cadre, l'objectif de cette expérimentation était de déterminer l'efficacité d'assimilation et les taux d'élimination du ^{109}Cd chez l'amphipode *G. fossarum*, après une prise alimentaire unique de disques feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) radiomarqués.

Pour cela, 22 gammarus ont été nourris pendant une courte période de temps (3 à 5h) avec des feuilles d'aulne contaminées par du ^{109}Cd (Figure V-1). Sur les 22 gammarus, les 14 ayant la plus grande quantité de ^{109}Cd , en Becquerel, ont ensuite été placés dans un milieu propre avec de la nourriture non contaminée (c.-à-d. sans ^{109}Cd) pour une période de treize jours (Figure V-1). À différents pas de temps (3,6 ; 23 ; 27 ; 52 ; 72 ; 143 ; 240 et 309 heures), les gammarus ont été placés vivants un par un sur le détecteur afin d'analyser, par spectrométrie γ , la quantité de ^{109}Cd restante dans chaque individu (Figure V-1). Les données d'activité obtenues aux différents pas de temps ont été transformées en pourcentage de quantité restante par rapport à l'activité totale mesurée à t_0 .

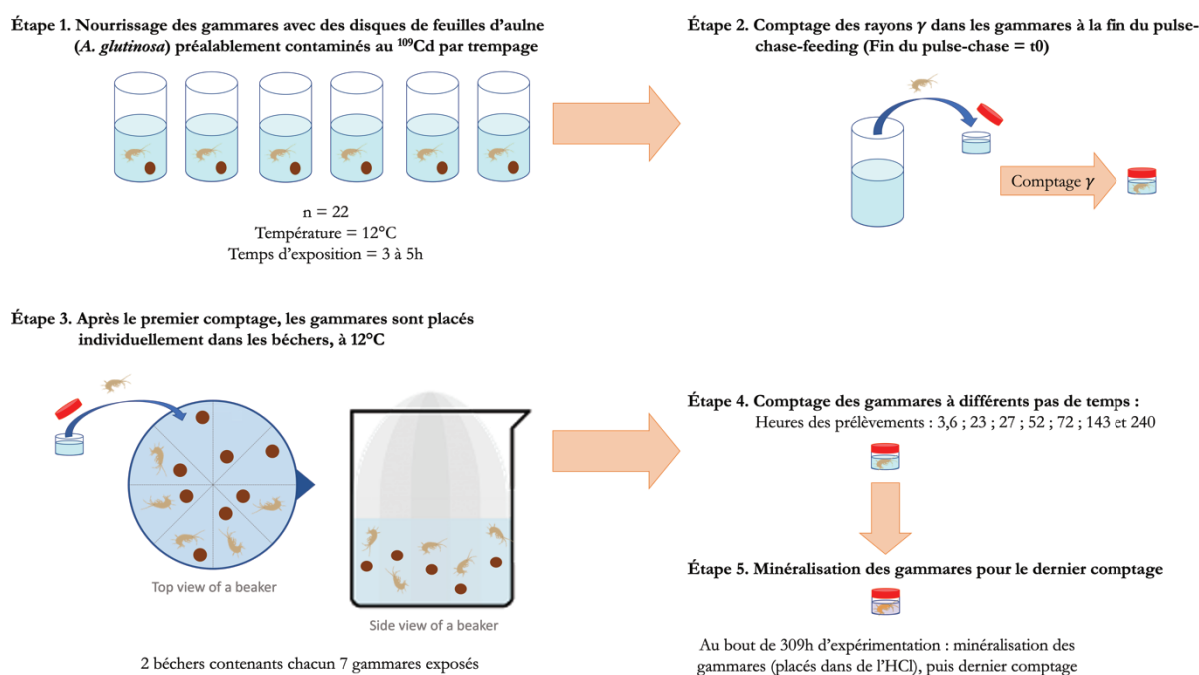


Figure V-1. Illustration des différentes étapes des expérimentations effectuées par pulse-chase-feeding, afin de déterminer l'efficacité d'assimilation et les taux d'élimination du cadmium chez *Gammarus fossarum*.

L'efficacité d'assimilation du Cd ainsi que ses taux d'élimination ont été estimés par une approche non linéaire des moindres carrés, sous le logiciel R (avec le package nlstools), selon l'équation exponentielle à double composante suivante (Héduin et al., 2010a) :

$$A(t) = (100 - AE) \times e^{-k_{es} \times t} + AE \times e^{-k_{el} \times t} \quad (1)$$

avec $A(t)$ l'activité radioactive restante dans le gammarus (%) au temps t , AE l'efficacité d'assimilation, k_{es} le taux d'élimination à court terme et k_{el} le taux d'élimination à plus long terme.

Nos résultats indiquent que l'efficacité d'assimilation du Cd est de $39 \pm 3,2\%$ lorsque les gammarès sont nourris avec des feuilles d'aulne contaminées (Figure V-2). L'allure de la courbe obtenue montre que chez le gammaré l'élimination du Cd ingéré suit bien une digestion biphasique, avec une fraction ingérée par l'organisme qui s'élimine rapidement, selon un k_{es} estimé à $0,15 \pm 0,027 \text{ j}^{-1}$, et une autre fraction de Cd, supposée comme étant assimilée par l'organisme, qui s'élimine 26 fois plus lentement, avec un k_{el} de $0,0058 \pm 0,0010 \text{ j}^{-1}$ (Figure V-2).

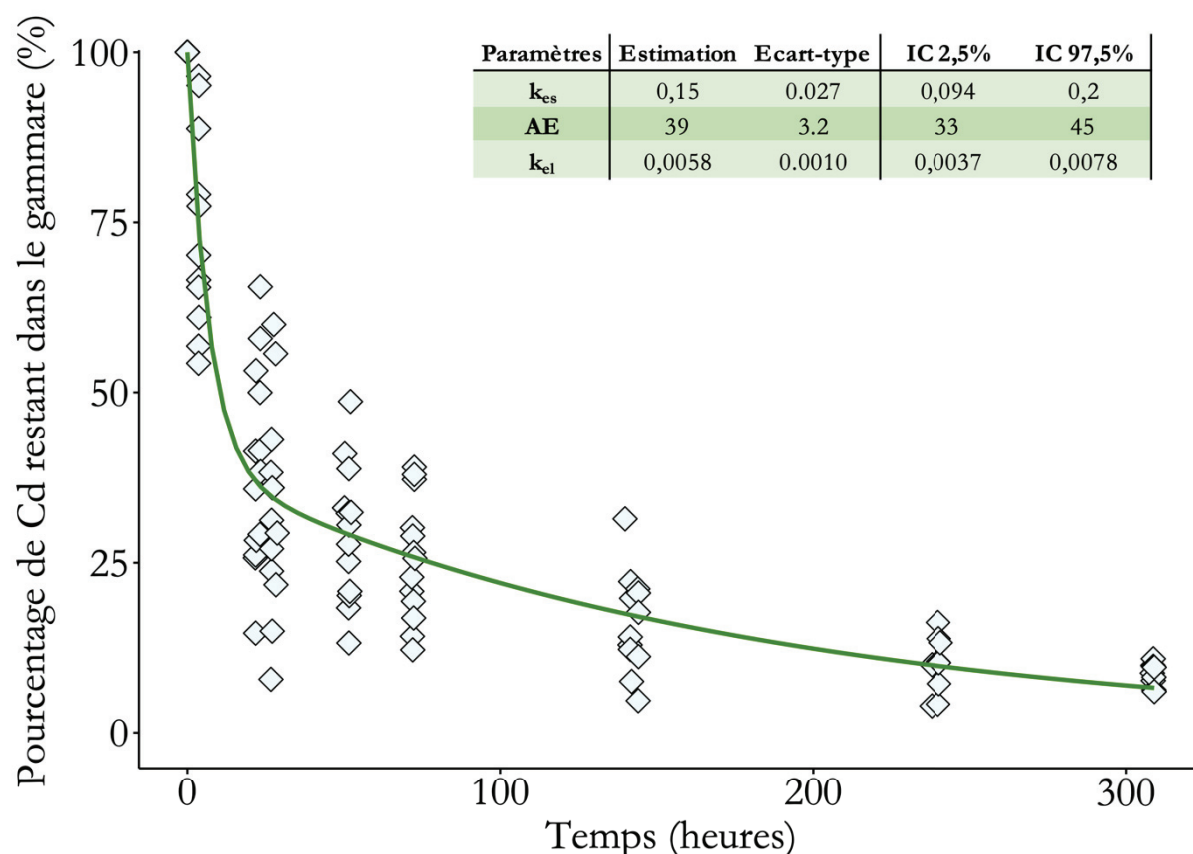


Figure V-2. Graphique représentant les pourcentages de ^{109}Cd restant dans les gammarès (%) en fonction du temps écoulé en heures. Les losanges représentent les données obtenues par la mise en place du dispositif de pulse-chase-feeding et la courbe verte représente la médiane prédite par le modèle (Eq. 1). Le tableau en haut à droite du graphique indique les valeurs estimées des paramètres k_{es} , AE et k_{el} , mais également leur écart-type et les valeurs bornant l'intervalle de confiance à 95% (IC 2,5 et IC 97,5%) de chaque paramètre.

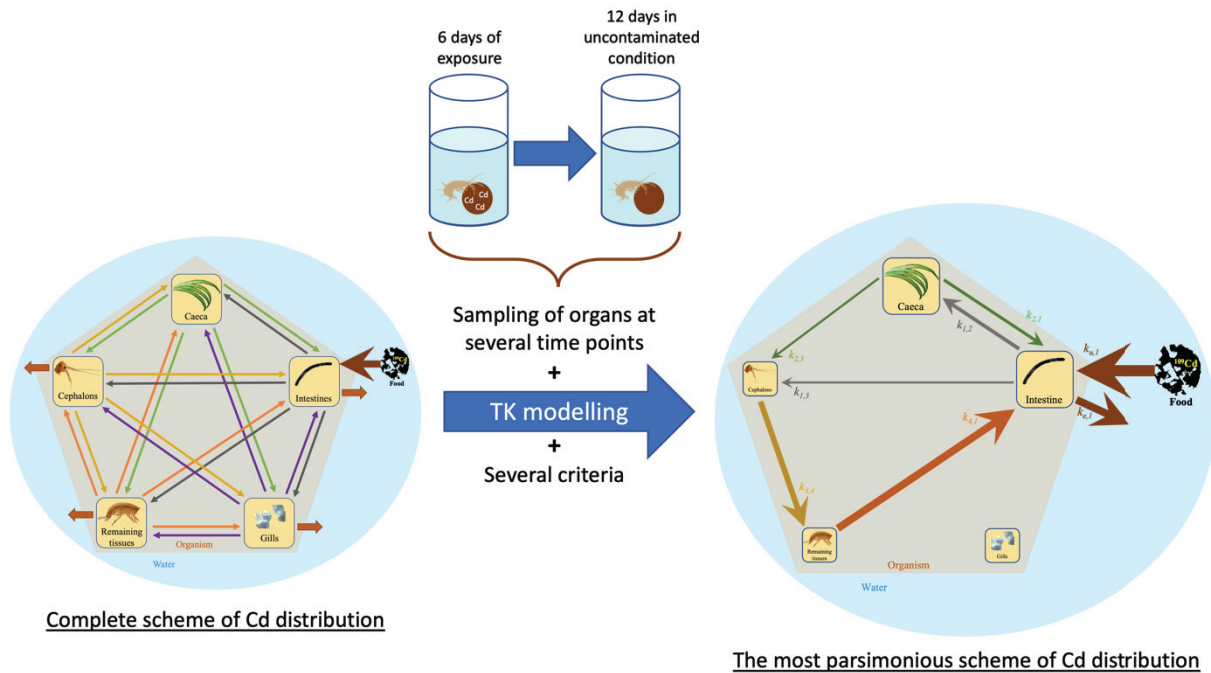
Ces résultats ont été obtenus dans le cadre d'une série d'expérimentations en pulse-chase-feeding cherchant à étudier l'influence : i) du métal et ; ii) de la nature de la nourriture/proie contaminée ; sur l'AE et les taux d'élimination k_{es} et k_{el} . Les résultats de ces expérimentations obtenus pour trois métaux (Ag, Cd, et Zn) et deux types de nourriture (feuilles d'aulne et larves de chironomes) feront l'objet d'une publication à part entière. Ces expérimentations ayant été effectuées sur organisme entier et dans un objectif de développement méthodologique, il a été choisi de ne pas les inclure dans ce manuscrit se focalisant sur le niveau d'organisation des organes/tissus du gammaré.

II. Influence de l'accumulation du Cd par la voie trophique sur son organotropisme, sa toxico-cinétique et son devenir chez le gammaré

Article n°5

Bioaccumulation, organotropisme and fate of cadmium in *Gammarus fossarum* exposed through trophic pathway.

Résumé illustré



Faits marquants

- Importance de l'axe Intestin-Caecas dans la bioaccumulation du Cd par voie trophique
- Absence d'accumulation de Cd dans les branchies tout au long de l'expérimentation
- Intérêt d'implémenter des données comme le taux d'ingestion lorsqu'il n'est pas constant
- L'intestin est le seul organe à éliminer le Cd vers le milieu extérieur
- Obtention d'un schéma de distribution et du devenir du Cd différent que celui obtenu préalablement pour la voie trophique

Résumé de l'article, en français

Le but de cette étude était d'évaluer l'organotropisme du Cd et ses processus ADME après une exposition trophique chez l'espèce *G. fossarum*. Des gammarés mâles adultes ont été nourris pendant six jours avec des disques de feuilles d'aulne contaminés au ^{109}Cd , puis pendant douze jours avec des feuilles d'aulne propres (c.-à-d. non contaminées). Tout au long de ces deux phases respectives



d'accumulation et de dépuration, les gammares ont été collectés, disséqués pour séparer leurs organes et les concentrations de Cd ont été déterminées par spectrométrie gamma. La contribution relative des organes ainsi que leurs BMF respectifs ont été estimés. En outre, le taux d'ingestion (IR) pendant la phase d'exposition a été déterminé quotidiennement en mesurant la surface des feuilles consommées toutes les 24 h. Un modèle TK multi-compartiments complet a également été développé, associé à un processus d'inférence itératif pour sélectionner le modèle multi-compartiments le plus parcimonieux qui s'adapte le mieux à tous les ensembles de données d'organes simultanément. Les valeurs de RI ont été divisées par trois entre le 2^{ème} et le 6^{ème} jour d'exposition, ce qui indique que la pression d'exposition a diminué au cours de cette période. Les résultats ont montré que : i) les intestins et les caeca bioconcentrent le plus le Cd ; ii) les branchies ne semblent pas jouer un rôle dans la gestion du métal (c.-à-d. son stockage ou son élimination), car aucun Cd n'y a été quantifié ; iii) l'élimination du Cd dans le milieu environnant ne se produit que par l'intestin ; et iv) le schéma global de gestion du Cd alimentaire diffère fortement de celui qui suit une exposition par la voie dissoute.

Mots-clés

Amphipodes

Métal

Transfert trophique

Feuilles d'aulne

Modèles TK multi-compartiments

Inférence Bayésienne

Bioaccumulation, organotropism and fate of cadmium in *Gammarus fossarum* exposed through dietary pathway

Abstract

The aim of this study was to assess Cd organotropism and ADME processes following trophic exposure in the species *G. fossarum*. Adult male gammarids were fed with ^{109}Cd contaminated alder leaves discs for 6 days, and then fed with clean (i.e. non contaminated) alder leaves for 12 days. Throughout these two respective phases of exposure and depuration, gammarids were collected, dissected to separate their organs and Cd concentrations of Cd were determined by gamma spectrometry. The relative contribution of organs and their respective BMFs was estimated. In addition, the ingestion rate (IR) during the exposure phase was determined daily by measuring the leaves surface consumed every 24h. A complete multi-compartments TK model was also developed, associated to an iterative inference process to select the more parsimonious multi-compartments model that best fits all organ datasets simultaneously. The IR values was divided by 3 between the 2nd and 6th day of exposure, indicating that the exposure pressure decreased during this period. The results showed that: i) intestines and caeca bioconcentrate Cd the most; ii) gills do not appear to play a role in metal handling (i.e. storage or elimination), as no Cd was quantified there; iii) Cd elimination to the surrounding medium occurs only through intestine; and iv) the global pattern of dietary Cd handling strongly differed from the one following dissolved exposure.

Keywords: Amphipods, Metal, Trophic transfer, Alder leaves, Multi-compartments TK model, Bayesian Inference

Introduction

Cadmium (Cd) is a non-essential metal element found in aquatic environments, through natural (e.g. volcanism, geochemical background) and/or anthropogenic (e.g. industrial and agricultural activity) releases (Zhang and Reynolds, 2019). The Cd exposure of aquatic organisms can induce a wide range of toxic effects, including the production of reactive oxygen species and DNA damage at the sub-cellular level (Ren et al., 2019). The Cd can also disrupt the osmoregulation resulting potentially to lethal consequences (Dayras et al., 2017; Felten et al., 2008; Issartel et al., 2010; Jakob

et al., 2017). This metal is considered as toxic at very low concentrations and persistent in aquatic environments (Duan et al., 2021; Taylor, 1983; Zhou et al., 2008). This established toxicity makes of Cd a priority substance by the Water Framework Directive (WFD) and, in this context, its presence is monitored in aquatic environments (EC, 2000).

Commonly, the gammarids *Gammarus fossarum* are freshwater aquatic invertebrates known to bioaccumulate metals from their environment (Pellet et al., 2014; Wang and Fisher, 1999a). They fulfill the characteristics of sentinel species since they are abundant, widely distributed in Europe, easily manipulable, and they occupy a key place in food webs as detritivores recycling organic elements (Besse et al., 2013; Chaumot et al., 2015; Filipović Marijić et al., 2016; Kunz et al., 2010; Lebrun et al., 2017). The bioaccumulation of Cd has already been studied at the level of whole organism considering both dissolved and trophic way in the related species *Gammarus pulex*. More recently, the accumulation at the level of the organs was investigated in *Gammarus fossarum* only exposed to dissolved Cd (Gestin et al., 2022; Pellet et al., 2014, 2009; Serdar et al., 2019).

The dominance of the trophic pathway in Cd accumulation in the clams *Corbicula fluminea* and *Macoma Balthica* has been demonstrated, while in the species *Hyallela azteca*, Cd is equally accumulated both by the trophic and dissolved pathways (Borgmann et al., 2007; Croteau et al., 2005). In the genus *Gammarus*, it has been shown that the trophic pathway would mainly contribute to the Cd accumulation (Pellet et al., 2014). However, today, there is no real consensus on whether accumulation occurs generally by one or the other pathway in organisms (Timmermans et al., 1992; Urien et al., 2016; Weeks and Rainbow, 1993). Nevertheless, it is now commonly accepted that organisms can accumulate metals via both the dissolved and dietary fractions. Beyond the fact that trophic pathway could be (pre)dominant on the dissolved one in term of bioaccumulation capacities, the exposure through contaminated food could affect the metal organotropism as previously demonstrated mainly in fish and invertebrates (Franco-uría et al., 2010; Metian et al., 2007). Thus, during a contamination through a trophic pathway, Cd displayed the highest concentrations in the gastro-intestinal system, including the intestine, the kidneys and the liver for *Oncorhynchus mykiss* (Franklin et al., 2005; Ng and Wood, 2008; Szebedinszky et al., 2001). In invertebrates, the crustacean *Cancer pagurus* accumulates 94% of the dietary Cd in its hepatopancreas and the pectinidae *Chlamys varia* and *Pecten maximus* accumulates, respectively, 97 and 82% of the dietary Cd in their digestive glands (Wiech et al., 2018). This organ distribution contrasts with that classically observed following the waterborne exposure, during which metals mostly accumulate in the gills and the liver (or equivalent) for fish and invertebrates (Baldisserotto et al., 2004; Franklin et al., 2005; Huang et al., 2020; Ma et al., 2008; Metian et al., 2007; Szebedinszky et al., 2001; Wiech

et al., 2018). This difference of tissue distribution pattern results logically to the fact that the most contaminated organs are those in direct contact with the Cd source (e.g. gills as exchange surface with contaminated water or intestine and caeca, as digestive organs involved in the assimilation of metal enriched food). However, these studies showing these contrasted distributions have generally been carried out on data collected at the end of an exposure period (dissolved Cd exposure or following a pulse chase feeding of Cd-enriched food), consisting to a static approach of the organotropism. A dynamic approach could allow to reveal links between the organs, delineating the metal metabolism and providing clues on the role of organs with respect to Cd handling. Today, the lack of data resulting from trophic pathway contamination in gammarids makes difficult the understanding of the physiological mechanisms governing the bioaccumulation of dietary Cd.

The organotropism of a trace element (i.e. the processes by which the metal is preferentially or quasi-exclusively taken up and/or stored and/or eliminated by specific organs) is usually assessed through basic approaches to compare the bioaccumulation capacities of each organ. The first one consists of evaluating the relative proportion of the metal in each organ compared to the total burden of the organism. This method is widely used in vertebrates and invertebrates, on organisms collected *in situ* or under laboratory experiments, to study the contribution of each organ with respect to the bioaccumulation in the whole body (Amyot et al., 1996; Dutton et Fisher, 2011; Huang et al., 2020; Lacoue-Labarthe et al., 2009; Lanctôt et al., 2017; Ma et al., 2008; Mok et al., 2014; Polak-Juszczak et Góra, 2019). The second approach, used in regulatory guidelines, consists in calculating bioaccumulation metrics, such as accumulation factors (Ratier et al., 2022b, 2022a), expressing the internal concentration normalized by the exposure concentration. Regarding the trophic pathway, the biomagnification factor (BMF) is the contaminants concentration in an organism, a tissues or an organ, rationalized by the concentration of the contaminant in the prey/food (Liu et al., 2019; Maculewicz et al., 2020; Van Den Brink et al., 2019). If these two approaches are widely used in the literature, they represent only a static view (at a given time) of the bioaccumulation processes. However, bioaccumulation is a complex kinetic activity governed by the ADME (Assimilation, Distribution, Metabolization/Methylation and Elimination) processes (Stadnicka et al., 2012). The implementation of mathematical models such as multi-compartments toxico-kinetic (TK) models or physiologically based toxico-kinetic (PBTK) models allows to formalize ADME processes, as well as to understand the role of organs in internal processing during time (Franco-uría et al., 2010; Grech et al., 2017; Stadnicka et al., 2012; Wang et al., 2017; Wang et Wang, 2015). Today, the multi-compartments (PB)TK models, especially for scenarios involving trophic accumulation, have been relatively poorly used and have been developed mainly for organic compounds in fish (Grech et al., 2019, 2017; Stadnicka et al., 2012;

Wang et Wang, 2016). However, for Cd, the estimation of Cd exchanges among the internal organs by PBTK models in trout *Oncorhynchus mykiss* and carp *Cyprinus carpio*, showed an underestimation of the accumulation of the metal in the liver and kidney evaluated by « conventional » approaches, due to the saturation that occurs in these organs (Franco-uría et al., 2010). In the fish *Tetraodon lineatus*, the transfer rates of mercury (Hg) between liver and blood demonstrated that the liver plays an important role in the distribution of Hg within the organism and the carcass, mainly composed of muscles, plays a role of sink for Hg (Wang and Wang, 2015). Moreover, in this fish, the use of PBTK models clarified the role of organs in the ADME processes, highlighting in particular the role of the gills in the elimination of dietary Hg (Wang and Wang, 2015). In the gammarids *Gammarus fossarum* the implementation of multi-compartment TK models has recently been applied to datasets of Cd concentration in the organs following an exposure to dissolved Cd exclusively (Charles et al., 2022; Gestin et al., 2021; Gestin et al., *under review*), revealing: i) the intestine as the pathway for Cd accumulation, elimination and distribution to other organs; ii) the caeca as the storage organ; and iii) the gills as a tissue of Cd uptake and storage, not involved in the elimination mechanisms and almost disconnected from the other compartments of the organism (Gestin et al., 2021; Gestin et al., *under review*).

In this context, the objective of our study is to improve the knowledge of bioaccumulation, organotropism and fate of Cd accumulated through a dietary pathway, in the gammarid *G. fossarum*. For this purpose, adult male were exposed to alder leaves contaminated with radio-labelled ^{109}Cd for 6 days, before being placed with clean food and clean water for 12 days. Throughout these two phases, gammarids were regularly collected and dissected to quantify the concentration of Cd in each organ. Thus, the relative contribution of each organ and BMFs were estimated at different sampling time, and a multi-compartment TK model fitted to the data to assess dietary Cd organotropism and ADME processes.

2. Material and methods

2.1 Origins, collection and maintaining of gammarids and alder leaves

Adult males of *Gammarus fossarum* were collected in an unpolluted former cress pond (Saint-Maurice-de-Rémens, France), before being calibrated to 22.1 ± 1.3 mg wet weight (ww). Then, gammarids were sent to LIENSs laboratory (La Rochelle) where they were kept at a temperature of $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$, under constant bubbling in Evian® water (see characteristics in Table S1), fed *ad libitum* with alder leaves (from *Alnus glutinosa*), and under a dark/light cycle of 8:16h for a period of 10 days to be acclimated.

On a clean site (Les Ardillats, France), alder leaves (*A. glutinosa*) were collected, and transported to the ecotoxicology laboratory of INRAE Lyon-Villeurbanne to be leached in order to eliminate the tannins they contained (i.e. soaked in well water for several days, with regular renewal of the water). Then, avoiding the large veins, the wet leaves were punched into 20 mm diameter discs. At last, the discs were placed in a teflon bottle filled with well water (see characteristics in [Table S1](#)) before being transferred to the LIENSs laboratory premises.

2.2 Contamination of alder leaves

The decontamination of lab materials and rearing was made all along the experiment, using 1/10 diluted detergent (Decon[®] 90 solution) and 1/10 diluted HCl solution (Hydrochloric acid S.G. 32%, certified AR for analysis; Fischer Scientific[®]) in distilled water. The ¹⁰⁹Cd carrier-free solution (CdCl₂; 0.1M HCl) was purchased in Eckert & Ziegler Isotope Products Inc., Valencia, USA. The stock solution of ¹⁰⁹Cd was diluted (0.1M HCl) into an intermediate solution in order to reach an appropriate radioactivity in water for the alder leaves radiolabelling. Thus, 375 leaf discs were contaminated by soaking. All of them were distributed among 25 Cauberes[®] tubes (36 mm diameter and 75 cc; with 15 discs per tube), containing 15 mL of Evian[®] water contaminated with a concentration of 200 Bq.mL⁻¹ of ¹⁰⁹Cd for 7 days. Then the discs were rinsed with clean Evian[®] water and placed in new clean Cauberes[®] tubes (36 mm diameter and 75 cc; with 15 discs per tube) and 15 mL of clean Evian[®] water for 7 days, with a renewal every two days, in order to remove the weakly adsorbed and potentially remobilizable portion of radioisotopes during gammarid exposure.

2.3 Contamination of gammarids by dietary pathway

Two days before the beginning, gammarids were transferred in beakers where they were separated individually in hand-made baskets to avoid cannibalism (Gestin et al., 2022), and were starved for 2 days. Each beaker contained 8 gammarids (for a total of gammarids of n = 208) and was filled with uncontaminated Evian[®] water (i.e. without radiotracer). The experimental protocol included two phases. First, during the 6-day accumulation phase, each gammarid was exposed *ad libitum* to discs of alder (*Alnus glutinosa*) leaf previously contaminated with ¹⁰⁹Cd (0.585 µg of Cd.mg of alder leave⁻¹). Then, the gammarids were transferred to clean (i.e. without radiotracer) baskets and beakers, filled with clean water and were fed with uncontaminated leaves, for a 12-day elimination phase. At different sampling time (days 2, 4, 6, 8, 11, 14 and 18), twenty gammarids were randomly sampled, rinsed in clean water, gently dried before being weighted (± 0.1 mg) and dissected according to method described by Gestin et al. (2022). Cephalons, caeca, intestines, gills and remaining tissues were collected, to obtain 4 replicates of 5 pooled of each organ per sampling day.

Before being gamma-counted (i.e. to determine the ^{109}Cd radioactivity in the sample), each pool of organ was stored, at ambient temperature, in 500 μL of HCl (3.4%). The weight of each organ was estimated from their respective proportion relative to the gammarid total weight as previously defined (Gestin et al. 2022) (Table S2). At each sampling time, the contaminated leaves discs were also sampled and photographed. The captures were then processed using ImageJ software to determine the surface area of disc was eaten by the gammarids. Then the surface was converted in mg of leaves and allowed to determine the Ingestion Rate (IR) between t_0 and the sampling time, expressed as mg of leaves ingested per mg of gammarid per day. The mortality of gammarids was checked every day. The survival rates of gammarids at the end of the experiment was 74%.

All along the experimentation, the water was aerated and maintained at $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The ^{109}Cd radioactivity in water due to recycling (i.e. from ^{109}Cd desorption form leaves or ^{109}Cd elimination by gammarids) was daily monitored all along the experiment. The water was change as much as necessary to maintain ^{109}Cd radioactivity below the detection limit and a good water quality. At least, the water was changed every two days.

Inhouse calibrated standards with appropriate geometry of contains were used to determine the radioactivity of samples. Using InterWinner 7.0 software (ITECH Instruments[®]) coupled to NaI detector, the samples were analyzed, to obtain runs ranged from 10 minutes to 48 hours of counting with an uncertainty below 5%. To obtain the concentrations of Cd in stable equivalent for each organ, the measured radiotracer activity (Bq) was converted into concentration of stable Cd (μg of Cd.g of organ⁻¹; Tables S2).

2.4 Data analysis

Relative Cd burden of organs. The proportion of Cd that each organ represents out of the total Cd body burden of the organism was calculated as follows:

$$R_i = \frac{Q_i}{Q_1 + Q_2 + Q_3 + Q_4 + Q_5} \times 100 \quad (1)$$

where R_i the relative proportion of the organ i ($i=1..5$) (%) and Q_i is the quantity of Cd in the organ i (ng).

Biomagnification factor (BMF). The biomagnification factor is a metric of bioaccumulation. The BMF of a contaminant corresponds to ratio between its concentration in an organism/organ/tissue and its concentration in the food at the end of the accumulation phase (here, day 6), and can be expressed as (Eq. 2):

$$BMF = \frac{C_i}{C_f} \quad (2)$$

where BMF is the biomagnification factor (without unit), C_i is the concentration of Cd in an organ i ($\mu\text{g.g}^{-1}$) ($i = 1..5$, with $i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalon, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills) and C_f is the concentration of Cd in the food ($\mu\text{g.g}^{-1}$).

Characterization of the uptake rate parameters. In the case of accumulation of a contaminant via the trophic pathway, the rate of accumulation from the food is the result of two processes: the ingestion and the assimilation. Mathematically, it is expressed as the product of the rate of ingestion and the assimilation efficiency.

First, the Ingestion Rate (IR) is the amount of food ingested by an organism over time, here expressed in mg of leaves ingested per mg of gammarid per day ($\mu\text{g.mg}^{-1}.\text{d}^{-1}$). This parameter was estimated from the data obtained at different time steps of the accumulation phase (days 2, 4 and 6). Because these IR data showed a linear decrease with time, we fitted to the data the following model:

$$IR(t) = IR_0 - b * t \quad (3)$$

where $IR(t)$ is the ingestion rate at time t , IR_0 is the ingestion rate at day 0 and b the slope of IR in function of the time t .

After being ingested, only the fraction of Cd assimilated by the intestine is available to be distributed to the other organs. This fraction is the assimilation efficiency (AE), i.e. the percentage of contaminant (here Cd), that crosses the intestinal epithelial barrier. The estimation of AE can be done from data obtained in a previous pulse-chase-feeding experiment, performed (*see the short note on AE estimation above*): i) under similar physico-chemical and temperature conditions; ii) with the same type of food (alder leaves, *A. glutinosa*); and iii) in adult male gammarids of the species *G. fossarum* from the same population. Because most of the time, the elimination pattern of a contaminant is biphasic (Baudin et al., 1989; Roditi and Fisher, 1999; Wang and Fisher, 1999a), the short-lived and long-lived elimination kinetic parameters and the assimilation efficiencies of Cd ingested by gammarids were estimated with the double component exponential equation (Eq. 4):

$$p(t) = (1 - AE) * e^{-k_{es}*t} + AE * e^{-k_{el}*t} \quad (4)$$

with $p(t)$ is the proportion of remaining activity in gammarid at time t , AE is the assimilation efficiency of Cd by gammarids, k_{es} and k_{el} represent the elimination kinetics of Cd with k_{es}



corresponding to the first phase of elimination, i.e. the part that is quickly depurated (« short-lived »); and k_{el} corresponding to the second phase of elimination, i.e. the assimilated part that is slowly depurated.

Multi-compartments TK models and Bayesian inference. Biologically, organs of gammarids are all interconnected and can potentially exchange metals, thus fulfilling their physiological functions (e.g. storage, and excretion). The modeling of these flows makes it possible to estimate the importance of the exchanges among organs, but also to know the role played by each organ in ADME processes and in the fate of the contaminants in the organism. The multi-compartments toxicokinetic (TK) models, already used for several species, was recently developed for gammarid but with the dissolved pathway as the only source of contamination (Gestin et al., 2021; Gestin et al., *under review*).

Since the bioaccumulation studied here is carried out by contaminated food only, intestines are necessarily the only pathway of entry of the contaminant into the organism. Through the trophic pathway, the intestines are therefore considered to be the unique pathway of accumulation and the first organ of distribution to other organs. So, here, the following multi-compartments TK model formalizes the exchange of Cd between the contaminated food and the intestines, its distribution among the organs and its elimination from the organs to the media (water) surrounding the organism. Describing all possibilities of inflows and outflows of each organ, the complete model used (Fig. S1) is presented as a set of 10 ordinary differential equations (Eqs. (S1) to (S10) in SI), generalizable as follows:

$$\begin{cases} \frac{dC_1(t)}{dt} = IR(t) \times AE \times C_f + \sum_{j \neq 1} k_{j1} \times C_j(t) - \sum_{j \neq 1} k_{1j} \times C_1(t) - k_{e,1} \times C_1(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (5) \\ \frac{dC_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} k_{ji} \times C_j(t) - \sum_{j \neq i} k_{ij} \times C_i(t) - k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } i = 2 \dots 5 \text{ and } 0 \leq t \leq t_c \quad (6) \\ \frac{dC_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} k_{ji} \times C_j(t) - \sum_{j \neq i} k_{ij} \times C_i(t) - k_{e,i} \times C_i(t) & \text{for } i = 1 \dots 5 \text{ and } t > t_c \quad (7) \end{cases}$$

where $C_i(t)$ corresponds to the internal concentration of Cd in the organ i ($i=1..5$) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight) at time t (days), $IR(t)$ is the Ingestion Rate ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) at time t , AE is the Assimilation Efficiency (AE) (without unit), C_f is the concentration of Cd in alder leaves discs ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight), k_{ji} is the transfer rate from the organ j to the organ i (day^{-1}), k_{ij} is the transfer rate from the organ i to the organ j , $k_{e,i}$ is the elimination rate from the organ i to the surrounding media,

and t_c is the time t separating the accumulation phase from the elimination phase. With $i=1$ stands for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills.

For the stochastic part, it was assumed that the Cd concentrations in organs follow a Gaussian distribution:

$$C_{obs,i}(t) \sim \mathcal{N}(C_i(t), \sigma_i) \quad (8)$$

where $C_{obs,i}(t)$ is the observed concentrations in the organ i ($i=1..5$) at time t , $\mathcal{N}$ represents the Normal law with the standard deviation σ_i for the organ i ($i=1..5$), and a mean $C_i(t)$ stands for the internal concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) in the organ i predicted by the model at time t .

The parameters were estimated by fitting the model to all organ datasets simultaneously using Bayesian inference with R software and JAGS (Plummer, 2003; R Core Team, 2017) (for more details, see Gestin et al., 2021).

Parameters estimation. As previously seen, few prior information exist on IR for gammarids (Maltby et al., 2002; Pellet et al., 2014). Moreover, a semi-informative prior can also be used for the parameter AE because by nature, we know that AE is necessarily between 0 and 1. So, for IR(t) and AE parameters, Uniform law bounded from 100 to 700 and from 0 to 1, respectively, were used (Table 1). For the other kinetic parameters, there is no information in the literature. For these parameters, a Uniform law on the decimal log scale (i.e. non-informative prior) was chosen (Table 1). Lastly, for the uncertainty parameters (corresponding to the stochastic part) a Gamma law was used (Table 1). The IR, AE, k_{es} and k_{el} parameters were estimated simultaneously with the k_{ij} , k_{ji} and $k_{e,i}$ parameters because all data are used simultaneously and the models describing IR(t) and p(t) (Eqs. (3) and (4)) were fitted to their respective datasets at the same time that the multi-compartments model was fitted to bioaccumulation data observed in all organs. The estimate of each parameter is summarized by the median and the 95% credibility interval of the marginal posterior distribution of each parameter.

The good convergence of the 3 MCMC chains is verified by the Gelman criteria (Gelman et al., 1995), and we check that the parameters are correctly estimated using the priors and posteriors (Figure S2). To validate, by visual comparison, the adequacy of the model predictions with the data, the median and 95% credible band of the model predictions were superimposed to the observed data.

To better understand the fate of Cd at the organ level of gammarids, a global scheme of Cd handling was sought. The modeling can be viewed as one hypothesis to be tested on the experimental data, and the structure of the model is then altered until the fitting on the data is satisfactory. The inference starts with the complete model consisting in considering all links between organs and water (Fig. S1; Eqs. (S1) to (S10) summarized by Eqs. (5) to (7)). Then, parameter(s) estimated at values close to zero are successively fixed to zero. The successive fits were compared according to the precision of each parameter estimation and the relevance of model predictions through the deviance information criterion (DIC), a Bayesian measurement that weighs the quality of model fit with its complexity. Lower DIC values are expected to effectively balance between predictive capacity and complexity of the model (Spiegelhalter et al., 2002). At the end, the selected multi-compartments model was constructed based on two guiding principles: it contains the fewest compartments to adequately describe all the data simultaneously and reflects realistic physiology processes.

3. Results

The measured Cd amounts, the estimated organ weights, and the calculated Cd concentrations of each organ on each sampling day are presented in Table S2.

3.1 The organotropism of Cd by dietary pathway

The organs from the most to the least Cd burdened at the end of the accumulation phase (i.e. day 6) were: caeca > intestines >> remaining tissues > cephalons >> gills (Table S2). Between the ends of the accumulation phase and the depuration phase, all organs except gills showed a decrease of Cd quantities (Table S2). Indeed on 26 replicates obtained for gills during the experiment, radioactivity was detected in only 6 replicates distributed in a heterogeneous way throughout the experimentation (i.e. 3 pools in each phase).

In terms of relative proportion, the remaining tissue remained stable (among 10 and 16%) as the cephalon (< 3%) all along the experiment. The relative proportion in the caeca accounted for more than half of the Cd burdens accumulated in the whole organism (from 59 to 82%) whatever the sampling time, except at day 2 (Fig. 1) when intestine and caeca displayed similar proportions (44% vs. 42%, respectively; Fig. 1). During the accumulation phase, the proportion of Cd in intestine decreases from 44% at day 2 to 24 and 22% at day 4 and 6, respectively. Then this value dropped to 4% as soon as the gammarid were placed in depuration and then, the proportion increased by 3 to 4-fold from day 11 until the end of the phase, due to the loss that occurs in the caeca (Fig. 1).

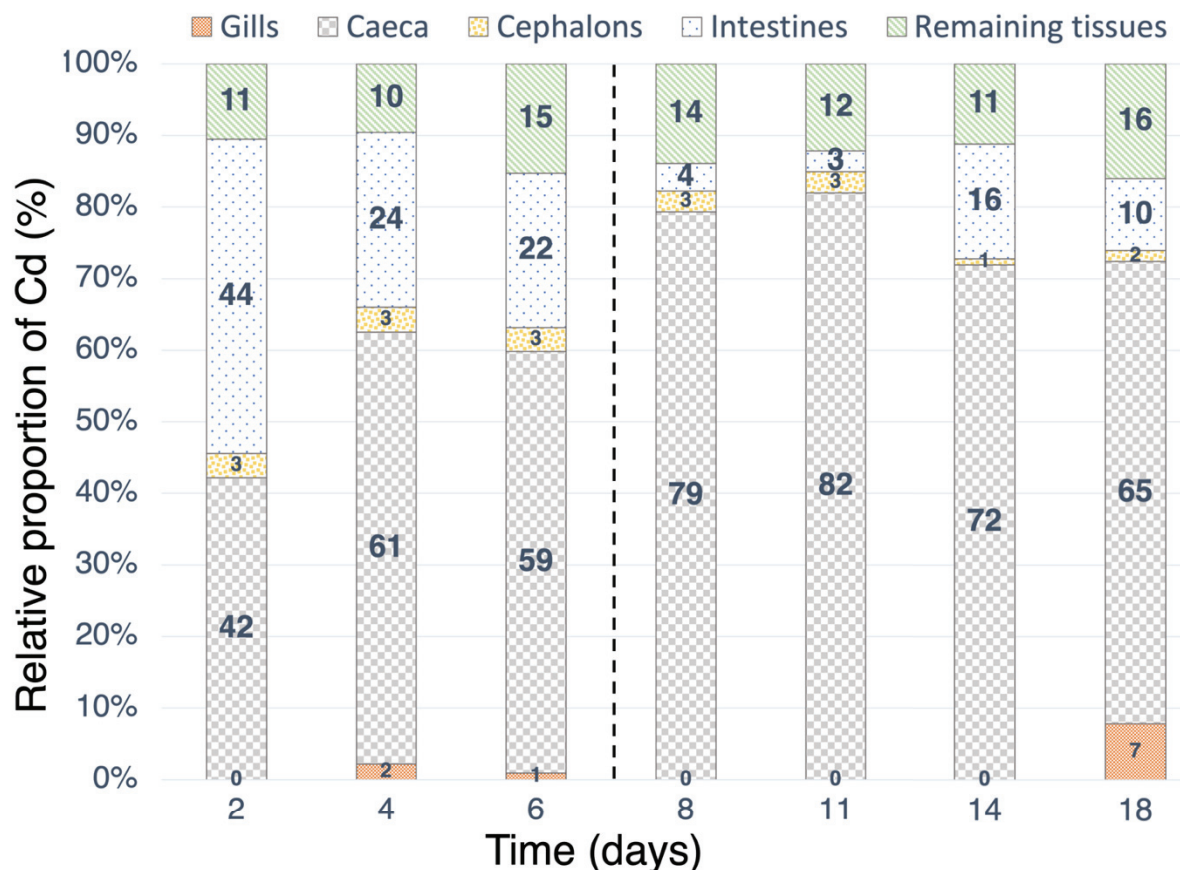


Figure 1. Mean of the relative proportions (%) of metal burdens per organ (gills, caeca, cephalons, intestines and remaining tissues) with respect to the whole-body burden at each sampling time (days) during accumulation (days 0-6) and depuration phases (days 8-18) These two phases are separated with the black dotted vertical line.

In term of BMF, calculated at day 6, organs were ranked from the highest to the lowest values as: caeca $\approx$ intestines $\gg$ cephalons $\approx$ remaining tissues $\gg$ gills (Fig. 2; Table S2), with 16, 9.6, 0.35, 0.24 and 0 respectively. In the accumulation phase, the Cd concentrations remaining tissues and cephalons quickly increased and remained then stable, showing a plateau around $1.4\text{e-}4$ and $2\text{e-}4 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectively (Fig. 2). In caeca, the concentration of Cd increased until day 4 and then stabilized until day 6 around $0.010 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Fig. 2). However, in intestine, the concentration reached its highest value at day 2, with $0.013 \pm 0.004 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Fig. 2) and then decreased by two-fold between day 2 and day 6 (Fig. 2; Table S2). This can be explained by the fact that gammarids decreased their feeding rate from 184 ± 43.5 (day 2) to 55.9 ± 1.84 (day 6) $\mu\text{g.mg}^{-1}.\text{d}^{-1}$, decreasing the amount of leaves ingested and thus the amounts of Cd that enters in intestines.

During the depuration phase, the Cd concentration in the caeca gradually decreased from 0.010 ± 0.0033 (day 8) to $0.0035 \pm 0.00051 \mu\text{g.g}^{-1}$ at the end (Table S2). At a much smaller concentration scale the cephalons showed a similar elimination pattern, but two third of samples values passed below the detection limit from the day 14. With a 20-fold difference between the

concentrations in the intestine and in the remaining tissues, both reach a plateau in the depuration phase from day 8 (around $0.001 \mu\text{g.g}^{-1}$) and day 11 (around $5\text{e-}5 \mu\text{g.g}^{-1}$), respectively (Fig. 2).

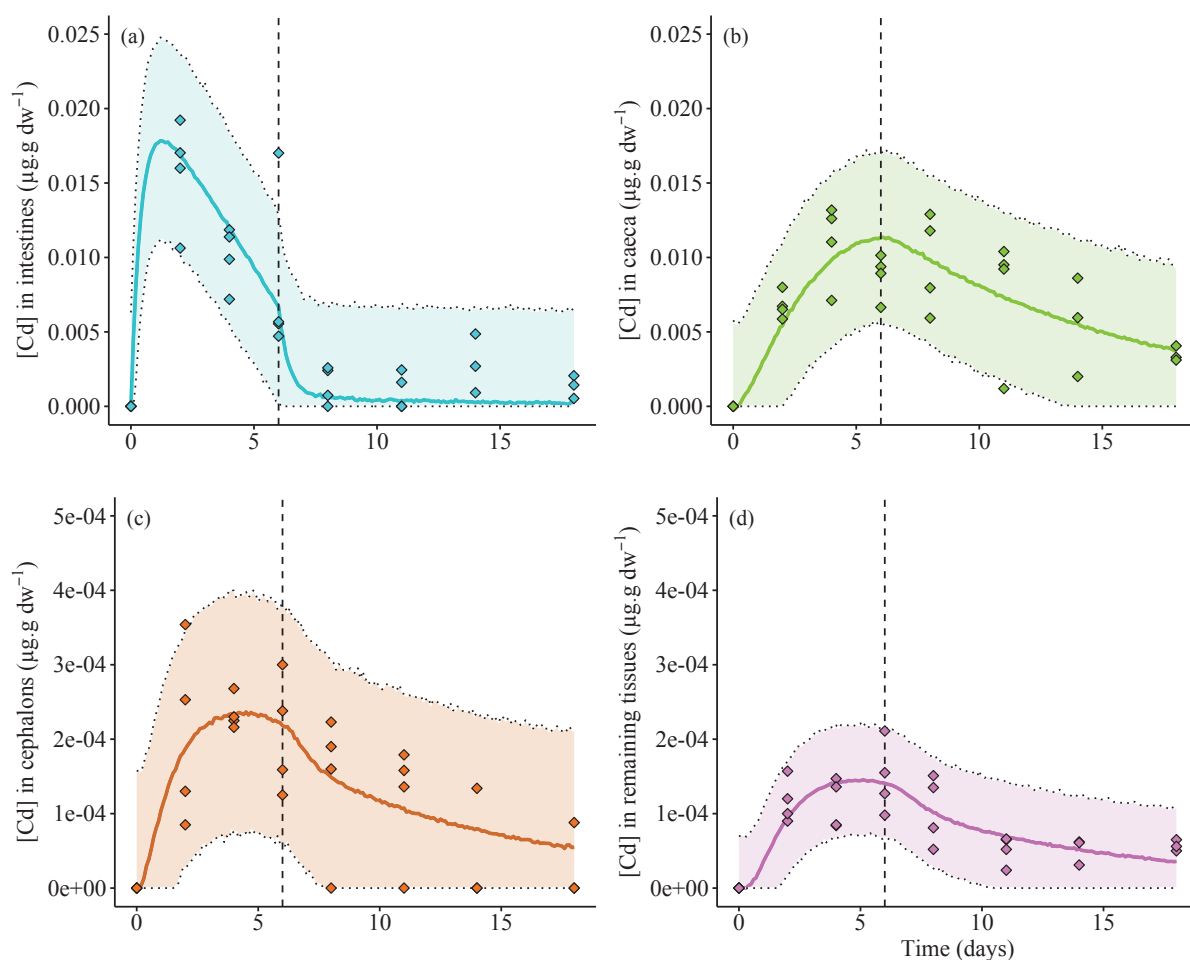


Figure 2. Measured (diamonds) and predicted, with the final multi-compartments TK model, (Eqs. (S1) to (S10)) (95% credible interval in dashed lines and median in solid line) concentrations of Cd in a) intestines, b) caeca, c) cephalons and d) remaining tissues of gammarids exposed to ^{109}Cd contaminated alder leaves during the accumulation phase (6 days) followed by a depuration phase (12 day). The black dotted vertical line separates the two phases. The y-scales of the plots may differ between the graph a) b) and c) d).

3.2 Modeling the accumulation, kinetics and fate of Cd in the organs of *G. fossarum*

The uptake of Cd by intestines resulted of IR and AE. These two parameters were in the multi-compartments TK model (Eqs. (5) to (7)), in addition to be also in the model describing IR during time (Eq. (3)) and the proportion of Cd assimilated during time (Eq. (4)). These parameters were therefore estimated by Bayesian inference from the simultaneous fitting of these models on their respective data. In this study, gammarids reduced their ingestion rate throughout the accumulation phase (Table S3), resulting in an IR estimate at t_0 (IR_0) of $244 \pm 9.42 \mu\text{g.mg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ with a slope coefficient (b) of -31 ± 2.2 (Fig. S3). The AE was estimated to $32.4 \pm 3.13\%$.

The most parsimonious model finally selected from the full model, after successive fits, was schematized in Figure 3. Each parameter was summarized, from the joint posterior distribution, by their respective median and 95% credibility intervals (Table 1). The median internal concentrations predicted by the model, and their 95% credibility intervals were superimposed to observed data in Fig. 2.

Table 1. Estimated parameters of the most parsimonious multi-compartments TK model selected (Eqs. (5) to (7)) for each organ of gammarids exposed in a 6-day accumulation phase to dietary Cd, followed by a 12-day depuration phase.

Parameters description	Parameters	Priors	Median	Percentiles	
				2.5 %	97.5 %
Ingestion rate at day 0	IR0	Unif (100,700)	244	226	263
Assimilation Efficiency	AE	Unif (0,1)	0.324	0.262	0.387
Short-lived component elimination rate	k _{es}		0.0936	0.0743	0.0997
Long-lived component elimination rate	k _{el}		0.00441	0.00246	0.0667
IR slope	b		31.0	26.8	35.2
Elimination rate from Intestines to Water	k _{e1}		1.96	1.52	2.46
Transfer rate from Intestines to Caeca	k ₁₂	log10.Unif (-5,5)	0.206	0.157	0.265
Transfer rate from Caeca to Intestines	k ₂₁		0.0898	0.0480	0.139
Transfer rate from Intestines to Cephalons	k ₁₃		0.0120	0.00798	0.0191
Transfer rate from Remaining tissues to Intestines	k ₄₁		2.20	1.25	3.12
Transfer rate from Caeca to Cephalons	k ₂₃		0.0179	0.00744	0.0286
Transfer rate from Cephalons to Remaining tissues	k ₃₄		1.35	0.773	2.04
Variability on Ingestion rate	σ_{IR}		27.9	23.5	34.1
Variability on Assimilation Efficiency	σ_{AE}		0.111	0.0967	0.130
Variability on Intestines concentrations	σ_1	Gamma (0.001, 0.001)	0.00311	0.00240	0.00422
Variability on Caeca concentrations	σ_2		0.00275	0.00211	0.00376
Variability on Cephalons concentrations	σ_3		7.59e-5	5.88e-5	1.04e-4
Variability on Remaining tissues concentrations	σ_4		3.50e-5	2.70e-5	4.79e-4
Variability on Gills concentrations	σ_5		0.0012	0.000940	0.0163

Priors correspond to law and interval of values tested during the inference process; Percentiles and Median are, respectively for each parameter, percentiles and median of the posterior distribution, with the percentiles corresponding to the lower and upper limit of their 95% credibility interval; the standard deviation of the Gaussian stochastic part associated to the organ i ($i=1..5$) is σ_i .

The final scheme of the most parsimonious model (Fig. 3) shows that Cd accumulated in the intestines before being transferred to caeca and the cephalon. A fraction of the Cd in caeca was distributed to the cephalon whereas another part returned to intestines. The Cd accumulated by the cephalon was passing through the remaining tissue before being eliminated through the intestine. The intestine was the only organ that eliminate Cd toward the external medium.

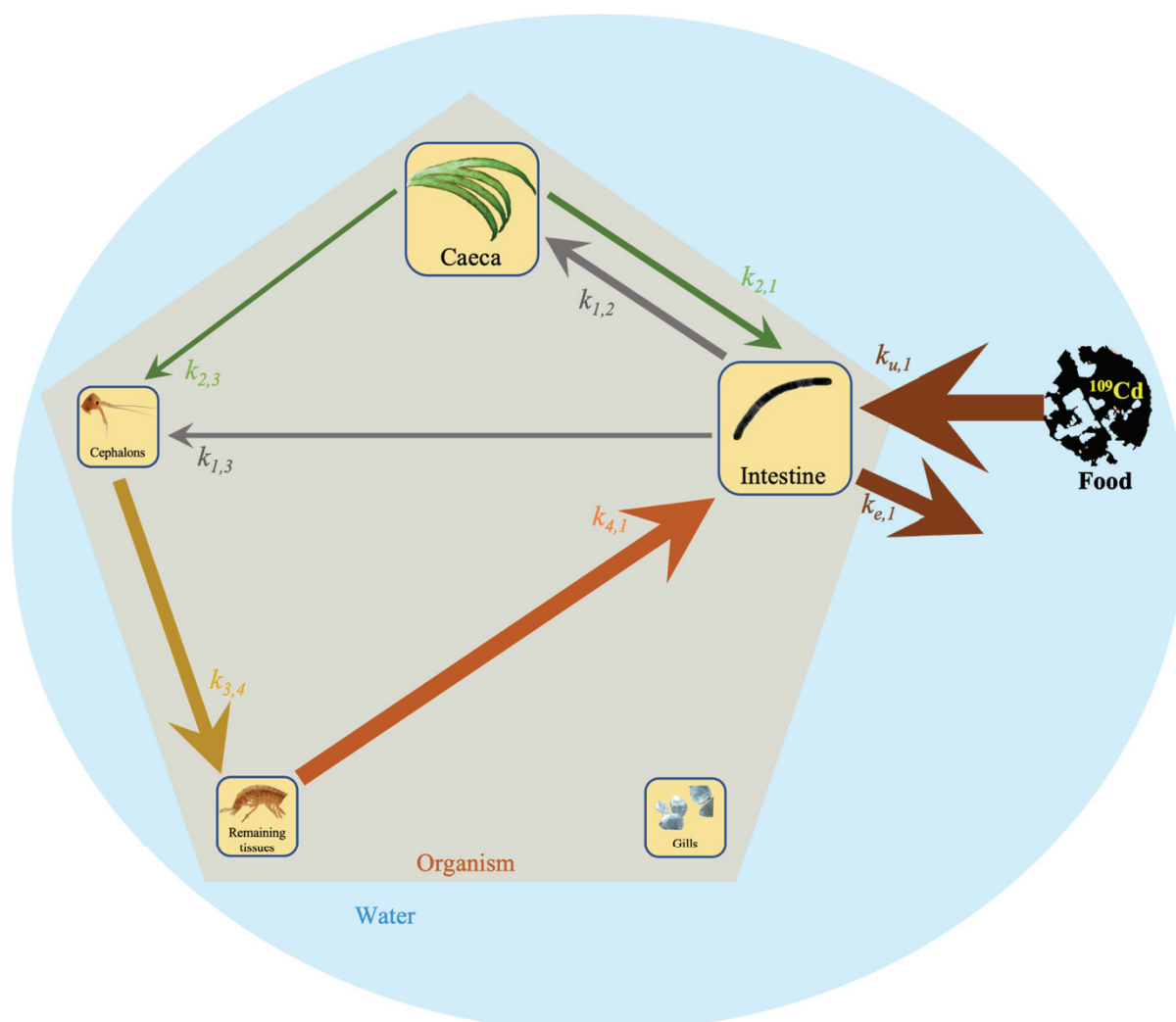


Figure 3. Final pattern of the best multi-compartments models selected. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the nibbled black circle on the right represents a nibbled disc of alder leave (food) contaminated by ^{109}Cd , the beige pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated. The parameters $k_{u,1}$ and $k_{e,1}$ associated to the different arrows correspond, respectively, to the rates of uptake from food to intestines and the rate of elimination of Cd from intestines to water, while the flow from an organ i to an organ j is symbolized by the parameters k_{ij} .

4. Discussion

First, the present results showed that the organotropism and toxicokinetic of Cd accumulated in gammarids through the trophic pathway mainly imply intestines and caeca. Both these tissues can be considered as highly accumulative organs, with BMF values at day 6 well above 1 (Liu et al., 2019; MacKay and Fraser, 2000; Ratier and Charles, 2022). In many invertebrates, it is known that the gastro-intestinal tract (encompassing intestine and caeca) acts as a site of metal sequestration and detoxification (Rainbow, 2002; Schaller et al., 2011b). This makes caeca and intestines critical organs in dietary Cd accumulation. In addition, these two organs together account for about 84% of the total Cd load in the organism at all time steps (Fig. 1) and also bioconcentrate the most Cd, about 40 times more than the cephalons and the remaining tissues

at the end of the accumulation phase (Fig. 2). Indeed, remaining tissues and cephalons displayed a BMF below 1 at the end of the exposure period, making them organs that would have little influence in the overall handling of Cd and no (or a very minimal) role in its fate.

4.1 Organotropism and fate of Cd accumulated through trophic pathway

In this experiment, the first step of ADME processes, i.e. assimilation, as the absorption of Cd reaching the internal medium, was determined through the estimation of the ingestion rate and the assimilation efficiency.

The IR decreased all along the accumulation phase. Feeding rate inhibition has already been demonstrated in gammarids (*G. fossarum* and *G. pulex*) after *in situ* and lab contaminants exposure (Coulaud et al., 2011; Dedourge-Geffard et al., 2013, 2009; Maltby et al., 2002). Thus, Croteau and Luoma, (2008) demonstrated an IR divided by 10 when the dietborne Cd concentration increased from 0.14 to 12.42 $\mu\text{g.g}^{-1}$ after an 18h-exposure in *Lymnaea stagnalis*. However, this inhibition response would not be due to a Cd toxic effect on intestines but rather a behavioral response of the individual (Croteau and Luoma, 2009, 2008). Nevertheless, considering the low Cd exposure concentration in the present study, it remains unclear if this IR inhibition was indeed due to an effect of Cd or if it resulted from an elevated appetite of the gammarids at the beginning of the experiment due to the 2-day starvation period undergone just before. This may be a combination of the two explanations because if the gammarids had increased their IR at the beginning of the experiment without the effect of Cd, the IR would probably have stabilized at the end of the accumulation phase. However, the IR constantly decreased to $55.9 \pm 18.4 \mu\text{g.mg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ on day 6, which is about 5 times lower than the IR values found in the literature for gammarids (Wilding and Maltby, 2006).

The AE estimate showed that 1/3 of the Cd present in the ingested food was assimilated by gammarids. The estimated Cd AE value was of the same order of magnitude than the one measured in other invertebrates: such as shrimp ($42.4 \pm 5.1\%$) and copepod (30.4%) (Nunez-Nogueira et al., 2006b; Reinfelder and Fisher, 1991). The Cd AE estimated for *G. fossarum* was in the low range of values determined in the daphnid *Daphnia magna* (30-77%) and the mussel *Dreissena polymorpha* (19-72%), which show great variability in their range of AE values (Lam and Wang, 2006; Roditi and Fisher, 1999). Comparing to another species of the genus *Gammarus*, *G. pulex* for which Cd AE has been estimated between 5 and 47%, our estimate is in the high range (Pellet et al., 2014). In contrast, for the fish species *Menidia menidia* and *Menidia beryllina*, very low AE of 2.7%, was estimated for Cd following exposure to contaminated prey (Reinfelder and Fisher, 1994). Thus, the estimated

AE value of $32.4 \pm 3.13\%$ indicates a good bioaccessibility of Cd in alder leaves allowing a significant accumulation of dietborne Cd in gammarids.

The development of toxicokinetic (TK) models is a crucially important tool in the mechanistic and physiological understanding of processes governing the bioaccumulation in organisms (Croteau and Luoma, 2009; Hadji et al., 2016; Wang and Rainbow, 2008; Wang and Wong, 2003). The present study shows that the Cd reached the highest concentration in the intestine before being transferred mainly to the caeca and, to a lesser extent, to the cephalon. In the killifish *Fundulus heteroclitus* fed by multiple Cd pulse, 86-94% of total Cd was shown to be associated primarily to the site of exposure, the intestine (Dutton and Fisher, 2011). This phenomenon was also described in the trout *O. mykiss* where Cd present in intestinal cells was bound to metallothioneins, before being released in the lumen for elimination from the organism (Franklin et al., 2005).

The high concentration in intestine suggests that this organ both accumulates Cd in its cells and displays a permeability allowing Cd diffusion toward the other internal organs. In addition, during the depuration phase, the intestines get back Cd from the other organs that depurate, explaining that the relative proportion in intestines increases from 4 to 10% (Fig. 1). Coupled with the TK model, this demonstrates that the intestines is the organ the most linked to the other organs in term of Cd exchanges.

Based on the final scheme obtained for the TK model (Fig. 3) and the k_{12} parameter associated (Table 1), most of the Cd moved from the intestines to the caeca. This was consistent with the fact that the intestine is biologically directly linked with the caeca in gammarids for the nutrient assimilation. Thus, the digestive physiology logically drives this important transfer of Cd from the intestine to the caeca. Similarly, in the shrimp *Penaens indicus* fed with Cd-contaminated cephalopod muscle, the intestines have been shown to transfer Cd to the caeca (Nunez-Nogueira et al., 2006b).

Consequently, it is noteworthy that, from day 4, the caeca showed the greatest relative proportion and highest concentration of Cd among organs. In the literature on Cd, it has been also shown that *O. mykiss* trout strongly concentrate Cd in their livers, equivalent to the caeca of gammarids in fish (Franklin et al., 2005; Handy, 1993; Szebedinszky et al., 2001). In the crab *Cancer pagurus*, the hepatopancreas (other term used for the caeca) concentrates most strongly the Cd accumulated by the trophic pathway (Wiech et al., 2018), as well as the digestive gland in the cephalopods (Bustamante et al., 2002). Furthermore, although the Cd concentration in the intestines tended to decrease during the accumulation phase (from days 2 to 6), the Cd concentration in the caeca

continued to increase between days 2 and 4 before reaching a plateau between days 4 and 8 (Fig. 2). This emphasizes that, as long as the organism is exposed to contaminated food, the caeca stores Cd and the decrease in concentration only occurred when the organism is no longer subject to contamination, which is consistent with the parameters k_{12} , k_{21} and k_{23} presenting a rate of Cd entering the caeca (k_{12}) much higher than the two rates (k_{21} and k_{23}) leaving the caeca. In crustaceans, caeca is already known to be a central sink organ in metal detoxification especially through its sequestration in mitochondria (Ahearn et al., 2004; Nunez-Nogueira et al., 2006b; Ortega et al., 2017). Indeed, the metals such as Cd are complexed with metallothionein-like proteins or with MRGs (i.e. Metal-Rich Granules). These mechanisms of complexation hinder metal interaction with biological molecules, leading to metals metabolically detoxified (Ahearn et al., 2004; Chiodi Boudet et al., 2019; Ortega et al., 2017).

Some of the Cd accumulated in the caeca was also transferred to the cephalon, showing that the sequestration of Cd by the caeca is not total. Moreover, the cephalon was also supplied by the intestine with a low rate of the same order of magnitude than this from the caeca. However, cephalons should play a negligible role in ADME processes since they: i) represented less than 3% of the total body burden; and ii) concentrate 30 to 40 times less Cd than the caeca and the intestines during the exposure phase. Moreover, after 8 days in the elimination phase, only one third of the cephalon samples contained radioactivity above the detection threshold, suggesting an efficient elimination of Cd by this organ.

During the accumulation phase, the remaining tissues showed an accumulation pattern roughly identical to the one of cephalons (Fig. 2). Interestingly, this complied with the model outputs that estimated that cephalons were the organ transferring Cd to the remaining tissues (Fig. 3). Unlike cephalons, it appears that the remaining tissues have a role of Cd storage site, showing a plateau around $5 \times 10^{-5} \mu\text{g.g}^{-1}$ from day 11 to day 18, at the end of the elimination period (Fig. 2). However, considering the low magnitude of the exposure concentrations and the fact that this organ accounts for less than 16% of the total amount of Cd in the organism while representing 77.5% of its weight, this storage role is nevertheless minimal in the context of dietary Cd accumulation. This is consistent with previous results in the trout *O. mykiss*, showing that the concentration of Cd in the carcass (i.e. muscle, bone and skin) was minimal under a contaminated diet. (Szebedinszky et al., 2001).

Finally, it is worthy to note that the gills did not display a significant Cd accumulation all along the experiment. Indeed, the very small activities detected in few samples (3 pools of gills in each accumulation and elimination phases) raises the question of an external gills contamination to Cd

recycling in experimental beakers. Indeed, despite all the care we took, the water in some beakers may have been contaminated by the Cd eliminated through the gammarid feces. Since the gills strongly accumulate and indefinitely store waterborne Cd (Gestin et al., 2022), it is therefore probable that the Cd in gills came from experimental artefact. Thus, we consider that dietborne Cd did not accumulate in the gills which is consistent with a gills BMF null value, a relative proportion $< 2\%$, and the final selection of the global Cd handling scheme from the most parsimonious multi-compartment TK model showing that the gills do not exchange Cd with the other organs, with $k_{5,j}$ and $k_{i,5}$ set to 0. We can conclude that the gills are not a storage and/or elimination organ for Cd accumulated through the trophic pathway.

4.2 Trophic VS dissolved pathway

An accurate knowledge of metal bioaccumulation in organisms, considering the different accumulation pathways, is important to be able to accurately interpret the physiological processes involved in their bioaccumulation and thus integrate them into biomonitoring programs (Timmermans et al., 1992; Urien et al., 2016; Van Campenhout et al., 2009; Wang et al., 1996). Through trophic pathway, the final scheme of Cd handling in *G. fossarum* shows a two-way exchange between intestine and caeca and a one-way exchange from caeca to cephalons, from cephalons to remaining tissues and from remaining tissues to intestines. This is slightly divergent from the contamination by dissolved pathway showing intestine playing the central role in the distribution of Cd to the other organs, with only two-way exchange between: i) intestine and caeca; ii) intestine and cephalons; and iii) intestine and remaining tissues (Gestin et al., 2021). In addition, when gammarids are contaminated by the trophic pathway, the intestine is the only organ that eliminates Cd to the external environment, as also demonstrated for the dissolved pathway (Gestin et al, in review). Therefore, whether for the dissolved or trophic pathway, the intestine plays a major role in the accumulation, distribution and elimination of Cd in gammarids.

The other organ that appears to have a consistent role in Cd handling between the two pathways of exposure is the caeca, which are among the most concentrated organs for both routes and play a undisputable storage role for Cd (Gestin et al., 2022). This shows the potential of Cd sequestration and entrapment of the caeca, which is the first organ receiving Cd entered through the intestine, whatever the uptake route. However, the relative proportion of Cd in caeca represents 42 to 82% of the total body burden after a trophic contamination, whereas it only contributed between 17 and 32% after contamination by dissolved pathway (Gestin et al., 2022).

Finally, the major changes between both exposure pathways concern the gills. Indeed, gills play no role in Cd storage or elimination following trophic exposure, whereas they play an important role in the accumulation and long-term storage following waterborne Cd exposure (Gestin et al., 2022). This divergence of Cd organotropism according to the pathway of accumulation has also been observed in the lobster *Nephrops norvegicus* and repeatedly in the trout *O. mykiss* (Franklin et al., 2005; Ng and Wood, 2008; Szebedinszky et al., 2001; Vijver et al., 2004). Thus, during trophic Cd contamination in *O. mykiss*, the gills accumulated less than 7% of the Cd present in the organism, whereas in dissolved contamination they represent 70% of the total trout body burden (Franklin et al., 2005). Moreover, since in gammarids the Cd accumulated by the trophic pathway never reaches the gills, this confirms that the gills are full-fledged organ, which do not appear to be connected to other organs for the handling of Cd (Gestin et al., 2022).

5. Conclusion

In this study, we successfully contaminated gammarids via the trophic pathway continuously for 6 days, recovered the organs to measure the amount of accumulated Cd. The caeca and intestines together accounted for about 83% of the total organism burden and concentrated about 40 times more Cd than cephalons and other tissues. The cephalons and remaining tissues are very lightly burdened, each accounting for less than 3% and 14% of the total organism burden, respectively. Interestingly, the gills do not display significant amounts of Cd suggesting that they play no role in dietary Cd storage or elimination. Throughout the exposure phase, the measured ingestion rate of organisms showed a decrease over time, implying that the organisms were not exposed to a constant concentration of Cd. The final pattern of Cd handling shows bidirectional Cd exchange between the intestines and caeca, unidirectional exchange from caeca to cephalons, cephalons to remaining tissues, and remaining tissues to the intestines, and elimination to the surrounding media occurring only through the intestine. Thus: i) the intestines combine the roles of organs for Cd uptake, distribution and elimination; and ii) the caeca store the major amount of Cd presumably in a detoxified form. This study, coupled with other recent studies concerning organotropism following waterborne contamination (Gestin et al., 2022), greatly improve the understanding of Cd fate in gammarids and the role that organs play in the overall Cd process.

Acknowledgment

This work has been supported by the APPROVe project funded by the ANR (ANR-18-CE34-0013-01) and benefitted from the French GDR « Aquatic Ecotoxicology » framework.



We thank the « Radioecology lab » of the Institut du Littoral, Environnement et Sociétés (UMR 7266 LIENSs) and Christine Dupuy and Thomas Lacoue-Labarthe as Competent Radiological Protection Persons for their technical support. Thanks to the Contrat de Plan Etat-Région (CPER), the CNRS and the European Regional Development Fund (FEDER) for their support to the Radioecology lab.

Informations complémentaires associées à l'article sous forme de « Supplementary data »

Table S1. Characteristics of waters Évian® used for the experiments.

	Évian®	Well water
Bicarbonates HCO_3^- (mg.L ⁻¹)	360	209
Calcium Ca^{2+} (mg.L ⁻¹)	80	73.7
Chlorides Cl^- (mg.L ⁻¹)	10	11.5
Magnesium Mg^{2+} (mg.L ⁻¹)	26	7.3
Nitrates NO_3^- (mg.L ⁻¹)	3.8	6.5
Potassium K^+ (mg.L ⁻¹)	1	1.9
Silica SiO_2 (mg.L ⁻¹)	15	6.1
Sodium Na^+ (mg.L ⁻¹)	6.5	8.2
Sulfates SO_4^{2-} (mg.L ⁻¹)	14	35.9
pH	7.2	7.55

Table S2. Data sets of Cd accumulated in gammarids organs in function of the day of sampling, showing the measured quantities of ^{109}Cd (Mean $\pm$ SD; Bq) in organs of gammarids; the estimated weight of the gammarids organs sampled from dissections (Mean $\pm$ SD; mg dry weight $^{-1}$) from the total weights weighed; and the concentrations of Cd in organs calculated in stable equivalent (Mean $\pm$ SD; $\mu\text{g Cd.g organ in dry weight}^{-1}$).

Day of sampling	Mean quantities of ^{109}Cd measured (Bq)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	53.1 $\pm$ 9.35	4.14 $\pm$ 2.31	0 $\pm$ 0	56.9 $\pm$ 18.0	13.6 $\pm$ 4.09
4	88.6 $\pm$ 21.2	5.11 $\pm$ 0.931	2.87 $\pm$ 4.12	33.8 $\pm$ 10.1	13.5 $\pm$ 3.59
6	66.0 $\pm$ 11.9	4.12 $\pm$ 1.67	0.924 $\pm$ 1.85	24.9 $\pm$ 6.62	16.5 $\pm$ 5.32
8	73.6 $\pm$ 27.1	3.00 $\pm$ 2.08	0 $\pm$ 0	3.99 $\pm$ 3.36	12.0 $\pm$ 5.41
11	59.1 $\pm$ 33.5	2.52 $\pm$ 1.73	0 $\pm$ 0	2.54 $\pm$ 3.09	6.03 $\pm$ 2.29
14	45.2 $\pm$ 27.6	0.980 $\pm$ 1.70	0 $\pm$ 0	10.4 $\pm$ 7.59	6.24 $\pm$ 2.18
18	30.5 $\pm$ 4.78	0.851 $\pm$ 1.47	3.51 $\pm$ 0.931	4.54 $\pm$ 2.10	7.68 $\pm$ 2.55

Day of sampling	Mean weight of samples (mg)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	1.43 $\pm$ 0.0902	3.70 $\pm$ 0.234	0.353 $\pm$ 0.0223	0.781 $\pm$ 0.0494	21.1 $\pm$ 1.34
4	1.47 $\pm$ 0.100	3.90 $\pm$ 0.244	0.366 $\pm$ 0.0246	0.706 $\pm$ 0.0827	21.9 $\pm$ 1.46
6	1.37 $\pm$ 0.0303	3.56 $\pm$ 0.0785	0.340 $\pm$ 0.00749	0.751 $\pm$ 0.0166	20.3 $\pm$ 0.448
8	1.38 $\pm$ 0.0973	3.74 $\pm$ 0.278	0.343 $\pm$ 0.0241	0.503 $\pm$ 0.186	20.6 $\pm$ 1.45
11	1.41 $\pm$ 0.0521	3.84 $\pm$ 0.141	0.352 $\pm$ 0.0129	0.515 $\pm$ 0.0747	21.2 $\pm$ 0.771
14	1.49 $\pm$ 0.0144	3.96 $\pm$ 0.0505	0.370 $\pm$ 0.00348	0.676 $\pm$ 0.0652	22.2 $\pm$ 0.209
18	1.61 $\pm$ 0.312	4.33 $\pm$ 0.863	0.401 $\pm$ 0.0781	0.654 $\pm$ 0.100	24.1 $\pm$ 4.71

Day of sampling	Mean concentration of Cd in organs, calculated in stable equivalent ($\mu\text{g Cd.g organ dw}^{-1}$)				
	Caeca	Cephalons	Gills	Intestines	Remaining tissues
2	0.00676 $\pm$ 9.15e-4	2.07e-4 $\pm$ 0.000120	0 $\pm$ 0	0.0132 $\pm$ 0.00386	1.17e-4 $\pm$ 2.96e-5
4	0.0110 $\pm$ 0.00273	2.38e-4 $\pm$ 2.93e-5	0.00152 $\pm$ 0.00223	0.00870 $\pm$ 0.00233	1.13e-4 $\pm$ 3.29e-5
6	0.00875 $\pm$ 0.00149	2.09e-4 $\pm$ 8.12e-5	5.09e-4 $\pm$ 0.00102	0.00602 $\pm$ 0.00149	1.48e-4 $\pm$ 4.81e-5
8	0.00964 $\pm$ 0.00326	1.43e-4 $\pm$ 9.88e-5	0 $\pm$ 0	0.00143 $\pm$ 0.00127	1.05e-4 $\pm$ 4.60e-5
11	0.00758 $\pm$ 0.00429	1.18e-4 $\pm$ 8.07e-5	0 $\pm$ 0	0.00101 $\pm$ 0.00122	5.16e-5 $\pm$ 1.93e-5
14	0.00552 $\pm$ 0.00332	4.47e-5 $\pm$ 7.74e-5	0 $\pm$ 0	0.00282 $\pm$ 0.00198	5.11e-5 $\pm$ 1.76e-5
18	0.00349 $\pm$ 5.07e-4	2.92e-5 $\pm$ 5.07e-5	0.00163 $\pm$ 5.18e-4	0.00134 $\pm$ 7.67e-4	5.71e-5 $\pm$ 7.69e-6

Table S3. Ingestion rate of gammarids, sampled during the accumulation phase, calculated from the surface of leaves eaten by gammarids relative to their weight.

Day	Replicate	Organism n°	Remaining surface area (mm ²)	Surface eaten (mm ²)	Weight of leaf eaten (mg)	Weight of an organism (mg)	Ingestion rate (µg.mg ⁻¹ .d ⁻¹)
2	1	1	72.4	242	9.74	22.6	215
		2	52.5	262	10.5	22.6	233
		3	64.6	250	10.1	22.6	222
		4	109	205	8.24	22.6	182
		5	178	136	5.49	22.6	121
	2	1	53.6	261	10.5	23.3	225
		2	102	212	8.53	23.3	183
		3	119	195	7.84	23.3	168
		4	71.1	243	9.79	23.3	210
		5	51.5	263	10.6	23.3	227
	3	1	70.6	244	9.81	21.6	227
		2	106	208	8.39	21.6	194
		3	183	131	5.27	21.6	122
		4	166	149	5.99	21.6	138
		5	191	123	4.95	21.6	114
	4	1	91.3	223	8.98	20.1	223
		2	94.6	220	8.85	20.1	220
		3	120	194	7.81	20.1	194
		4	193	121	4.89	20.1	122
		5	186	128	5.15	20.1	128
4	1	1	44.0	270	10.9	24.6	111
		2	18.9	295	11.9	24.6	121
		3	4.46	310	12.5	24.6	127
		4	29.7	284	11.5	24.6	116
		5	0.704	313	12.6	24.6	128
	2	1	74.0	240	9.68	22.9	106
		2	6.32	308	12.4	22.9	135
		3	51.2	263	10.6	22.9	116
		4	14.6	300	12.1	22.9	132
		5	43.8	270	10.9	22.9	119
	3	1	54.8	259	10.5	22.4	116
		2	82.1	232	9.35	22.4	104
		3	61.2	253	10.2	22.4	114
		4	52.3	262	10.6	22.4	118
		5	73.0	241	9.72	22.4	108
	4	1	52.5	262	10.5	20.9	126
		2	87.1	227	9.15	20.9	109

Table S3 (continued). Ingestion rate of gammarids, sampled during the accumulation phase, calculated from the surface of leaves eaten by gammarids relative to their weight.

Day	Replicate	Organism n°	Remaining surface area (mm ²)	Surface eaten (mm ²)	Weight of leaf eaten (mg)	Weight of an organism (mg)	Ingestion rate (µg.mg ⁻¹ .d ⁻¹)
4	4	3	59.3	255	10.7	20.9	123
		4	57.7	256	10.3	20.9	124
		5	11.7	302	12.2	20.9	146
6	1	1	42.4	272	11.0	21.5	85.0
		2	246	68.0	2.74	21.5	21.3
		3	89.0	225	9.07	21.5	70.4
		4	224	89.7	3.61	21.5	28.0
		5	149	165	6.64	21.5	51.5
	2	1	174	141	5.67	21.4	44.1
		2	109	205	8.27	21.4	64.7
		3	41.9	272	11.0	21.4	85.5
		4	108	206	8.29	21.4	64.5
		5	111	203	8.19	21.4	63.8
	3	1	119	195	7.85	20.9	62.5
		2	141	173	6.98	20.9	55.6
		3	165	150	6.03	20.9	48.0
		4	108	206	8.31	20.9	66.2
		5	109	206	8.29	20.9	66.0
	4	1	198	116	4.67	20.5	38.0
		2	78.2	236	9.51	20.5	77.4
		3	203	111	4.48	20.5	36.4
		4	132	182	7.35	20.5	59.8
		5	224	90.3	3.64	20.5	29.6

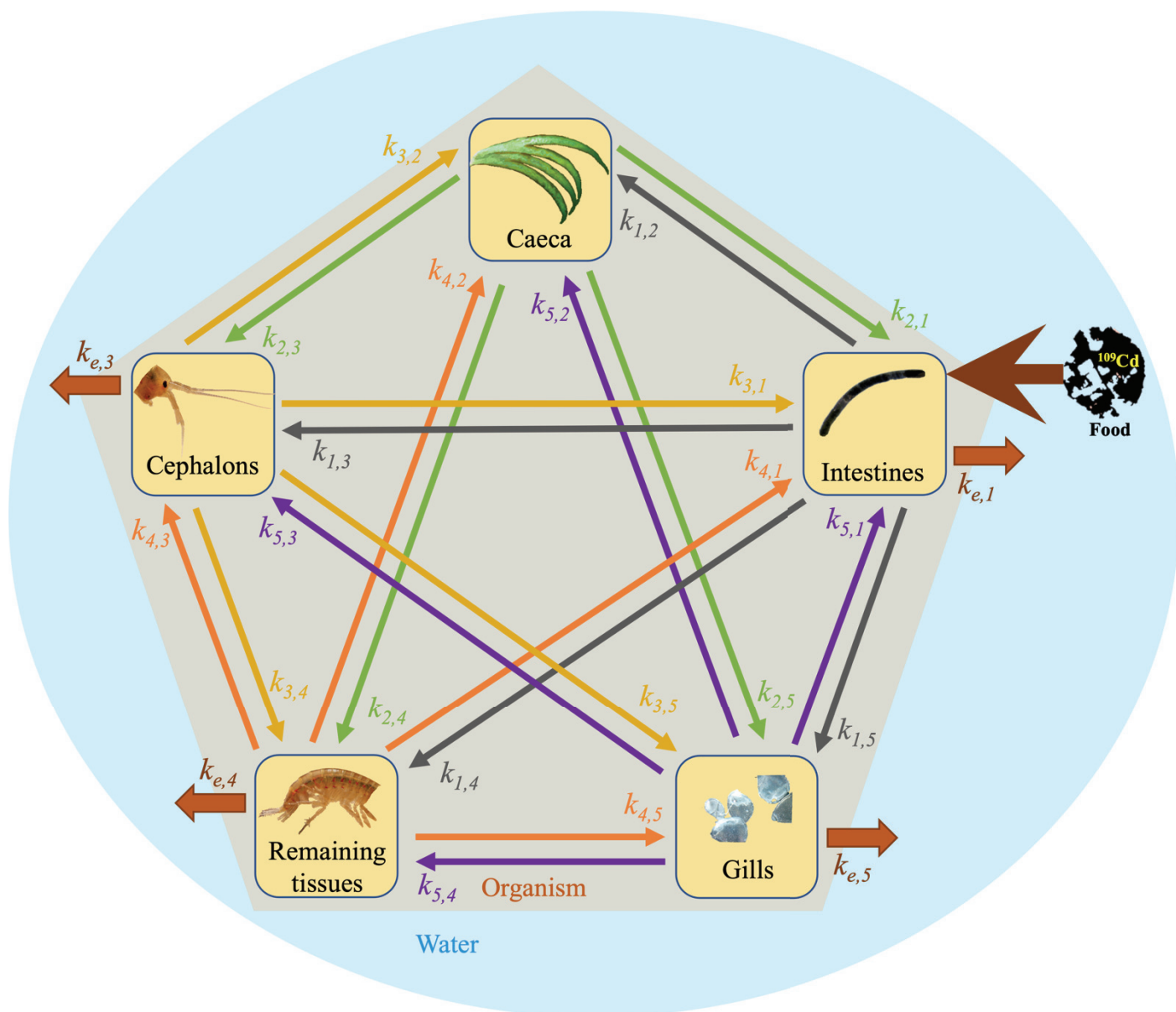


Figure S1. General complete scheme of the trophic multi-compartments TK model. The large blue outer border represents the medium surrounding the organism (i.e. water), the nibbled black circle on the right represent a nibbled disc of alder leave (food) contaminated by ^{109}Cd , the beige pentagon represents a whole gammarid and the yellow boxes inside represent the organs of interest associated with their respective concentrations C_i ($i=1$ for intestines, $i=2$ for caeca, $i=3$ for cephalons, $i=4$ for remaining tissues and $i=5$ for gills). The different arrows with the parameters $k_{e,i}$ correspond to the rates of elimination of Cd from the organ i to the water, the parameters k_{ji} symbolize the flow of Cd from the organ j to the organ i , the parameters k_{ij} symbolize the flow of Cd from the organ i to the organ j .

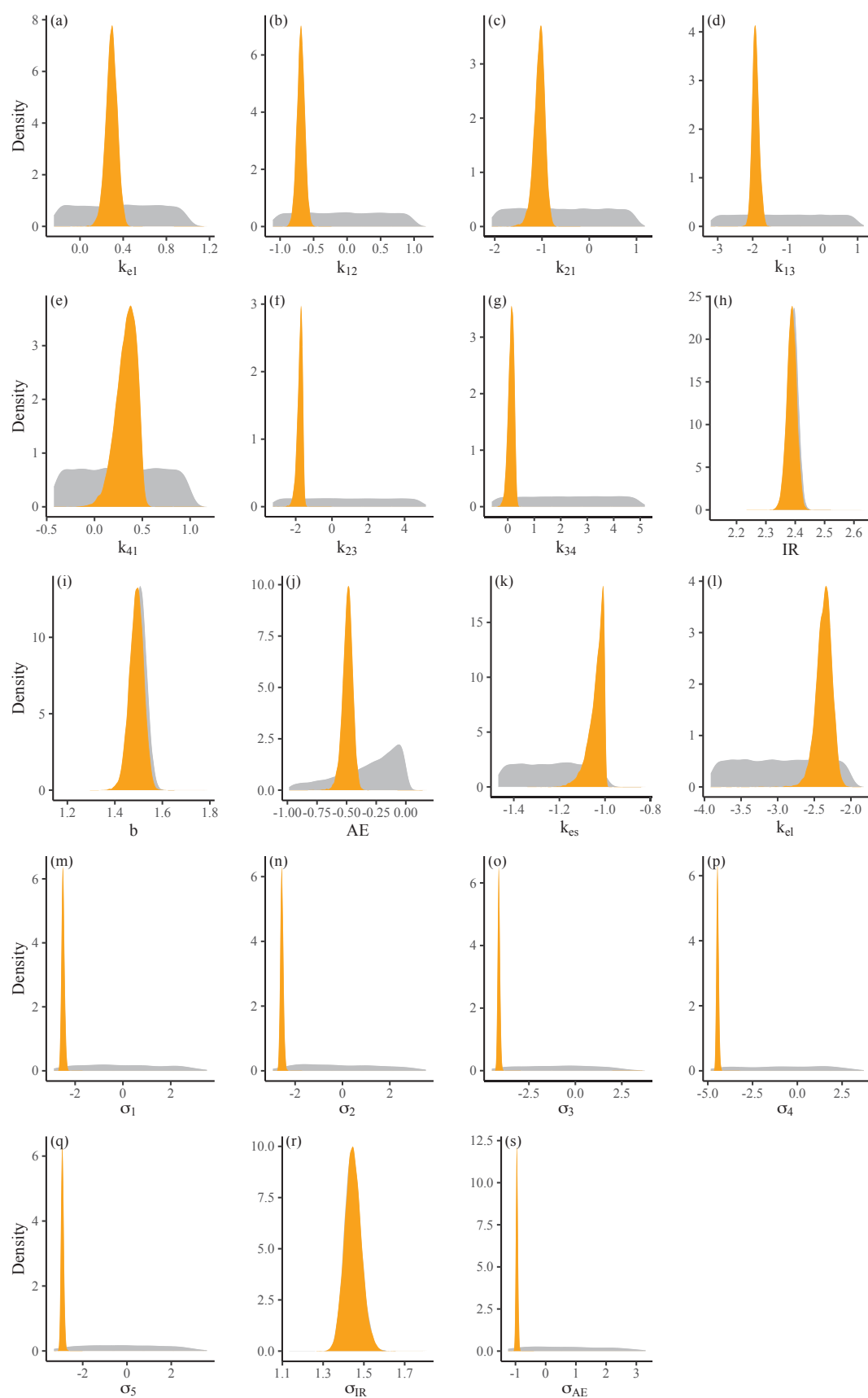


Figure S2. Representation of prior (grey) and posterior (orange) distributions of each parameter of the most parsimonious multi-compartment model (Eqs. (5) to (7)) fitted to each organ.

Multi-compartments model

The complete model consists of 10 coupled ordinary differential equations (ODE): 2 for each organ with one for the accumulation phase and a second for the depuration phase.

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{dC_1(t)}{dt} = AE * IR(t) * C_f(t) + k_{21} * C_2(t) + k_{31} * C_3(t) + k_{41} * C_4(t) + k_{51} * C_5(t) - (k_{e1} + k_{12} + k_{13} + k_{14} + k_{15}) * C_1(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S1) \\ \frac{dC_1(t)}{dt} = k_{21} * C_2(t) + k_{31} * C_3(t) + k_{41} * C_4(t) + k_{51} * C_5(t) - (k_{e1} + k_{12} + k_{13} + k_{14} + k_{15}) * C_1(t) & \text{for } t > t_c \quad (S2) \\ \frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12} * C_1(t) + k_{32} * C_3(t) + k_{42} * C_4(t) + k_{52} * C_5(t) - (k_{21} + k_{23} + k_{24} + k_{25}) * C_2(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S3) \\ \frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12} * C_1(t) + k_{32} * C_3(t) + k_{42} * C_4(t) + k_{52} * C_5(t) - (k_{21} + k_{23} + k_{24} + k_{25}) * C_2(t) & \text{for } t > t_c \quad (S4) \\ \frac{dC_3(t)}{dt} = k_{13} * C_1(t) + k_{23} * C_2(t) + k_{43} * C_4(t) + k_{53} * C_5(t) - (k_{e3} + k_{31} + k_{32} + k_{34} + k_{35}) * C_3(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S5) \\ \frac{dC_3(t)}{dt} = k_{13} * C_1(t) + k_{23} * C_2(t) + k_{43} * C_4(t) + k_{53} * C_5(t) - (k_{e3} + k_{31} + k_{32} + k_{34} + k_{35}) * C_3(t) & \text{for } t > t_c \quad (S6) \\ \frac{dC_4(t)}{dt} = k_{14} * C_1(t) + k_{24} * C_2(t) + k_{34} * C_3(t) + k_{54} * C_5(t) - (k_{e4} + k_{41} + k_{42} + k_{43} + k_{45}) * C_4(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S7) \\ \frac{dC_4(t)}{dt} = k_{14} * C_1(t) + k_{24} * C_2(t) + k_{34} * C_3(t) + k_{54} * C_5(t) - (k_{e4} + k_{41} + k_{42} + k_{43} + k_{45}) * C_4(t) & \text{for } t > t_c \quad (S8) \\ \frac{dC_5(t)}{dt} = k_{15} * C_1(t) + k_{25} * C_2(t) + k_{35} * C_3(t) + k_{45} * C_4(t) - (k_{e5} + k_{51} + k_{52} + k_{53} + k_{54}) * C_5(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (S9) \\ \frac{dC_5(t)}{dt} = k_{15} * C_1(t) + k_{25} * C_2(t) + k_{35} * C_3(t) + k_{45} * C_4(t) - (k_{e5} + k_{51} + k_{52} + k_{53} + k_{54}) * C_5(t) & \text{for } t > t_c \quad (S10) \end{array} \right.$$

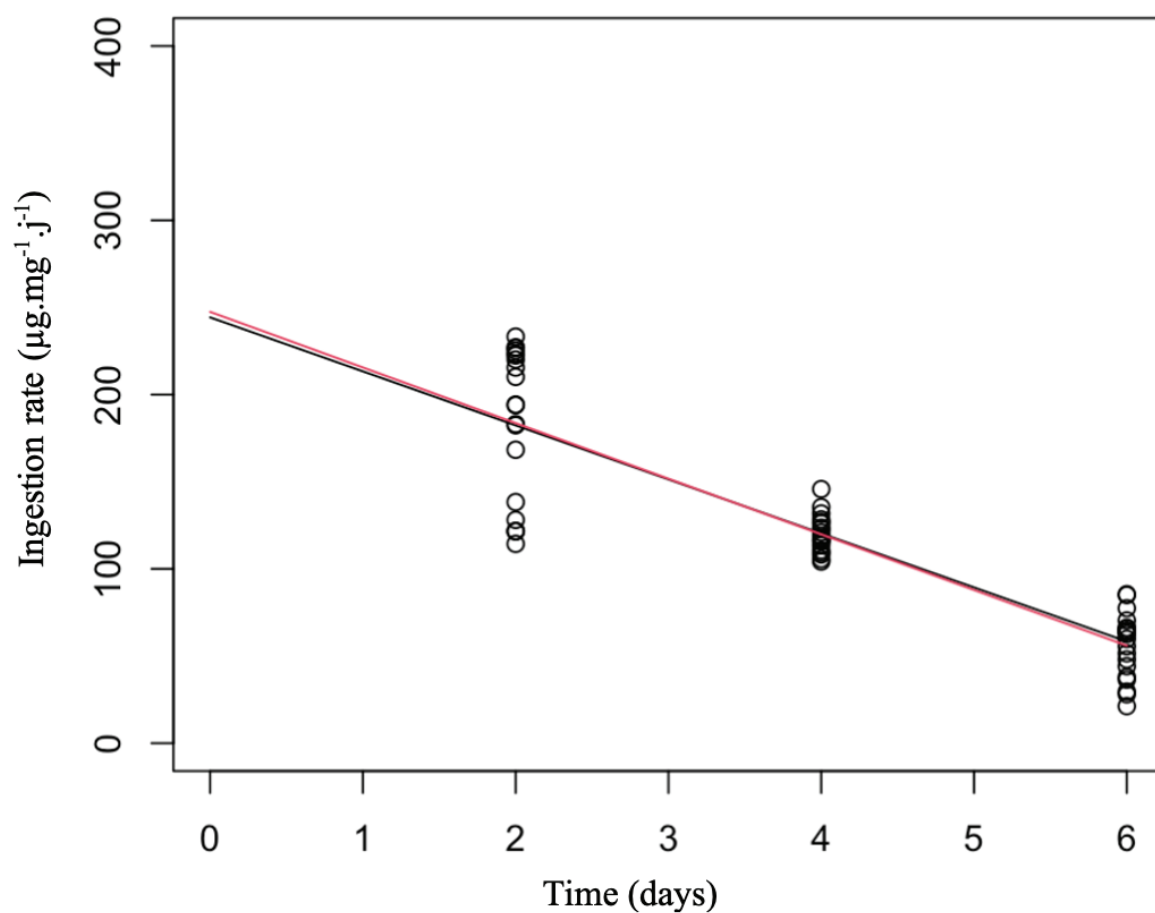


Figure S3. Measured (dots) and predicted (red line) values of ingestion rate ($\mu\text{g.mg}^{-1}.\text{d}^{-1}$) of gammarids, during the exposure phase, from alder leaves discs contaminated by ^{109}Cd .

Références

- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: A review. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 174, 439-452. <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0438-0>
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., Désy, J.C., 1996. Total metal burdens in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus*: Contribution of various body parts and influence of gut contents. *Freshw. Biol.* 35, 363-373. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.00493.x>
- Baldisserotto, B., Kamunde, C., Matsuo, A., Wood, C.M., 2004. A protective effect of dietary calcium against acute waterborne cadmium uptake in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 67, 57-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.12.004>
- Baudin, J., Garnier, J., Lambrechts, A., Foulquier, L., 1989. Données expérimentales sur les formes physico-chimiques de l'antimoine 125 et de l'argent 110m et sur leurs transferts à un poisson dulçaquicole, la carpe.
- Besse, J.P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., Geffard, O., 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. *Water Res.* 47, 650-660. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024>
- Borgmann, U., Couillard, Y., Grapentine, L.C., 2007. Relative contribution of food and water to 27 metals and metalloids accumulated by caged *Hyaella azteca* in two rivers affected by metal mining. *Environ. Pollut.* 145, 753-765. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.05.020>
- Bustamante, P., Teyssié, J.L., Fowler, S.W., Cotret, O., Danis, B., Miramand, P., Warnau, M., 2002. Biokinetics of zinc and cadmium accumulation and depuration at different stages in the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 231, 167-177. <https://doi.org/10.3354/meps231167>
- Charles, S., Gestin, O., Bruset, J., Lamonica, D., Baudrot, V., Chaumot, A., Geffard, O., Lopes, C., 2022. Generic solving of physiologically-based kinetic models in support of next generation risk assessment due to chemicals. *J. Explor. Res. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1101/2022.04.29.490045>
- Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J., Maltby, L., 2015. Gammarids as reference species for freshwater monitoring, *Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5>
- Chiodi Boudet, L., Mendieta, J., Romero, M.B., Dolagaratz Carricavur, A., Polizzi, P., Marcovecchio, J.E., Gerpe, M., 2019. Strategies for cadmium detoxification in the white shrimp *Palaemon argentinus* from clean and polluted field locations. *Chemosphere* 236. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.194>
- Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S., Chaumot, A., 2011. In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the

- influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. *Water Res.* 45, 6417-6429. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2009. Predicting dietborne metal toxicity from metal influxes. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4915-4921. <https://doi.org/10.1021/es9007454>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2008. A biodynamic understanding of dietborne metal uptake by a freshwater invertebrate. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1801-1806. <https://doi.org/10.1021/es7022913>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Stewart, A.R., 2005. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnol. Oceanogr.* 50, 1511-1519. <https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.5.1511>
- Dayras, P., Charmantier, G., Chaumot, A., Vigneron, A., Coquery, M., Quéau, H., Artells, E., Lignot, J.H., Geffard, O., Issartel, J., 2017. Osmoregulatory responses to cadmium in reference and historically metal contaminated *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) populations. *Chemosphere* 180, 412-422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.016>
- Dedourge-Geffard, O., Charron, L., Hofbauer, C., Gaillet, V., Palais, F., Lacaze, E., Geffard, A., Geffard, O., 2013. Temporal patterns of digestive enzyme activities and feeding rate in gammarids (*Gammarus fossarum*) exposed to inland polluted waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 97, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.016>
- Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O., Geffard, A., 2009. Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An in situ experiment. *Chemosphere* 77, 1569-1576. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.042>
- Duan, Y., Wang, Y., Huang, J., Li, H., Dong, H., Zhang, J., 2021. Toxic effects of cadmium and lead exposure on intestinal histology, oxidative stress response, and microbial community of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Mar. Pollut. Bull.* 167. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112220>
- Dutton, J., Fisher, N.S., 2011. Bioaccumulation of As, Cd, Cr, Hg(II), and MeHg in killifish (*Fundulus heteroclitus*) from amphipod and worm prey. *Sci. Total Environ.* 409, 3438-3447. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.022>
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, OJ L327, 22.12.2000.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 86, 413-425. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.002>
- Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Sertić Perić, M., Matoničkin Kepčija, R., Gulin, V., Velki, M., Ečimović, S., Hackenberger, B.K., Erk, M., 2016. Investigation of the soluble metals in tissue as biological response pattern to environmental pollutants (*Gammarus*

- fossarum* example). Chemosphere 154, 300-309.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.058>
- Franco-uría, A., Otero-muras, I., Balsa-Canto, E., Alonso, A.A., Roca, E., 2010. Generic parameterization for a pharmacokinetic model to predict Cd concentrations in several tissues of different fish species. Chemosphere 79, 377-386.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.010>
- Franklin, N.M., Glover, C.N., Nicol, J.A., Wood, C.M., 2005. Calcium/cadmium interactions at uptake surfaces in rainbow trout: Waterborne versus dietary routes of exposure. Environ. Toxicol. Chem. 24, 2954-2964. <https://doi.org/10.1897/05-007R.1>
- Gelman, A., Carlin, J.B., Stern, H.S., Rubin, D.B., 1995. Bayesian Data Analysis, 1st Ed., ed. Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9780429258411>
- Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccia, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals' organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. Environ. Int. 156. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>
- Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T., 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. Environ. Pollut. 308. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119625>
- Grech, A., Brochot, C., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Bois, F.Y., Beaudouin, R., 2017. Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals. Sci. Total Environ. 578, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.146>
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F.Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Beaudouin, R., 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. Sci. Total Environ. 651, 516-531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.163>
- Hadji, R., Urien, N., Uher, E., Fechner, L.C., Lebrun, J.D., 2016. Contribution of aqueous and dietary uptakes to lead (Pb) bioaccumulation in *Gammarus pulex*: From multipathway modeling to in situ validation. Ecotoxicol. Environ. Saf. 129, 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.033>
- Handy, R.D., 1993. The effect of acute exposure to dietary Cd and Cu on organ toxicant concentrations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* 27, 1-14.
- Huang, Y., Tang, H., Jin, J., Fan, M. bi, Chang, A.K., Ying, X., 2020. Effects of waterborne cadmium exposure on its internal distribution in *Meretrix meretrix* and detoxification by metallothionein and antioxidant enzymes. Front. Mar. Sci. 7, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00502>
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). Chemosphere 81, 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>

- Jakob, L., Bedulina, D.S., Axenov-gribanov, D. V, Ginzburg, M., Shatilina, Z.M., Lubyaga, Y.A., Madyarova, E. V, Gurkov, A.N., Timofeyev, M.A., Pörtner, H., Sartoris, F.J., Altenburger, R., Luckenbach, T., 2017. Uptake kinetics and subcellular compartmentalization explain lethal but not sublethal effects of cadmium in two closely related amphipod species. *Environ. Sci. Technol.* 51, 7208-7218. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06613>
- Kunz, P.Y., Kienle, C., Gerhardt, A., 2010. *Gammarus* spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests, *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1
- Lacoue-Labarthe, T., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Bustamante, P., 2009. Bioaccumulation of inorganic Hg by the juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* exposed to ²⁰³Hg radiolabelled seawater and food. *Aquat. Biol.* 6, 91-98. <https://doi.org/10.3354/ab00172>
- Lam, I.K.S., Wang, W.-X., 2006. Accumulation and elimination of aqueous and dietary silver in *Daphnia magna*. *Chemosphere* 64, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.023>
- Lancôt, C.M., Cresswell, T., Melvin, S.D., 2017. Uptake and tissue distributions of cadmium, selenium and zinc in striped marsh frog tadpoles exposed during early post-embryonic development. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 291-299. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.047>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Fechner, L.C., 2017. Behavioural and biochemical responses to metals tested alone or in mixture (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) in *Gammarus fossarum*: From a multi-biomarker approach to modelling metal mixture toxicity. *Aquat. Toxicol.* 193, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.018>
- Liu, J., Cao, L., Dou, S., 2019. Trophic transfer, biomagnification and risk assessments of four common heavy metals in the food web of Laizhou Bay, the Bohai Sea. *Sci. Total Environ.* 670, 508-522. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.140>
- Ma, W., Wang, L., He, Y., Yan, Y., 2008. Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in freshwater crab *Sinopotamon henanense* during acute exposure to waterborne cadmium. *Wiley InterSci.* 393-400. <https://doi.org/10.1002/tox.20339>
- MacKay, D., Fraser, A., 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: Mechanisms and models. *Environ. Pollut.* 110, 375-391. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00162-7)
- Maculewicz, J., Świacka, K., Kowalska, D., Stolte, S., Dołzonek, J., 2020. In vitro methods for predicting the bioconcentration of xenobiotics in aquatic organisms. *Sci. Total Environ.* <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140261>
- Maltby, L., Clayton, S.A., Wood, R.M., McLoughlin, N., 2002. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: robustness, responsiveness, and relevance. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 361-368.

- Metian, M., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Bustamante, P., 2007. Interspecific comparison of Cd bioaccumulation in European Pectinidae (*Chlamys varia* and *Pecten maximus*). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 353, 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.09.001>
- Mok, J.S., Kwon, J.Y., Son, K.T., Choi, W.S., Shim, K.B., Lee, T.S., Kim, J.H., 2014. Distribution of heavy metals in muscles and internal organs of Korean cephalopods and crustaceans: Risk assessment for human health. J. Food Prot. 77, 2168-2175. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-317>
- Ng, T.Y.T., Wood, C.M., 2008. Trophic transfer and dietary toxicity of Cd from the oligochaete to the rainbow trout. Aquat. Toxicol. 87, 47-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.01.003>
- Nunez-Nogueira, G., Rainbow, P.S., Smith, B.D., 2006. Assimilation efficiency of zinc and cadmium in the decapod crustacean *Penaeus indicus*. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 332, 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.11.004>
- Ortega, P., Custódio, M.R., Zanotto, F.P., 2017. Characterization of cadmium transport in hepatopancreatic cells of a mangrove crab *Ucides cordatus*: The role of calcium. Aquat. Toxicol. 188, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.04.012>
- Pellet, B., Ayrault, S., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Gourlay-Francé, C., 2014. Quantifying diet-borne metal uptake in *Gammarus pulex* using stable isotope tracers. Ecotoxicol. Environ. Saf. 110, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.001>
- Pellet, B., Geffard, O., Lacour, C., Kermoal, T., Gourlay-Francé, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2009. A model predicting waterborne cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex*: the effects of dissolved organic ligands, calcium, and temperature. Environ. Toxicol. Chem. 28, 2434-2442. <https://doi.org/10.1897/09-042.1>
- Plummer, M., 2003. JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using gibbs sampling JAGS: Just Another Gibbs Sampler, in: 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing. Vienne, Austria, p. 8.
- Polak-Juszczak, L., Góra, A., 2019. Organotropism of organic and inorganic mercury in fish from the Vistula Lagoon, Poland. J. Elem. 24, 589-602. <https://doi.org/10.5601/jelem.2018.23.2.1663>
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, in: R Foundation for Statistical Computing. Vienne, Austria.
- Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? Environ. Pollut. 120, 497-507. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00238-5)
- Ratier, A., Baudrot, V., Kaag, M., Siberchicot, A., Lopes, C., Charles, S., 2022a. rbioacc: An R-package to analyze toxicokinetic data. Ecotoxicol. Environ. Saf. 242, 0-3. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113875>
- Ratier, A., Charles, S., 2022. Accumulation-depuration data collection in support of toxicokinetic modelling. Sci. Data 9, 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01248-y>

- Ratier, A., Lopes, C., Multari, G., Mazerolles, V., Carpentier, P., Charles, S., 2022b. New perspectives on the calculation of bioaccumulation metrics for active substances in living organisms. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 18, 10-18. <https://doi.org/10.1002/ieam.4439>
- Reinfelder, J.R., Fisher, N.S., 1994. Retention of elements absorbed by juvenile fish (*Menidia menidia*, *Menidia beryllina*) from zooplankton prey. *Limnol. Oceanogr.* 39, 1783-1789. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.8.1783>
- Reinfelder, J.R., Fisher, N.S., 1991. The assimilation of elements ingested by marine copepods. *Science* (80-.). 251, 794-796. <https://doi.org/10.1126/science.251.4995.794>
- Ren, X., Wang, X., Liu, P., Li, J., 2019. Bioaccumulation and physiological responses in juvenile *Marsupenaeus japonicus* exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 214. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105255>
- Roditi, H.A., Fisher, N.S., 1999. Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels. *Limnol. Oceanogr.* 44, 1730-1749. <https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.7.1730>
- Schaller, J., Dharamshi, J., Dudel, E.G., 2011. Enhanced metal and metalloid concentrations in the gut system comparing to remaining tissues of *Gammarus pulex* L. *Chemosphere* 83, 627-631. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.063>
- Serdar, O., Pala, A., Ince, M., Onal, A., 2019. Modelling cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex* by using experimental design approach. *Chem. Ecol.* 35, 922-936. <https://doi.org/10.1080/02757540.2019.1670814>
- Spiegelhalter, D.J., Best, N.G., Carlin, B.P., Van Der Linde, A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 64, 583-639. <https://doi.org/10.1111/1467-9868.00353>
- Stadnicka, J., Schirmer, K., Ashauer, R., 2012. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3273-3280. <https://doi.org/10.1021/es2043728>
- Szebedinszky, C., McGeer, J.C., Gordon McDonald, D., Wood, C.M., 2001. Effects of chronic Cd exposure via the diet or water on internal organ-specific distribution and subsequent gill Cd uptake kinetics in juvenil rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 597. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2001\)020<0597:eoccev>2.0.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2001)020<0597:eoccev>2.0.co;2)
- Taylor, D., 1983. The significance of the accumulation of cadmium by aquatic organisms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 7, 33-42. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(83\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0147-6513(83)90046-5)
- Timmermans, K.R., Spijkerman, E., Tonkes, M., Govers, H.A.J., 1992. Cadmium and zinc uptake by two species of aquatic invertebrate predators from dietary and aqueous sources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49, 655-662. <https://doi.org/10.1139/f92-074>
- Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Quéau, H., Coquery, M., Chaumot, A., Geffard, O., 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: Field experimentation at

- a large spatial scale (France). *Water Res.* 95, 330-339. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023>
- Van Campenhout, K., Bervoets, L., Redeker, E.S., Blust, R., 2009. A kinetic model for the relative contribution of waterborne and dietary cadmium and zinc in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 209-219. <https://doi.org/10.1897/08-136.1>
- Van Den Brink, N.W., Jemec Kokalj, A., Silva, P. V., Lahive, E., Norrfors, K., Baccaro, M., Khodaparast, Z., Loureiro, S., Drobne, D., Cornelis, G., Lofts, S., Handy, R.D., Svendsen, C., Spurgeon, D., Van Gestel, C.A.M., 2019. Tools and rules for modelling uptake and bioaccumulation of nanomaterials in invertebrate organisms. *Environ. Sci. Nano* 6, 1985-2001. <https://doi.org/10.1039/c8en01122b>
- Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., Lanno, R.P., Van Straalen, N.M., Peijnenburg, W.J.G.M., 2004. Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4705-4712. <https://doi.org/10.1021/es040354g>
- Wang, W.-X., Fisher, N.S., 1999. Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: A synthesis. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2034-2045. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1999\)018<2034:AEOCCI>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1999)018<2034:AEOCCI>2.3.CO;2)
- Wang, W.-X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1996. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 140, 91-113.
- Wang, W.-X., Rainbow, P.S., 2008. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 148, 315-323. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.003>
- Wang, W.-X., Wong, R.S.K., 2003. Bioaccumulation kinetics and exposure pathways of inorganic mercury and methylmercury in a marine fish, the sweetlips *Plectorhinchus gibbosus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 261, 257-268. <https://doi.org/10.3354/meps261257>
- Wang, X., Wang, W.-X., 2016. Homeostatic regulation of copper in a marine fish simulated by a physiologically based pharmacokinetic model. *Environ. Pollut.* 218, 1245-1254. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.080>
- Wang, X., Wang, W.-X., 2015. Physiologically based pharmacokinetic model for inorganic and methylmercury in a marine fish. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10173-10181. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02301>
- Wang, X., Wu, F., Wang, W.-X., 2017. In vivo mercury demethylation in a marine fish (*Acanthopagrus schlegeli*). *Environ. Sci. Technol.* 51, 6441-6451. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00923>
- Weeks, J.M., Rainbow, P.S., 1993. The relative importance of food and seawater as sources of copper and zinc to talitrid amphipods (Crustacea; Amphipoda; Talitridae). *J. Appl. Ecol.* 30, 722. <https://doi.org/10.2307/2404250>
- Wiech, M., Amlund, H., Jensen, K.A., Aldenberg, T., Duinker, A., Maage, A., 2018. Tracing simultaneous cadmium accumulation from different uptake routes in brown crab

Cancer pagurus by the use of stable isotopes. *Aquat. Toxicol.* 201, 198-206.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.05.015>

Wilding, J., Maltby, L., 2006. Relative toxicological importance of aqueous and dietary metal exposure to a freshwater crustacean: Implications for risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 1795-1801. <https://doi.org/10.1897/05-316R1.1>

Zhang, H., Reynolds, M., 2019. Cadmium exposure in living organisms : A short review. *Sci. Total Environ.* 678, 761-767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>

Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta* 606, 135-150.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>

Conclusion de l'article

Dans cette étude, nous avons réussi à contaminer des gammares *via* la voie trophique de façon continue pendant six jours et à récupérer les organes pour mesurer la quantité de Cd accumulée. Les caeca et les intestins représentent ensemble environ 83% de la charge totale de l'organisme et concentrent environ 40 fois plus de Cd que les céphalons et les tissus restants. Les céphalons et les tissus restants sont très faiblement chargés, chacun représentant moins de 3 et 14% de la charge totale de l'organisme, respectivement. Il est intéressant de noter que les branchies ne présentent pas de quantités significatives de Cd, ce qui suggère qu'elles ne jouent aucun rôle dans le stockage ou l'élimination du Cd alimentaire. Tout au long de la phase d'accumulation, le taux d'ingestion des organismes a été mesuré et a montré une diminution dans le temps, ce qui implique que les organismes n'ont pas été exposés à une concentration constante de Cd. Le schéma final de gestion du Cd montre un échange bidirectionnel de Cd entre les intestins et les caeca, un échange unidirectionnel des caeca aux céphalons, des céphalons aux tissus restants, des tissus restants aux intestins, et enfin une élimination dans les milieux environnants se produisant uniquement par l'intestin. Ainsi : i) les intestins combinent les rôles d'organes d'absorption, de distribution et d'élimination du Cd ; et ii) les caeca stockent la majeure partie du Cd, vraisemblablement sous une forme détoxifiée. Cette étude, couplée à d'autres études récentes étudiant l'organotropisme suite à une contamination par la voie dissoute (Gestin et al., 2022), améliore grandement la compréhension du devenir du Cd chez les gammares et le rôle que les organes jouent dans le processus global de gestion du Cd.

Chapitre VI : Discussion générale & Perspectives

Les métaux sont particulièrement problématiques pour les écosystèmes aquatiques car ce sont des éléments qui persistent dans les milieux et s'accumulent dans les organismes. Cela engendre un effet toxique sur les organismes à plusieurs niveaux : i) moléculaires, comme la génotoxicité ; ii) tissulaires, comme la nécrose ; iii) individuels, notamment comportementaux ; et i) populationnels, par la disparition des organismes dans le milieu (Dayras et al., 2017; Frías-Espericueta et al., 2022; Issartel et al., 2010; Jakob et al., 2017; Júdová, 2006; Kadiene et al., 2019; Ren et al., 2019; Soegianto et al., 2013). L'évaluation du risque environnemental repose sur la connaissance de la relation de cause à effet entre la concentration d'un contaminant dans un milieu et son impact (toxico-dynamique) sur les organismes (Ockleford et al., 2018). Cette relation dépend des mécanismes régissant la bioaccumulation du contaminant (toxico-cinétique), c'est-à-dire qui déterminent le taux d'accumulation, le taux d'élimination ainsi que la distribution du contaminant dans les tissus cibles et *in fine* les effets toxiques du contaminant sur l'organisme (Huang et al., 2012; Ratier et al., 2019). Par conséquent, mieux comprendre ces mécanismes dans les organismes est nécessaire pour identifier le rôle des organes dans les processus ADME et ainsi mieux prédire les liens concentrations - effets d'un contaminant (Allen et Weihrauch, 2021; Chen, 2016; Gao et al., 2019; McCarty et Mackay, 1993). Jusqu'à présent, l'étude de la toxico-cinétique des métaux au niveau des organes chez les organismes aquatiques a principalement été effectuée chez les poissons. (Grech et al., 2019; O'Callaghan et al., 2019).

Les gammarès sont des invertébrés d'eau douce très utilisés en écotoxicologie qui possèdent une bonne capacité de bioaccumulation des contaminants (Dedourge-Geffard et al., 2009; Pellet et al., 2014; Rainbow et Luoma, 2011a). Cependant, jusqu'à présent, les études de la bioaccumulation des métaux chez cet organisme ont été effectuées essentiellement au niveau de l'organisme entier dû aux difficultés de quantification des métaux dans les faibles biomasses que représentent les organes des petits invertébrés (Kunz et al., 2010; Pellet et al., 2014, 2009; Urien et al., 2017, 2015). Une des plus-values des travaux regroupés dans ce manuscrit réside par conséquent dans l'étude de la bioaccumulation des métaux **au niveau des organes** d'un macro-invertébré avec une **vision dynamique** de leur accumulation, distribution et élimination. Nous avons cherché, chez des gammarès males de l'espèce *Gammarus fossarum*, à : i) étudier l'organotropisme des métaux ; ii) comprendre le rôle des organes (voie d'entrée, stockage, détoxification, voie d'élimination) dans la bioaccumulation des métaux ; et iii) évaluer l'effet de facteurs comme la concentration d'exposition ou la source de contamination sur ces processus liés à la bioaccumulation. Le [Tableau VI-1](#) passe en revue les jeux de données obtenus lors des diverses expérimentations effectuées et présentées dans les Chapitres III à V de ce manuscrit, ainsi que les approches employées afin de répondre au mieux aux objectifs.



Tableau VI-1. Résumé de toutes les données présentées dans les différents chapitres de ce manuscrit, reprenant : le métal utilisé (cadmium, mercure ou zinc) ; les concentrations d'exposition ; la voie par laquelle les gammars ont été exposés (dissoute ou trophique) ; le temps de chaque expérimentation découpé en temps dédiés pour la phase d'accumulation et pour la phase de déuration ; les matrices dans lesquelles ont été mesurées les concentrations en métal ; les organes dans lesquels ont été mesurées les concentrations internes ; les approches utilisées pour exploiter les données ; et les paramètres estimés lors de la mise en place des différents modèles mathématiques, avec $k_{u,i}$ le taux d'accumulation à partir de l'eau de l'organe i , $k_{e,i}$ le taux d'élimination de l'organe i , k_{ij} le taux de transfert de l'organe i vers l'organe j , k_i le taux de transfert de l'organe j vers l'organe i , σ_i écart-type de la partie stochastique gaussienne associée à l'organe i , AE l'efficacité d'assimilation, k_{es} le taux d'élimination à court terme, k_d le taux d'élimination à long terme, IR0 la valeur du taux d'ingestion à $t=0$ et b la pente de la droite qui estime le taux d'ingestion au cours du temps.

Métal	Concentration d'exposition	Voie d'exposition	Matrices dans lesquelles les concentrations ont été mesurées			Approches utilisées	Paramètres estimés
			externes	biotes (nombre d'organes par pools)			
Cd	11 100 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (10 ≤ n ≤ 18)		Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i
	350 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Branchies, Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)	Proportions relatives BCF	Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i
	52,1 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Branchies, Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)	Proportions relatives BCF	Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i
	4,34 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Branchies, Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)	Proportions relatives BCF	Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i
	5,2 ng.mg feuilles ⁻¹	Trophique	Eaux + feuilles	Gammars entiers (suivi individuel)	Équation exponentielle à double composante		AE k_{es} et k_d
	0,585 ng.mg feuilles ⁻¹	Trophique	Eaux + feuilles	Branchies, Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)	Proportions relatives BMF	Modèles TK multi-compartiments	AE IR0 b k_{ij} $k_{e,i}$ et σ_i
Hg	270 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)		Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i
Zn	414 ng.L ⁻¹	Dissoute	Eaux	Branchies, Caeca, Céphalons, Intestins et Restes (5)	Proportions relatives BCF	Modèles TK un-compartiment Modèles TK multi-compartiments	$k_{u,i}$ $k_{e,i}$ et σ_i $k_{u,i}$ k_{ij} k_i $k_{e,i}$ et σ_i

I. « All models are wrong, but some are useful » (Georges Box, 1976)

Le but de ce bilan de couleur méthodologique est de présenter les approches mobilisées pour répondre à chaque question posée, et présenter les limites de chacune de ces méthodes. En effet, les données obtenues ont été regardées sous différents angles (concentrations et/ou quantités relatives) et analysées à l'aide de différentes approches, notamment de manière statique avec le calcul des BCF, mais également avec une vision plus dynamique par l'utilisation de modèles TK mono- et multi-compartiments. Toutes ces approches ont été utilisées de manière complémentaire afin de répondre aux différents aspects de la question globale de la bioaccumulation des métaux au niveau des organes du gammare.

Les premières questions qui ont été posées dans nos travaux étaient : i) est-ce que le Cd accumulé par la voie dissoute se distribue différemment dans les organes ; ii) quel est le rôle des différents organes dans la bioaccumulation de ce métal ; et iii) quel est le schéma de gestion global du Cd chez le gammare ?

Pour regarder l'organotropisme du Cd, nous avons dans un premier temps regardé les concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) des organes en fin de phase d'accumulation (jour 7) conduisant au classement suivant : branchies >> intestins $\approx$ caeca >> tissus restants > céphalons. Cette concentration plus forte dans les branchies suivie des caeca est communément retrouvée après une accumulation du Cd par la voie dissoute, que ce soit chez les crustacés ou chez les poissons (Cresswell et al., 2017a; Kim et al., 2004; Szebedinszky et al., 2001). Si cette approche confirme une accumulation hétérogène du Cd entre les organes, chez le gammare, elle ne permet pas de prédire les concentrations et la distribution du métal au cours du temps. Les modèles TK mono-compartiment sont la plupart du temps utilisés pour étudier la cinétique d'un contaminant au niveau de l'organisme entier (Grech et al., 2017; Ratier et al., 2019; Wang et Tan, 2019). Le compartiment étudié peut cependant être un tissu ou un organe (Ju et al., 2011; Rocha et al., 2015). L'ajustement du modèle aux données observées nécessite de connaître la concentration en contaminant du compartiment et la concentration externe, pour différents pas de temps au cours d'une phase d'accumulation et une phase de dépuration. Cela permet d'obtenir une vision dynamique de la bioaccumulation du contaminant par l'organe au cours du temps, à travers les paramètres cinétiques tels que le taux d'accumulation, k_a , et le taux d'élimination, k_e (Ratier et al., 2019). Ainsi, en plus de la capacité d'accumulation d'un organe, l'ajustement d'un modèle TK mono-compartiment va également décrire sa capacité d'élimination. Dans le cas du Cd, nous avons montré que les branchies, les intestins et les caeca sont tous les trois des organes possédant une forte capacité

d'accumulation de cet ETM. La mise en place de modèles mono-compartiment pour chaque organe séparément a démontré que le meilleur ajustement est obtenu pour les branchies lorsque le k_e est fixé à 0, indiquant que contrairement à l'intestin et aux caeca, les branchies n'éliminent pas le Cd. Ainsi, l'identification du rôle des organes dans la gestion du contaminant est rendue possible. Cependant, pour certains organes, qui ne sont anatomiquement pas directement en contact avec le milieu extérieur comme les caeca, les céphalons et les tissus restants (principalement composés de muscles) (Schmitz, 1967), ce type de modèle peut manquer de bien-fondé physiologique réel. De plus, les ajustements se font indépendamment pour chaque organe/tissu, ce qui ne permet pas d'appréhender les échanges inter-organes. Les modèles TK multi-compartiments sont donc basés sur une représentation des différents organes sous la forme de compartiments reliés entre eux, formalisant les flux de métal possibles au sein de l'organisme et les processus ADME régissant l'exposition d'un organisme à un contaminant. Le développement de modèles multi-compartiments chez un invertébré crustacé d'eau douce est l'une des sorties les plus innovantes et originales des travaux présentés en amont. En effet, il existe à notre connaissance seulement trois autres études de modèles (PB)TK chez des organismes invertébrés, tous mollusques marins : l'huître *Crassostrea virginica*, l'ormeau *Haliotis diversicolor* et la pétoncle *Chlamys farreri* (Liao et al., 2000; Liu et al., 2014; Wintermyer et al., 2005). De plus, dans ces trois études, comme dans la plupart des études (PB)TK ajustant des modèles multi-compartiments, les liens entre compartiments sont fixés au départ et ne sont jamais questionnés (Grech et al., 2019; Krishnan et Peyret, 2009; Otero-Muras et al., 2010; Stadnicka et al., 2012; Wang et Tan, 2019). De notre côté, pour appréhender les échanges inter-organes ainsi que ceux entre les organes et le milieu extérieur, nous avons pris le parti de laisser tous les liens organe-organe et organe-milieu possibles. En supprimant les liens un par un à l'aide d'un processus itératif d'inférence, nous avons sélectionné *in fine* le modèle TK multi-compartiments le plus parcimonieux. Les résultats font ainsi ressortir les liens existants entre les organes en donnant un aperçu qualitatif et quantitatif des organes constituant les voies d'entrée et de sortie du Cd et des transferts inter-organes de Cd. C'est ainsi que pour le Cd nous avons pu déterminer que l'intestin et les branchies sont tous les deux des voies d'entrée prédominantes lors d'une contamination par voie dissoute, mais que l'intestin est la seule voie d'élimination de l'organisme vers le milieu. Ces travaux montrent l'intérêt de sélectionner le modèle par processus itératif, car beaucoup de modèles PBTK sont développés en partant du postulat que les organes d'entrée et de sortie d'un contaminant accumulé par la voie dissoute sont uniquement les branchies (Grech et al., 2019; Krishnan et Peyret, 2009; Otero-Muras et al., 2010; Stadnicka et al., 2012; Wang et Tan, 2019). Et ce, même s'il a déjà été démontré que les poissons marins et dulçaquicoles ingurgitent de l'eau par leur canal alimentaire, dans le contexte des régulations ioniques et

osmotiques de l'organisme (Evans, 1980; Griffith, 2017). Le principe de parcimonie est donc important car par définition un modèle représente toujours une altération de la réalité, en décrivant les choses le plus simplement possible si cela suffit à décrire correctement les données, car « ce qui est simple est toujours faux, mais ce qui ne l'est pas est inutilisable »²² (Grech et al., 2017; Rowland et al., 2017; Wang et Tan, 2019). Les limites de l'utilisation de modèles (PB)TK multi-compartiments sont généralement d'ordre expérimental et analytique, puisque leur ajustement (ou l'inférence de leurs paramètres) nécessite d'obtenir *a minima*, pour une concentration d'exposition, les concentrations observées dans les différents compartiments étudiés et à différents pas de temps. Ce sont bien souvent ces données qui font défaut dans la littérature chez les invertébrés, et ce sont par conséquent les poissons qui sont les organismes biologiques les plus utilisés pour les modèles TK multi-compartiments (Grech et al., 2017; Hare et al., 2003; O'Callaghan et al., 2019).

Les questions qui ont ensuite été posées dans nos travaux étaient : i) est-ce que la concentration d'exposition en Cd par la voie dissoute a une influence sur les capacités de bioaccumulation des organes ; et ii) est-ce que le schéma de gestion global du Cd chez le gammare reste le même quelle que soit la concentration externe ou la voie d'exposition ?

Plutôt que de regarder de manière qualitative le classement des organes en fonction de leur concentration à la fin de la phase d'exposition, nous avons utilisé les facteurs de bioconcentration (BCF) des organes qui normalisent la concentration interne en Cd de chaque organe par la concentration en Cd dans l'eau. Pour cela, les BCF similaires calculés à la fin de la phase d'accumulation (jour 7) ont montré que pour tous les organes la concentration d'exposition n'avait pas d'influence sur la capacité de bioaccumulation du Cd des organes. Cela semble cohérent avec des résultats obtenus au niveau de l'organisme entier chez le gammare *Gammarus pulex*, dans les gammes de concentration que nous avons testées (Vellinger et al., 2012b). Les limites majeures sont que ce paramètre est calculé à un temps t , et le BCF est par conséquent le reflet de la capacité d'accumulation de l'organe à ce temps t mais ne fournit pas d'information sur les vitesses d'accumulation et d'élimination. L'utilisation de modèles TK mono-compartiments emboîtés, qui prédisent la concentration interne en fonction de celle de l'eau, traduit les capacités de bioaccumulation des organes au cours du temps. Leur application nous a permis de montrer que si la capacité de bioaccumulation des organes n'était pas influencée par la concentration d'exposition, les taux d'accumulation du Cd par les caeca, le céphalon, les branchies et les tissus restants sont influencés par la concentration d'exposition car ils ne restent pas constants. Ainsi, nous avons mis en évidence dans les travaux du Chapitre IV, que certains organes présentent des profils différents

²² Citation de Paul Valéry (1942), *Mauvaises pensées et autres*, Paris : Éditions Gallimard

d'accumulation du Cd pour des BCF de même ordre de grandeur. Cependant, l'ajustement de modèles TK multi-compartiments et la sélection du modèle le plus parcimonieux ont indiqué que malgré cette différence dans les taux d'accumulation des organes, le schéma qualitatif de gestion et du devenir du Cd à l'intérieur de l'organisme reste identique quelle que soit la concentration testée.

Enfin, si le fait de regarder les données en concentration apporte des informations cruciales sur la capacité de bioaccumulation des organes et du devenir des métaux dans l'organisme, cela ne donne pas de renseignements sur la contribution relative de chaque organe dans la contamination globale de l'organisme. En effet, lorsque les données sont regardées en termes de concentration, les fortes quantités en métal accumulées par les organes représentant un poids important, comme les tissus restants (77,5% du poids de l'organisme), vont être fortement pondérées ; tandis que les organes de faible poids, comme les branchies (1,3% du poids de l'organisme) vont plus facilement atteindre de fortes concentrations. Ainsi, le calcul de la contribution relative de chaque organe est donc un indicateur des organes qui intègrent le plus et ceux qui intègrent le moins le contaminant, relativement les uns par rapport aux autres, en quantité. Les résultats pour le Cd ont précisé l'importance des branchies dans la contribution en Cd total de l'organisme puisqu'elles représentent environ 1/3 de la charge totale de l'organisme en phase d'accumulation et 50% en phase de dépuración. Cette approche notamment a déjà été utilisée chez le gammare *Gammarus fasciatus*, afin de démontrer la distribution organe- et métal-spécifique de plusieurs ETM : le Cd, le Cr, le Cu, le Fe, le Mn, le Ni, le Pb et le Zn (Amyot et al., 1996). Elle est également largement utilisée pour comparer la contribution relative de chaque organe après une accumulation par voie dissoute ou trophique (Hédouin et al., 2010b; Metian et al., 2007; Szebedinszky et al., 2001; Wang et Wong, 2003). Si la contribution relative des organes peut être calculée pour tous les pas de temps pour lesquels il existe des données de concentration interne en contaminant, elle ne permet pas de prédire ce qui se passe entre deux pas de temps pour lesquels il existe des mesures. C'est pourquoi cette approche n'est pas considérée comme étant dynamique.

Ainsi, les avantages et les limites de chaque approche et les diverses applications que nous en avons faites pour apporter une réponse complète à une question globale, montrent bien leur complémentarité, ainsi que la richesse d'utiliser simultanément plusieurs stratégies d'analyse des données.

II. Organotropisme, toxico-cinétique et devenir des métaux chez G. fossarum

Les résultats des travaux effectués chez le gammare *G. fossarum* et présentés dans ce manuscrit montrent une constance entre les différentes conditions testées : celle de l'importance

de l'axe Intestin-Caeca dans l'accumulation et la gestion des métaux. En effet, les conclusions des Chapitres III à V soulignent que pour le Cd, le Hg et le Zn et quelle que soit la voie d'accumulation, l'intestin et les caeca concentrent fortement les métaux. L'apport d'une vision dynamique par le modèle TK multi-compartiments a démontré le rôle important de l'intestin dans l'accumulation, la distribution et l'élimination des métaux et ce même en condition de contamination dissoute. Ces résultats sont en accord avec le fait que les gammarés sont capables d'ingurgiter de l'eau dans leur intestin par voie orale et/ou anale afin de réguler leurs fonctions d'osmorégulation (Munro Fox, 1952), constituant une source de contamination importante. À l'inverse il a été étonnant de constater que les branchies jouent un rôle très minime dans la redistribution du Cd et aucun rôle dans son élimination, bien que cet ETM soit fortement accumulé par la voie dissoute. En effet, les branchies sont connues comme étant l'organe principal de la régulation osmotique et ionique chez les crustacés (Henry et al., 2012). Nous nous serions donc attendus à ce que les branchies soient une voie d'élimination des métaux, comme cela a été montré pour le Cd chez la crevette *Macrobrachium sintangense* (Soegianto et al., 2013).

En plus d'être organe-spécifique, la bioaccumulation est donc également métal-spécifique. Sachant que les ETM essentiels remplissent des fonctions biologiques d'ordre vital pour l'organisme et y possèdent leurs propres mécanismes de transport, il est *a priori* attendu que les métaux essentiels et non-essentiels ne se comportent pas de la même manière dans les organismes vivants (Lebrun et al., 2014b; Tercier-Waeber et al., 2012). Ainsi les métaux essentiels semblent fortement régulés par le métabolisme des organismes. Par exemple, nous avons quantifié pour le Zn, en moins de 24h, une élimination de 72% de la quantité totale accumulée pendant sept jours (Cf. Chapitre IV). Par conséquent, les gammarés intègrent une partie du Zn mais ne retiennent pas le surplus de Zn apporté par une contamination aiguë ou chronique quand ils se retrouvent ensuite dans des environnements non contaminés. De plus, il est intéressant de noter qu'à la fin de la phase de dépuration, le pourcentage de contribution de la charge relative en Zn de chaque organe correspond au pourcentage de la contribution relative du poids des organes de l'organisme. Les métaux non-essentiels, ne remplissant pas de fonctions biologiques, ne présentent pas de niveau basal lié au métabolisme même s'ils peuvent avoir un niveau qui ne revient pas à 0 lorsqu'ils sont stockés de façon définitive. Ces ETM non-essentiels sont généralement pris en charge au niveau du caeca où ils sont détoxifiés sous la forme de complexes liés à des métallothionéines ou précipités dans des lysosomes, comme cela a déjà été démontré chez plusieurs crustacés (Nassiri et al., 2000; Nunez-Nogueira et al., 2006a; Soegianto et al., 2013; Weeks, 1992). De cette manière, ces métaux deviennent inertes et ne peuvent plus interagir avec les structures biologiques. Seulement le caractère essentiel et non-essentiel n'est pas le seul critère à prendre en compte. En effet, les

résultats présentés dans le Chapitre III, comparant le Cd et le Hg montrent bien que la cinétique d'accumulation et d'élimination de ces deux métaux présentent des profils différents pour les intestins, les céphalons et les tissus restants. Si par la suite nous avons montré que le Cd a tendance à s'accumuler et à être stocké dans les branchies et à ne pas dépuré pendant la phase d'élimination, pour le Hg nous avons montré que ce profil est également observé mais dans le céphalon. Le rôle différent des organes dans la gestion du Cd et du Hg peut découler des processus de détoxification mis en place. L'hypothèse peut être faite qu'une partie du Hg au niveau du céphalon des gammarés peut être présent sous la forme MeHg puisque les propriétés de cette forme organométallique font qu'elle est dépurée beaucoup plus lentement, ~2,8 fois moins que les formes inorganiques, et de surcroît le MeHg est connu pour s'accumuler dans les structures nerveuses (Kidd et al., 2012). Ainsi, la capacité des métaux à s'accumuler dans les différents tissus ne provient pas seulement de leur caractère essentiel ou non-essentiel, mais également de leur potentiel à traverser les barrières biologiques (épithéliales et cellulaires) et des processus de détoxification qu'ils subissent, donc de la structure et des propriétés des molécules et des ions. L'étude de l'organotropisme et la détermination du rôle des organes dans la gestion et le devenir des métaux sont des informations qui s'avèrent utiles dans le cadre de la biosurveillance. En effet, le fait d'aller jusqu'au niveau organe/tissu peut être utilisé pour comprendre comment la contamination est intégrée dans les organismes et à quelle échelle temporelle.

Cependant de nombreux facteurs peuvent venir influencer la bioaccumulation (Besse et al., 2013; Pellet et al., 2014, 2009; Xu et Pascoe, 1994, 1993). Parmi ces facteurs, nous avons choisi la concentration d'exposition du métal et la voie d'accumulation.

L'influence de la concentration d'exposition en Cd sur sa bioaccumulation est présentée dans le Chapitre IV. Aucune incidence de la concentration d'exposition n'a pu être établie sur l'organotropisme, les processus ADME et le devenir du Cd pour des concentrations comprises entre 4 et 350 ng.L⁻¹. Dans le même sens, les BCF des intestins, des caeca et des céphalons exposés à 11 000 ng.L⁻¹ restent similaires aux BCF calculés pour ces mêmes organes exposés aux trois plus « faibles » concentrations²³ (Figure VI-1). Pour une concentration d'exposition de l'ordre de 3000 à 30 fois supérieure aux concentrations d'exposition utilisées dans le Chapitre IV, les BCF des organes ne sont pas influencés par la concentration d'exposition. De même, la comparaison du schéma global de gestion du Cd correspondant au modèle le plus parcimonieux obtenu dans le

²³ Il est à noter que pour la concentration d'exposition à 11 000 ng.L⁻¹, les tissus restants incluent également les branchies, c'est pourquoi ils n'ont pas été utilisés pour la comparaison.

Chapitre III et celui obtenu dans le Chapitre IV sont équivalents, montrant le rôle central de l'intestin comme seul organe responsable de la distribution du Cd aux autres organes.

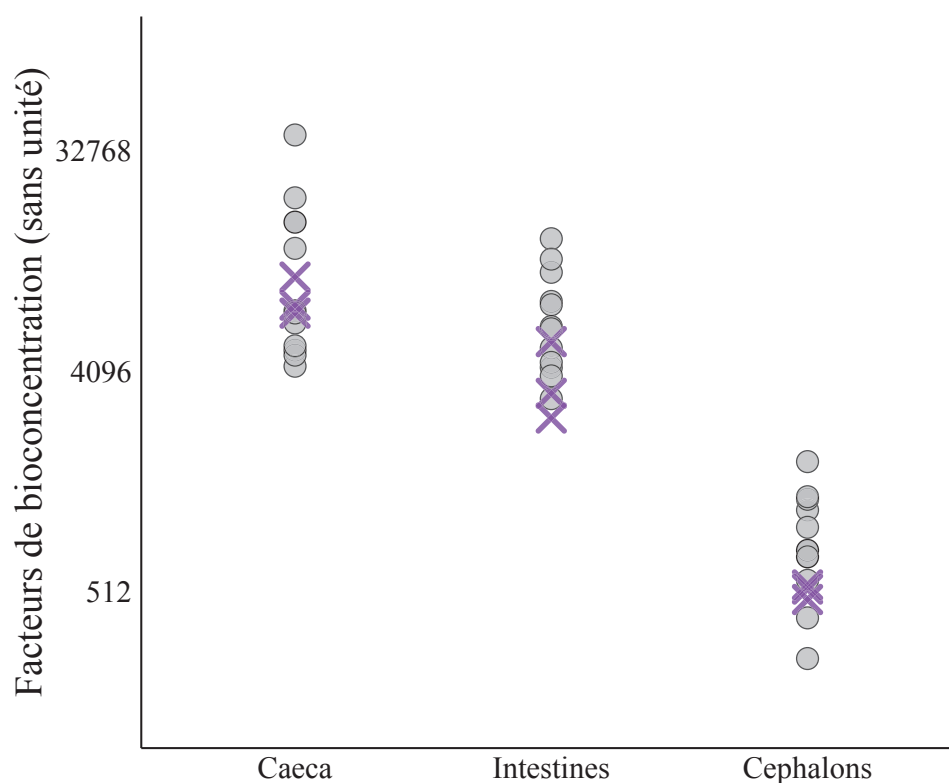


Figure VI-1. Comparaison à J7 (fin de la phase d'accumulation) des concentrations de Cd mesurées dans les pools de chaque organe en fonction de la concentration d'exposition. Les données représentées par des ronds gris correspondent aux BCF des concentrations d'exposition de 4, 52 et 350 ng.L⁻¹ (présentées dans le Chapitre IV). Les données représentées par les croix mauves correspondent aux BCF calculés pour la concentration d'exposition de 11 000 ng.L⁻¹ de Cd.

Si dans la large gamme de concentrations testées ici, la concentration d'exposition en Cd ne semble influencer ni l'organotropisme, ni le devenir de ce métal, il pourrait être intéressant de poser cette question en appliquant ce protocole à d'autres métaux, notamment pour les ETM essentiels. En effet, il est connu que l'organisme est capable de diminuer l'entrée de Zn dans les organismes, comme cela a été revu par [McGeer et al. \(2003\)](#). Cependant, les études revues dans [McGeer et al. \(2003\)](#) se sont intéressées uniquement au niveau de l'organisme entier. Ainsi, nous pourrions nous demander si la diminution des BCF liée à l'augmentation de la concentration d'exposition, notamment observée pour le Zn chez le gammare, est liée à une gestion différente de ce métal par les différents organes ou si cette diminution concerne uniquement les organes considérés comme voie d'entrée (intestin et branchies) du Zn ([Xu et Pascoe, 1993](#)).

Pour le Cd, nous pouvons déduire à partir des Chapitre III à V que l'organotropisme, les processus ADME et le devenir des métaux sont influencés par la **voie de contamination**. Le principal changement dans l'organotropisme et la gestion du Cd entre les deux voies concerne les

branchies, puisqu'après une exposition par la **voie dissoute** les branchies sont les organes qui : i) concentrent le plus le Cd ; ii) jouent un rôle mineur dans la (re)distribution du Cd vers les autres organes ; et iii) jouent un rôle majeur dans le stockage du Cd, qu'elles ne dépurent pas. Or, après une accumulation par la **voie trophique**, le Cd n'est pas redistribué vers les branchies. Les branchies ne jouent aucun rôle dans la gestion du Cd alimentaire, ni dans son stockage, ni dans sa (re)distribution, ni dans son élimination vers le milieu extérieur. Cela est cohérent avec le fait que chez les poissons, les bivalves et les crustacés, il a déjà été démontré que le foie, les reins, les glandes digestives et les caeca sont souvent des organes accumulateurs privilégiés pour les métaux accumulés par la voie trophique (Ahearn et al., 2004; Amiard et al., 2006; Cresswell et al., 2017a; Huang et al., 2020; Nassiri et al., 2000; Ortega et al., 2017; Penicaud et al., 2017; Rainbow et Luoma, 2011b; Soegianto et al., 2013; Sterling et al., 2007). Concernant le rôle des organes dans les processus ADME et le devenir du Cd selon les différentes voies d'exposition, les modèles TK multi-compartiments montrent que : i) l'intestin a un rôle majeur dans l'accumulation du Cd et constitue la seule voie d'élimination, quelle que soit la voie d'exposition ; ii) les caeca sont des organes de séquestration ayant un rôle majeur dans la gestion du Cd quelle que soit la voie d'exposition, mais particulièrement par la voie trophique où ils accumulent jusqu'à 82% de la charge corporelle totale de Cd ; iii) les céphalons et les tissus restants tendent à accumuler le Cd selon le même schéma, mais dans la phase d'élimination, les céphalons éliminent le Cd, tandis que les tissus restants le stockent, représentant de manière constante 15 à 20% du Cd total accumulé par l'organisme en voies dissoute et trophique.

Les travaux du Chapitre V reproduisant une contamination chronique des gammarès *via* la voie trophique ont également montré l'importance de prendre en compte les données des taux d'ingestion lorsqu'elles sont disponibles. En effet, le fait d'utiliser des données d'IR et d'AE dans nos modèles a permis d'obtenir une description plus précise des processus d'accumulation. Au niveau de l'intestin, l'ajout des données d'IR montre que ce n'est pas parce que l'organisme dépure plus entre J2 et J6 que la concentration dans l'intestin diminue, mais bien parce que l'organisme ingère moins de nourriture contaminée (i.e. son taux d'ingestion diminue au cours du temps). De plus, distinguer l'IR et l'AE dans le modèle TK multi-compartiments plutôt qu'un unique taux d'accumulation par voie trophique k_f (dont les ajustements des estimations aux données observées pour chaque organe sont représentés sur la Figure VI-2) permet un meilleur ajustement du modèle aux données observées (Chapitre V.2 - Fig. 2), principalement au niveau de l'intestin (Chapitre V.2 - Fig. 2 a. et Figure VI-2 a.).

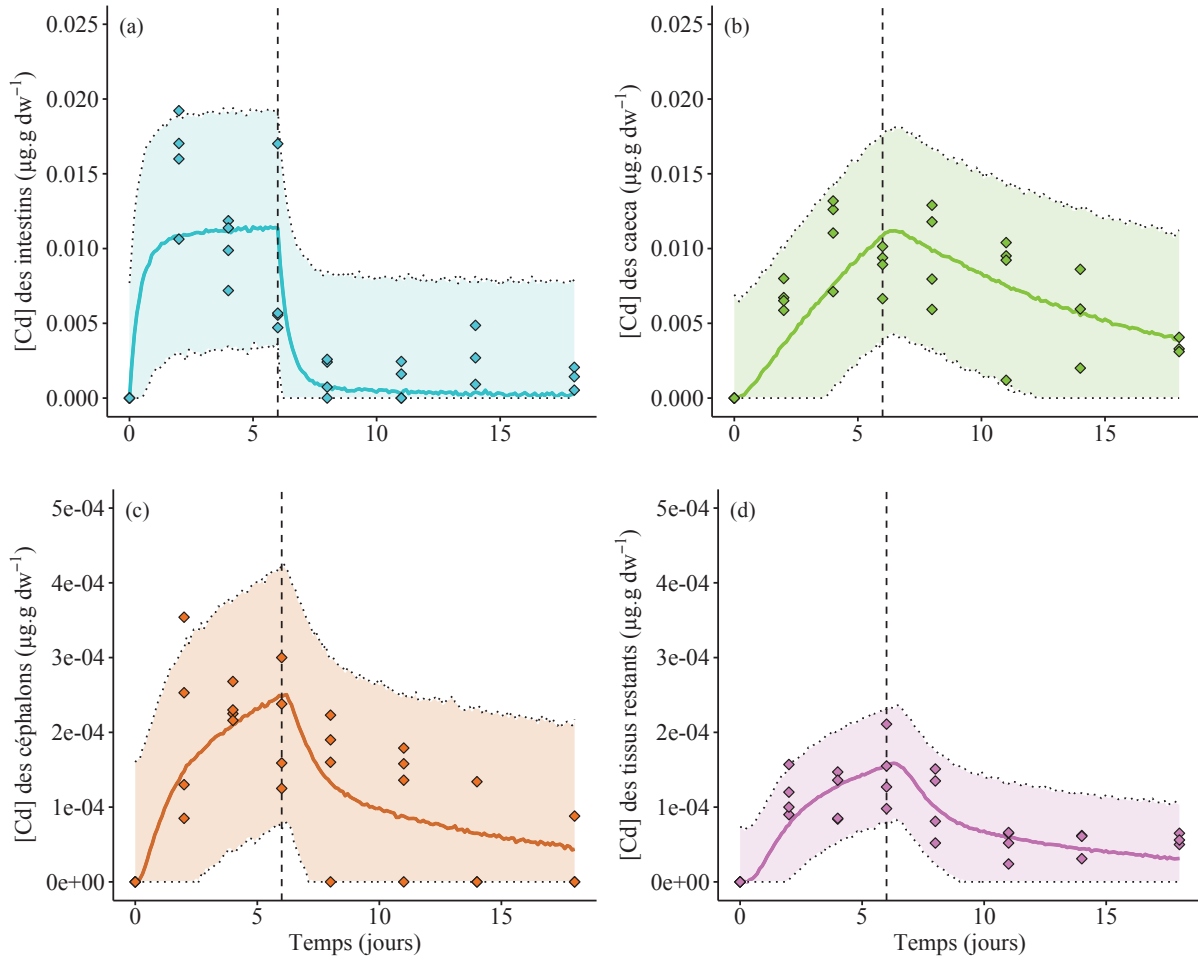


Figure VI-2. Concentrations mesurées (losanges) et prédites (intervalle crédible à 95% en pointillés et médiane en trait plein), à l'aide du modèle TK multi-compartiments final (Eqs (S1) à (S10) Chapitre V, modifiées par « $AE \cdot IR = k_f$ ») de Cd dans a) les intestins, b) les caeca, c) les céphalons et d) les tissus restants des gammarus exposés à des feuilles d'aulne contaminées au ^{109}Cd pendant la phase d'accumulation (6 jours), suivie d'une phase de dépuratation (12 jours) avec de la nourriture non contaminée. La ligne verticale en pointillés noires sépare les deux phases. Les échelles des axes y des graphiques diffèrent entre les graphiques a) b) et c) d).

Ici, les quantités de Cd obtenues dans les différents organes après exposition par la voie trophique ont finalement été additionnées pour obtenir la concentration de Cd des individus entiers. La variation de la concentration interne des organismes entiers au cours du temps a ensuite été décrite par ajustement d'un modèle TK mono-compartiment de deux manières différentes. Premièrement, en prenant en compte un taux d'accumulation k_f (Eqs. (1) et (2)) :

$$\begin{cases} \frac{dC(t)}{dt} = k_f(t) \times C_f - k_e \times C(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (1) \\ \frac{dC(t)}{dt} = -k_e \times C(t) & \text{for } t > t_c \quad (2) \end{cases}$$

avec $C(t)$ la concentration en Cd dans l'organisme entier, C_f la concentration en Cd dans les feuilles, k_e le taux d'élimination, t_c la durée de la phase d'accumulation.

Deuxièmement, en remplaçant le taux d'accumulation k_f par les facteurs des paramètres AE et IR(t) (Eqs. (3) et (4)), comme suit :

$$\begin{cases} \frac{dC(t)}{dt} = AE \times IR(t) \times C_f - k_e \times C(t) & \text{for } 0 \leq t \leq t_c \quad (3) \\ \frac{dC(t)}{dt} = -k_e \times C(t) & \text{for } t > t_c \quad (4) \end{cases}$$

Si les quantités de Cd de tous les organes de la voie trophique sont additionnées et rapportées au poids total des organismes pour obtenir la concentration en Cd dans l'organisme entier, un plateau est observé dans la phase d'accumulation à partir de J2 (Figure VI-3). De plus, l'ajustement obtenu avec la première variante du modèle (Eqs. (1) et (2)) est moyen (Fig. VI-3 a), montrant surtout une incertitude de prédiction très large indiquant un très faible pouvoir prédictif. Enfin, si du réalisme est ajouté au modèle TK mono-compartiment, comme dans la seconde variante du modèle (Eqs. (3) et (4)), en prenant en compte les données d'AE et d'IR connues pour le gammare (Chapitre V.2 - Fig. 2) l'ajustement est mauvais (Figure VI-3 b.). Cela souligne le fait que regarder les données au niveau de l'organisme entier fait perdre de l'information par rapport à ce que nous avons pu observer au niveau des organes (Chapitre V.2 - Fig. 2), car les fortes quantités accumulées par des organes de faible poids (intestins et caeca ; 7,2% du poids total de l'organisme) se retrouvent pondérées par des tissus accumulant peu mais représentant un fort poids (tissus restants et céphalons ; 91,5% du poids total de l'organisme).

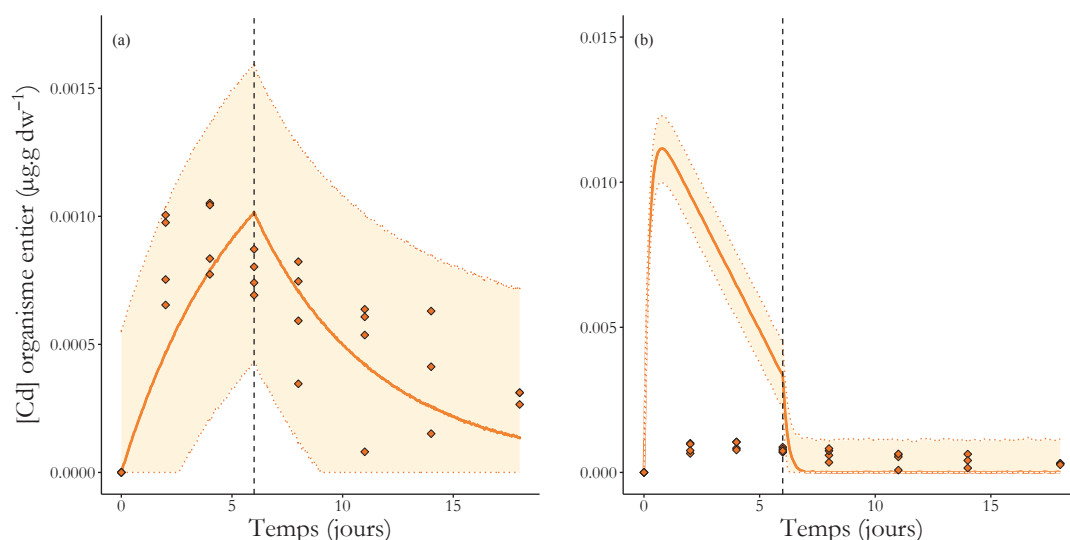


Figure VI-3. Comparaison de deux ajustements de modèles TK à un-compartiment aux données de concentration en Cd obtenues après accumulation par la voie trophique au niveau de l'organisme entier. Cette représentation comprend une phase d'accumulation (jour 0 à 6) suivie d'une phase de dépuraction (jour 6 à 18), séparées par la ligne verticale en pointillés noirs. Les losanges représentent les concentrations de Cd pour l'organisme entier recalculées à partir des concentrations en Cd des organes analysés (Chapitre V). La ligne continue pour la médiane et les lignes en pointillés pour l'intervalle de crédibilité à 95% représentent les concentrations en Cd prédites avec un modèle TK mono-compartiment, avec en a) un taux d'accumulation par voie trophique k_f et en b) les paramètres AE*IR ont remplacé le k_f .

III. Sorties majeures de ces travaux

Les travaux présentés dans ce manuscrit constituent une pierre angulaire dans l'amélioration de la compréhension de la bioaccumulation chez les invertébrés aquatiques. Dans un premier temps, ils ont apporté des connaissances fondamentales sur la cinétique de bioaccumulation des métaux dans les organes du gammare, ce qui n'avait jamais été établi auparavant chez cette espèce. Dans un deuxième temps, le rôle des différents organes dans la gestion et le devenir des métaux de manière générale chez le gammare ont ainsi pu être déterminés, avec : i) l'intestin comme organe central dans la gestion des métaux jouant un rôle dans leur accumulation, leur distribution et leur élimination ; ii) les caeca comme organe hyperaccumulateur et jouant une fonction de gestion principale et de stockage des métaux ; et iii) les tissus restants, composés principalement de muscles et de cuticule, ont quant à eux montré uniquement un rôle minime dans le stockage des métaux. Mais également de manière plus spécifique à certains métaux, comme : i) les branchies jouant un rôle important dans l'accumulation et le stockage du Cd après une accumulation par voie dissoute, mais ne jouant aucun rôle dans la gestion ou l'élimination du Cd par voie trophique ; ou ii) les céphalons comme tissu hyperaccumulateur du Hg jouant un rôle dans le stockage du Hg.

En biosurveillance un organe/tissu qui intègre la contamination et ne la dépure pas présente un intérêt majeur. En effet, le fait qu'un organe stocke un ETM en fait potentiellement un organe cible pour la toxicité (Bernillon et Bois, 2000; Campbell et al., 2012; Fowler et al., 2004). Cependant, plus que la quantité d'ETM accumulée, c'est également la forme détoxifiée ou non sous laquelle les ETM seront accumulés qui apportera des informations sur leur potentiel de toxicité. L'étude de l'organotropisme et du rôle des organes dans la gestion et le devenir des métaux est donc essentielle pour diriger le choix vers un ou plusieurs organes d'intérêt pour ensuite développer des biomarqueurs d'exposition ou d'effet organe-spécifique d'un ETM. Ainsi, les caeca pourraient constituer un organe d'intérêt pour y développer des biomarqueurs d'exposition, puisque pour les trois métaux étudiés ce sont des organes ayant une forte capacité d'accumulation et de stockage des métaux. De même, il serait également intéressant d'aller chercher des biomarqueurs d'effet dans les céphalons et les branchies qui présentent tous deux une capacité spécifique à stocker des métaux, respectivement, le Hg et le Cd.

En évaluation du risque environnemental, il est essentiel de pouvoir relier la concentration d'un contaminant dans le milieu à un effet sur un organisme, une population ou un écosystème (Schneeweiss et al., 2022). Depuis la mise en place de la directive fille de la DCE, établie en 2013, l'utilisation de modèles TKTD dans l'évaluation du risque environnemental est d'ailleurs encouragée. Seulement aujourd'hui, les modèles TKTD utilisés sont des modèles GUTS, DEBtox

ou DEBkiss consistant en un raccourcissement du modèle entre la concentration d'exposition et l'effet, par implémentation d'une approximation de la partie TK prédite à partir de la concentration d'exposition, qu'ils nomment ainsi « partie TK résumée ou normalisée » (Baudrot et al., 2018b; Jager et Ashauer, 2018; Ockleford et al., 2018). Cette utilisation résumée de la partie TK est majoritairement due au manque de données de concentrations bioaccumulées que ce soit au niveau de l'organisme entier ou des organes des individus. Les données obtenues dans ce manuscrit pourraient donc être exploitées pour inclure une vraie partie TK mono-compartiment, mais également pour implémenter des modèles PBTK-TD afin de mieux prédire la concentration réellement bioaccumulée par l'organisme en y incluant les processus ADME des contaminants. Ces réelles avancées pour les modèles (PB)TK-TD aideraient *in fine* à prédire de manière plus fiable et plus pertinente les effets induits par les concentrations effectives bioaccumulées des contaminants (Schneeweiss et al., 2022).

IV. Perspectives

Par la suite d'autres questions majeures pourraient être abordées afin de compléter les travaux de ce manuscrit, notamment concernant les paramètres influençant la bioaccumulation des métaux.

En effet, au cours des différents travaux présentés dans ce manuscrit, les organismes utilisés étaient uniquement des mâles. Dans un premier temps, il pourrait être intéressant d'étudier l'influence du **genre des individus** sur l'organotropisme, la toxico-cinétique et le devenir des métaux chez le gammare, qui présente des dimorphisme sexuels. Nous pourrions ainsi nous demander si les gammares femelles présentent un organotropisme similaire à celui des mâles, en regardant notamment la contribution relative des organes sexuels dans l'accumulation des métaux. Nous pourrions de cette façon regarder si les gonades des femelles ont une forte capacité d'accumulation des métaux, si elles jouent un rôle physiologique dans la gestion des métaux ; et si oui : i) quels métaux sont accumulés essentiels et/ou non essentiels ; et ii) est-ce que les gonades stockent les métaux ou est-ce qu'elles les éliminent rapidement ? En effet, Amyot et al., (1996) ont montré que les oeufs et les gonades représentent environ 20% du poids total de l'organisme chez *Gammarus fasciatus*. Nous pourrions également étudier si un transfert maternel des métaux existe chez le gammare femelle et si oui : i) est-ce que le transfert maternel est une voie d'élimination des métaux chez les femelles ; et ii) quels métaux sont transférés, les ETM essentiels seulement ou non essentiels également ?

La question de l'influence du **cycle de vie et du développement des organes** sur la distribution des métaux lorsque les organes ne sont pas matures peut également se poser. Si cela semble difficilement réalisable techniquement notamment concernant l'étape de récupération des branchies par dissection, les techniques d'autoradiographie fines permettraient d'investiguer la distribution tissulaire d'ETM dans ces tout petits individus, comme cela a pu être effectué sur des embryons d'*Octopus vulgaris* mesurant entre 2 et 3 mm (Lacoue-Labarthe et al., 2011).

Si nous avons étudié l'accumulation des métaux dans les différents organes du gammare, nous pouvons nous poser la question de la **spéciation de ces métaux dans ces organes**. Sous quelle forme est présent le Cd dans les branchies, par exemple. Quelle complexation spécifique peut expliquer son stockage à plus long terme dans les branchies que dans les autres organes, comme les caeca ? Plus largement, nous pourrions nous demander comment la distribution subcellulaire des métaux dans les organes explique les processus mis en évidence dans ce travail. En effet, il a été déterminé dans de précédentes études que certains organismes, comme les bernacles *Amphibalanus amphitrite*, sont capables de détoxifier le Zn sous la forme de granules de pyrophosphate de Zn (Rainbow, 2002; Rainbow et Luoma, 2011a). Les bernacles peuvent ainsi accumuler de grandes quantités de Zn qui auront cependant un potentiel de toxicité faible puisque l'ETM sous la forme détoxifiée ne peut plus interagir avec les molécules biologiques de l'organisme (Rainbow, 2002; Rainbow et Luoma, 2011a). De plus, pour les ETM pouvant former des composés organométalliques (comportant *a minima* une liaison carbone-métal) stables comme le mercure ou l'arsenic, nous pourrions étudier l'influence de la présence de ces métaux sous la forme organique et inorganique sur leur distribution au sein des organes, ou sur leur cinétique d'accumulation et d'élimination. Cela pourrait ouvrir par la suite la question du rôle des différents organes dans les **processus de biotransformation** (méthylation/déméthylation) de ces métaux spécifiques, notamment celui : i) des caeca, équivalent du foie des poissons qui a été démontré comme étant un organe impliqué dans la déméthylation du mercure ; ou ii) de l'intestin composé d'un microbiome capable, comme cela a été démontré chez certains poissons, de méthyler le mercure (Wang et al., 2017). Ainsi, nous pourrions chercher à déterminer si les caeca ou le microbiome présents dans l'intestin des gammares sont, comme chez les poissons, capables de mettre en place ces processus de biotransformation.

Enfin, le **contexte actuel du changement global** touche également les compartiments aquatiques continentaux, en modifiant certains facteurs abiotiques connus pour exercer une influence sur la spéciation et donc sur la bioaccumulation des métaux : le pH, la température et l'oxygénation du milieu. En effet, la diminution du pH et l'augmentation de la température sont

toutes les deux associées à une augmentation de la fraction des ions libres dans le milieu, ce qui augmente l'accumulation des ETM par les organismes, mais la diminution du pH induit également une remobilisation des métaux présents dans les sédiments (Byrne et al., 1988; Carere et al., 2011; Manciocco et al., 2014; Pellet et al., 2009). De plus, la température et le pH sont deux facteurs abiotiques connus pour modifier le métabolisme des organismes aquatiques. Ainsi, une augmentation de la température et une diminution du pH dans le milieu aquatique auront bien souvent pour conséquence d'augmenter la bioaccumulation des métaux par les organismes d'une part et de diminuer la tolérance des organismes au stress métallique d'autre part (Felten et Guérol, 2006; Sokolova et Lannig, 2008; Tran et al., 2001). Enfin, il a été montré chez le gammare, que la diminution de la teneur en oxygène dans le milieu entraîne une hyperventilation chez les gammarides, phénomène connu pour augmenter l'accumulation des métaux (Felten et Guérol, 2001). Il pourrait être intéressant de regarder si le stress combiné de ces trois facteurs abiotiques des milieux (en se basant sur les scénarii préétablis par les différents rapports du GIEC) et le changement de spéciation des métaux engendré influencent le rôle des organes dans la gestion des métaux, notamment en ce qui concerne les organes de stockage et d'élimination. En outre, cela donnerait la possibilité d'inclure les prédictions de l'influence potentielle du changement global, à venir, dans l'évaluation du risque environnemental.

Références bibliographiques

- A -

- Aamir, S., 2020. Heavy metals (Cadmium, Mercury and Arsenic) accumulation in different organs of *Sperata sarvari* collected from Indus River, Head Taunsa, Dera Ghazi Khan, Punjab, Pakistan. *Pure Appl. Biol.* 9, 1481-1487. <https://doi.org/10.19045/bspab.2020.90153>
- Adams, W.J., Blust, R., Borgmann, U., Brix, K. V., DeForest, D.K., Green, A.S., Meyer, J.S., McGeer, J.C., Paquin, P.R., Rainbow, P.S., Wood, C.M., 2010. Utility of tissue residues for predicting effects of metals on aquatic organisms. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 75-98. <https://doi.org/10.1002/ieam.108>
- AFNOR, 2016. Qualité de l'eau - Application de la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) - Partie 2 : dosage des éléments sélectionnés y compris les isotopes d'uranium. NF EN ISO 17294-2. AFNOR, Paris.
- Agence pour l'énergie nucléaire (AEN), 1999. Usages bénéfiques et production des isotopes, Usages bénéfiques et production des isotopes. <https://doi.org/10.1787/9789264274365-fr>
- Agrawal, V.P., 1965. Feeding appendages and the digestive system of *Gammarus pulex*. *Acta Zool.* 46, 67-81. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1965.tb00727.x>
- Ahearn, G.A., Duerr, J.M., Zhuang, Z., Brown, R.J., Aslamkhan, A., Killebrew, D.A., 1999. Ion transport processes of crustacean epithelial cells. *Physiol. Biochem. Zool.* 72, 1-18. <https://doi.org/10.1086/316643>
- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: A review. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 174, 439-452. <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0438-0>
- Allen, G.J.P., Weihrauch, D., 2021. Exploring the versatility of the perfused crustacean gill as a model for transbranchial transport processes. *Comp. Biochem. Physiol. Part - B Biochem. Mol. Biol.* 254, 110572. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110572>
- Alonso, Á., De Lange, H.J., Peeters, E.T.H.M., 2010. Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. fossarum*. *Ecotoxicology* 19, 133-140. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0398-y>
- Alric, B., Geffard, O., Chandestrès, A., Ferréol, M., François, A., Perceval, O., Piffady, J., Villeneuve, B., Chaumot, A., 2019. Multisubstance indicators based on caged *Gammarus* bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France. *Environ. Sci. Technol.* 53, 5906-5915. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271>
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., Rainbow, P.S., 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 76, 160-202. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.08.015>

- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., 1994. Abiotic and seasonal factors influencing trace metal levels (Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn) in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus* in two fluvial lakes of the St. Lawrence River. <https://doi.org/10.1139/f94-203>
- Amyot, M., Pinel-Alloul, B., Campbell, P.G.C., Désy, J.C., 1996. Total metal burdens in the freshwater amphipod *Gammarus fasciatus*: Contribution of various body parts and influence of gut contents. *Freshw. Biol.* 35, 363-373. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.00493.x>
- Arce Funk, J., Danger, M., Gismondi, E., Cossu-Leguille, C., Guérold, F., Felten, V., 2013. Behavioural and physiological responses of *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda) exposed to silver. *Aquat. Toxicol.* 142-143, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.012>
- *B* -
- Baldisserotto, B., Kamunde, C., Matsuo, A., Wood, C.M., 2004. A protective effect of dietary calcium against acute waterborne cadmium uptake in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 67, 57-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.12.004>
- Bat, L., Akbulut, M., Culha, M., Gundogdu, A., Satilmis, H.H., 2000. Effect of temperature on the toxicity of zinc, copper and lead to the freshwater amphipod *Gammarus pulex pulex* (L., 1758). *Turkish J. Zool.* 24, 409-415.
- Bates, S.C., Cullen, A., Raftery, A.E., 2003. Bayesian uncertainty assessment in multicompartment deterministic simulation models for environmental risk assessment. *Environmetrics* 14, 355-371. <https://doi.org/10.1002/env.590>
- Baudin, J.-P., 1982. Bioaccumulation et élimination du ⁶⁵Zn par *Gammarus aequicauda* martimov 7, 227-233.
- Baudin, J., Garnier, J., Lambrechts, A., Foulquier, L., 1989. Données expérimentales sur les formes physico-chimiques de l'antimoine 125 et de l'argent 110m et sur leurs transferts à un poisson dulçaquicole, la carpe.
- Baudrot, V., Charles, S., 2019. Recommendations to address uncertainties in environmental risk assessment using toxicokinetic-toxicodynamic models. *Sci. Rep.* 9, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47698-0>
- Baudrot, V., Preux, S., Ducrot, V., Pave, A., Charles, S., 2018a. New insights to compare and choose TKTD models for survival based on an interlaboratory study for *Lymnaea stagnalis* exposed to Cd. *Environ. Sci. Technol.* 52, 1582-1590. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05464>
- Baudrot, V., Veber, P., Gence, G., Charles, S., 2018b. Fit reduced GUTS models online: From theory to practice. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 14, 625-630. <https://doi.org/10.1002/ieam.4061>
- Bernillon, P., Bois, F.Y., 2000. Statistical issues in toxicokinetic modeling: A Bayesian perspective. *Environ. Health Perspect.* 108, 883-893. <https://doi.org/10.2307/3454322>
- Bertrand, L., Monferrán, M.V., Valdés, M.E., Amé, M.V., 2019. Usefulness of a freshwater macrophyte (*Potamogeton pusillus*) for an environmental risk assessment in a multi-source

- contaminated basin. Chemosphere 222, 1003-1016.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.018>
- Besse, J.P., Coquery, M., Lopes, C., Chaumot, A., Budzinski, H., Labadie, P., Geffard, O., 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values. Water Res. 47, 650-660. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024>
- Besse, J.P., Geffard, O., Coquery, M., 2012. Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive. TrAC - Trends Anal. Chem. 36, 113-127. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.004>
- Billoir, E., Delignette-Muller, M.L., Péry, A.R.R., Charles, S., 2008. A Bayesian approach to analyzing ecotoxicological data. Environ. Sci. Technol. 42, 8978-8984. <https://doi.org/10.1021/es801418x>
- Birceanu, O., Chowdhury, M.J., Gillis, P.L., McGeer, J.C., Wood, C.M., Wilkie, M.P., 2008. Modes of metal toxicity and impaired branchial ionoregulation in rainbow trout exposed to mixtures of Pb and Cd in soft water. Aquat. Toxicol. 89, 222-231. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.007>
- Bisson, M., Diderich, R., Houeix, N., Hulot, C., Lacroix, G., Lefevre, J.P., Leveque, S., Magaud, H., Morin, A., Pepin, G., Pichard, A., 2011. Cadmium et ses dérivés, INERIS - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques.
- Blackman, R.C., Constable, D., Hahn, C., Sheard, A.M., Durkota, J., Hänfling, B., Handley, L.L., 2017. Detection of a new non-native freshwater species by DNA metabarcoding of environmental samples — first record of *Gammarus fossarum* in the UK. Aquat. Invasions 12, 177-189. <https://doi.org/10.3391/ai.2017.12.2.06>
- Bloor, M.C., 2011. Dietary preference of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus* during a laboratory breeding programme for ecotoxicological studies. Int. J. Zool. 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/294394>
- Boening, D.W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: A general review. Chemosphere 40, 1335-1351. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00283-0)
- Borgmann, U., Couillard, Y., Grapentine, L.C., 2007. Relative contribution of food and water to 27 metals and metalloids accumulated by caged *Hyalella azteca* in two rivers affected by metal mining. Environ. Pollut. 145, 753-765. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.05.020>
- Borgmann, U., Ralph, K.M., Norwood, W.P., 1989. Toxicity test procedures for *Hyalella azteca*, and chronic toxicity of cadmium and pentachlorophenol to *H. azteca*, *Gammarus fasciatus*, and *Daphnia magna*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18, 756-764. <https://doi.org/10.1007/BF01225013>
- Bourgeault, A., Gourlay-Francé, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2010. Modeling the effect of water chemistry on the bioaccumulation of waterborne cadmium in zebra mussels. Environ. Toxicol. Chem. 29, 2182-2189. <https://doi.org/10.1002/etc.287>
- Brucker, K.M., 2016. An endemic commensal leucothoid discovered in the tunicate *Cnemidocarpa bicornuta*, from New Zealand (Crustacea, Amphipoda).

- Bryan, G.W., Langston, W.J., 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review 76, 89-131.
- Burnol, A., Duro, L., Grive, M., 2006. Eléments traces métalliques/Guide méthodologique. Ineris 136.
- Bustamante, P., Teyssié, J.L., Fowler, S.W., Cotret, O., Danis, B., Miramand, P., Warnau, M., 2002. Biokinetics of zinc and cadmium accumulation and depuration at different stages in the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 231, 167-177. <https://doi.org/10.3354/meps231167>
- Byrne, R.H., Kump, L.R., Cantrell, K.J., 1988. The influence of temperature and pH on trace metal speciation in seawater. Mar. Chem. 25, 163-181. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(88\)90062-X](https://doi.org/10.1016/0304-4203(88)90062-X)
- C -
- Cairns, A., Yan, N., 2009. A review of the influence of low ambient calcium concentrations on freshwater daphniids, gammarids, and crayfish. Environ. Rev. 17, 67-79. <https://doi.org/10.1139/A09-005>
- Campbell, J.L., Clewell, R.A., Gentry, P.R., Andersen, M.E., Clewell, H.J., 2012. Physiologically based pharmacokinetic/toxicokinetic modeling, Methods in Molecular Biology. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-50-2_18
- Camusso, M., Vigano, L., Balestrinni, R., 1995. Bioconcentration of trace metals in rainbow trout: a field study. Ecotoxicol. Environ. Saf. 31, 133-141.
- Carere, M., Miniero, R., Cicero, M.R., 2011. Potential effects of climate change on the chemical quality of aquatic biota. TrAC - Trends Anal. Chem. 30, 1214-1221. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.006>
- Charles, S., Gestin, O., Brusset, J., Lamonica, D., Baudrot, V., Chaumot, A., Geffard, O., Lopes, C., 2022. Generic solving of physiologically-based kinetic models in support of next generation risk assessment due to chemicals. J. Explor. Res. Pharmacol. <https://doi.org/10.1101/2022.04.29.490045>
- Charles, S., Veber, P., Delignette-Muller, M.L., 2018. MOSAIC: a web-interface for statistical analyses in ecotoxicology. Environ. Sci. Pollut. Res. 25, 11295-11302. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9809-4>
- Charron, L., 2014. Biomarqueurs énergétiques chez un amphipode d'eau douce *Gammarus fossarum*: Développement, lien avec le succès reproducteur et application in situ 284.
- Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Quéau, H., Geffard, A., Dedourge-Geffard, O., 2013. Effect of water quality and confounding factors on digestive enzyme activities in *Gammarus fossarum*. Environ. Sci. Pollut. Res. 20, 9044-9056. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1921-5>
- Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J., Maltby, L., 2015. Gammarids as reference species for freshwater monitoring, Aquatic Ecotoxicology: Advancing Tools for Dealing with Emerging Risks. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800949-9.00011-5>

- Chen, W.-Y., 2016. Toxicokinetic modeling challenges for aquatic nanotoxicology. *Front. Mar. Sci.* 2, 1-5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00114>
- Chen, W.Y., Liao, C.M., 2014. Interpreting copper bioaccumulation dynamics in tilapia using systems-level explorations of pulsed acute/chronic exposures. *Ecotoxicology* 23, 1124-1136. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1255-1>
- Chevreaux, E., Fage, L., 1925. Faune De France n°9, Amphipodes, Sciences. New York.
- Chiodi Boudet, L., Mendieta, J., Romero, M.B., Dolagaratz Carricavur, A., Polizzi, P., Marcovecchio, J.E., Gerpe, M., 2019. Strategies for cadmium detoxification in the white shrimp *Palaemon argentinus* from clean and polluted field locations. *Chemosphere* 236. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.194>
- Chouvelon, T., Strady, E., Harmelin-Vivien, M., Radakovitch, O., Brach-Papa, C., Crochet, S., Knoery, J., Rozuel, E., Thomas, B., Tronczynski, J., Chiffolleau, J.F., 2019. Patterns of trace metal bioaccumulation and trophic transfer in a phytoplankton-zooplankton-small pelagic fish marine food web. *Mar. Pollut. Bull.* 146, 1013-1030. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.047>
- Ciardullo, S., Aureli, F., Coni, E., Guandalini, E., Iosi, F., Raggi, A., Rufo, G., Cubadda, F., 2008. Bioaccumulation potential of dietary arsenic, cadmium, lead, mercury, and selenium in organs and tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a function of fish growth. *J. Agric. Food Chem.* 56, 2442-2451. <https://doi.org/10.1021/jf703572t>
- Ciliberti, A., Chaumot, A., Recoura-Massaquant, R., Chandesis, A., François, A., Coquery, M., Ferréol, M., Geffard, O., 2017. Caged *Gammarus* as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. *Water Res.* 118, 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031>
- Clason, B., Gulliksen, B., Zauke, G.-P., 2004. Assessment of two-compartment models as predictive tools for the bioaccumulation of trace metals in the amphipod *Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947 from Grunnfjord (Northern Norway). *Sci. Total Environ.* 323, 227-241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.09.035>
- Cohen Hubal, E.A., Wetmore, B.A., Wambaugh, J.F., El-Masri, H., Sobus, J.R., Bahadori, T., 2019. Advancing internal exposure and physiologically-based toxicokinetic modeling for 21st-century risk assessments. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 29, 11-20. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0046-9>
- Conti, E., Dattilo, S., Costa, G., Puglisi, C., 2016. Bioaccumulation of trace elements in the sandhopper *Talitrus saltator* (Montagu) from the Ionian sandy coasts of Sicily. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 129, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.008>
- Correia, A.D., Costa, M.H., Ryan, K.P., Nott, J.A., 2002a. Studies on biomarkers of copper exposure and toxicity in the marine amphipod *Gammarus locusta* (Crustacea): I. Copper-containing granules within the midgut gland. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 82, 827-834. <https://doi.org/10.1017/S0025315402006197>
- Correia, A.D., Pereira, A.L., Costa, M.H., Carrapiço, F., 2002b. Functional anatomy of the midgut gland of *Gammarus locusta* (Crustacea: Amphipoda). *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 82, 201-204. <https://doi.org/10.1017/S0025315402005362>

- Coulaud, R., Geffard, O., Coquillat, A., Quéau, H., Charles, S., Chaumot, A., 2014. Ecological modeling for the extrapolation of ecotoxicological effects measured during *in situ* assays in *Gammarus*. Environ. Sci. Technol. 48, 6428-6436. <https://doi.org/10.1021/es501126g>
- Coulaud, R., Geffard, O., Xuereb, B., Lacaze, E., Quéau, H., Garric, J., Charles, S., Chaumot, A., 2011. In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. Water Res. 45, 6417-6429. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035>
- Cresswell, T., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A.P., Corry, M., Simpson, S.L., 2017a. Metal transfer among organs following short- and long-term exposures using autoradiography: Cadmium bioaccumulation by the freshwater prawn *Macrobrachium australiense*. Environ. Sci. Technol. 51, 4054-4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06471>
- Cresswell, T., Metian, M., Fisher, N.S., Charmasson, S., Hansman, R.L., Bam, W., Bock, C., Swarzenski, P.W., 2020. Exploring new frontiers in marine radioisotope tracing – Adapting to new opportunities and challenges. Front. Mar. Sci. 7, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00406>
- Cresswell, T., Metian, M., Golding, L.A., Wood, M.D., 2017b. Aquatic live animal radiotracing studies for ecotoxicological applications: Addressing fundamental methodological deficiencies. J. Environ. Radioact. 178-179, 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2017.05.017>
- Cresswell, T., Simpson, S.L., Mazumder, D., Callaghan, P.D., Nguyen, A.P., 2015. Bioaccumulation kinetics and organ distribution of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Macrobrachium australiense*. Environ. Sci. Technol. 49, 1182-1189. <https://doi.org/10.1021/es505254w>
- Cresswell, T., Simpson, S.L., Smith, R.E.W., Nuggeoda, D., Mazumder, D., Twining, J., 2014a. Bioaccumulation and retention kinetics of cadmium in the freshwater decapod *Macrobrachium australiense*. Aquat. Toxicol. 148, 174-183. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.01.006>
- Cresswell, T., Smith, R.E.W., Simpson, S.L., 2014b. Challenges in understanding the sources of bioaccumulated metals in biota inhabiting turbid river systems. Environ. Sci. Pollut. Res. 21, 1960-1970. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2086-y>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2009. Predicting dietborne metal toxicity from metal influxes. Environ. Sci. Technol. 43, 4915-4921. <https://doi.org/10.1021/es9007454>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2008. A biodynamic understanding of dietborne metal uptake by a freshwater invertebrate. Environ. Sci. Technol. 42, 1801-1806. <https://doi.org/10.1021/es7022913>
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Stewart, A.R., 2005. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. Limnol. Oceanogr. 50, 1511-1519. <https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.5.1511>
- Croteau, M.N., Misra, S.K., Luoma, S.N., Valsami-Jones, E., 2011. Silver bioaccumulation dynamics in a freshwater invertebrate after aqueous and dietary exposures to nanosized and ionic Ag. Environ. Sci. Technol. 45, 6600-6607. <https://doi.org/10.1021/es200880c>

- D -

- Darmono, D., Denton, G.R.W., 1990. Heavy metal concentrations in the banana prawn, *Penaeus merguensis*, and leader prawn, *P. monodon*, in the townsville region of Australia. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44, 479-486. <https://doi.org/10.1007/BF01701233>
- Dayras, P., Charmantier, G., Chaumot, A., Vigneron, A., Coquery, M., Quéau, H., Artells, E., Lignot, J.H., Geffard, O., Issartel, J., 2017. Osmoregulatory responses to cadmium in reference and historically metal contaminated *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) populations. Chemosphere 180, 412-422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.016>
- Dedourge-Geffard, O., Charron, L., Hofbauer, C., Gaillet, V., Palais, F., Lacaze, E., Geffard, A., Geffard, O., 2013. Temporal patterns of digestive enzyme activities and feeding rate in gammarids (*Gammarus fossarum*) exposed to inland polluted waters. Ecotoxicol. Environ. Saf. 97, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.07.016>
- Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O., Geffard, A., 2009. Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An in situ experiment. Chemosphere 77, 1569-1576. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.042>
- Delignette-Muller, M.L., Ruiz, P., Veber, P., 2017. Robust fit of toxicokinetic-toxicodynamic models using prior knowledge contained in the design of survival toxicity tests. Environ. Sci. Technol. 51, 4038-4045. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05326>
- Dendievel, A.M., Grosbois, C., Ayrault, S., Evrard, O., Coynel, A., Debret, M., Gardes, T., Euzen, C., Schmitt, L., Chabaux, F., Winiarski, T., Van Der Perk, M., Mourier, B., 2022. Key factors influencing metal concentrations in sediments along Western European Rivers: A long-term monitoring study (1945–2020). Sci. Total Environ. 805. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149778>
- Depledge, M.H., Rainbow, P.S., 1990. Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. Part C, Comp. 97, 1-7. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(90\)90163-4](https://doi.org/10.1016/0742-8413(90)90163-4)
- Dixit, S.S., Witcomb, D., 1983. Heavy metal burden in water, substrate, and macroinvertebrate body tissue of a polluted river Irwell (England). Environ. Pollution. Ser. B, Chem. Phys. 6, 161-172. [https://doi.org/10.1016/0143-148X\(83\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0143-148X(83)90031-9)
- Duan, Y., Wang, Y., Huang, J., Li, H., Dong, H., Zhang, J., 2021. Toxic effects of cadmium and lead exposure on intestinal histology, oxidative stress response, and microbial community of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Mar. Pollut. Bull. 167. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112220>
- Dubois, M., Hare, L., 2009. Subcellular distribution of cadmium in two aquatic invertebrates: Change over time and relationship to Cd assimilation and loss by a predatory insect. Environ. Sci. Technol. 43, 356-361. <https://doi.org/10.1021/es801406r>
- Dutton, J., Fisher, N.S., 2011. Bioaccumulation of As, Cd, Cr, Hg(II), and MeHg in killifish (*Fundulus heteroclitus*) from amphipod and worm prey. Sci. Total Environ. 409, 3438-3447. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.022>

- *E* -

- Eau de France, 2022. Vers le bon état des milieux aquatiques - Gestion durable de l'eau. <https://www.eaufrance.fr/vers-le-bon-etat-des-milieux-aquatiques> (consulté le 9.1.22).
- EC, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, OJ L327, 22.12.2000.
- European Chemicals Agency (ECHA), 2008. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment - Appendix R.7.13-2: Environmental risk assessment for metals and metal compounds, European Chemicals Agency.
- Evans, D.H., 1980. Osmotic and ionic regulation by freshwater and marine fishes. *Environ. Physiol. fishes* c, 93-122.

- *F* -

- Farkas, A., Salánki, J., Specziár, A., 2003. Age- and size-specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. *Water Res.* 37, 959-964. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00447-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00447-5)
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 86, 413-425. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.002>
- Felten, V., Guérol, F., 2001. Hyperventilation and loss of hemolymph Na⁺ and Cl⁻ in the freshwater amphipod *Gammarus fossarum* exposed to acid stress: a preliminary study. *Dis. Aquat. Organ.* 45, 77-80. <https://doi.org/10.3354/dao045077>
- Felten, V., Guérol, F., 2006. Short-term physiological responses to a severe acid stress in three macroinvertebrate species: a comparative study. *Chemosphere* 63, 1427-1435. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.10.003>
- Ferreira, D., Ciffroy, P., Tusseau-Vuillemin, M.H., Bourgeault, A., Garnier, J.M., 2013. DGT as surrogate of biomonitors for predicting the bioavailability of copper in freshwaters: An *ex situ* validation study. *Chemosphere* 91, 241-247. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.016>
- Fialkowski, W., Fialkowska, E., Smith, B.D., Rainbow, P.S., 2003. Biomonitoring survey of trace metal pollution in streams of a catchment draining a zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland using the amphipod *Gammarus fossarum*. *Int. Rev. Hydrobiol.* 88, 187-200. <https://doi.org/10.1002/iroh.200390014>
- Fialkowski, W., Rainbow, P.S., 2006. The discriminatory power of two biomonitors of trace metal bioavailabilities in freshwater streams. *Water Res.* 40, 1805-1810. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.02.035>
- Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Sertić Perić, M., Matoničkin Kepčija, R., Gulin, V., Velki, M., Ečimović, S., Hackenberger, B.K., Erk, M., 2016. Investigation of the soluble metals in tissue as biological response pattern to environmental pollutants (*Gammarus fossarum*

- example). Chemosphere 154, 300-309.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.058>
- Forrow, D.M., Maltby, L., 2000. Toward a mechanistic understanding of contaminant-induced changes in detritus processing in streams: direct and indirect effects on detritivore feeding. Environ. Toxicol. Chem. 19, 2100-2106. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190820>
- Fowler, S.W., Teyssié, J.L., Cotret, O., Danis, B., Rouleau, C., Warnau, M., 2004. Applied radiotracer techniques for studying pollutant bioaccumulation in selected marine organisms (jellyfish, crabs and sea stars). Nukleonika 49, 97-100.
- Franco-uría, A., Otero-muras, I., Balsa-Canto, E., Alonso, A.A., Roca, E., 2010. Generic parameterization for a pharmacokinetic model to predict Cd concentrations in several tissues of different fish species. Chemosphere 79, 377-386.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.010>
- Franklin, N.M., Glover, C.N., Nicol, J.A., Wood, C.M., 2005. Calcium/cadmium interactions at uptake surfaces in rainbow trout: Waterborne versus dietary routes of exposure. Environ. Toxicol. Chem. 24, 2954-2964. <https://doi.org/10.1897/05-007R.1>
- Frías-Espericueta, M.G., Bautista-Covarrubias, J.C., Osuna-Martínez, C.C., Delgado-Alvarez, C., Bojórquez, C., Aguilar-Juárez, M., Roos-Muñoz, S., Osuna-López, I., Páez-Osuna, F., 2022. Metals and oxidative stress in aquatic decapod crustaceans: A review with special reference to shrimp and crabs. Aquat. Toxicol. 242.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106024>
- G -
- Gagnon, C., Fisher, N.S., 1997. The bioavailability of sediment-bound Cd, Co, and Ag to the mussel *Mytilus edulis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54, 147-156. <https://doi.org/10.1139/cjfas-54-1-147>
- Gao, Y., Zhang, Y., Feng, J., Zhu, L., 2019. Toxicokinetic–toxicodynamic modeling of cadmium and lead toxicity to larvae and adult zebrafish. Environ. Pollut. 251, 221-229.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.003>
- Garnier-laplace, J., 1990. Étude des mécanismes de transfert de l'argent-110m en eau douce.
- Garnier-Laplace, J., Adam, C., Lathuillière, T., Baudin, J. pierre, Clabaut, M., 2000. A simple fish physiological model for radioecologists exemplified for ⁵⁴Mn direct transfer and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). J. Environ. Radioact. 49, 35-53.
[https://doi.org/10.1016/S0265-931X\(99\)00095-8](https://doi.org/10.1016/S0265-931X(99)00095-8)
- Garnier-Laplace, J., Calmon, P., 2002. Fiche radionucléide - Argent 110m et environnement.
- Garric, J., Morin, S., Vincent-Hubert, F., 2010. Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage. Sci. Eaux Territ. Numéro 1, 12-17.
<https://doi.org/10.3917/set.001.0012>
- Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V., Moilleron, R., 2009. Priority pollutants in surface waters and settleable particles within a densely urbanised area: Case study of Paris (France). Sci. Total Environ. 407, 2900-2908. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.024>

- Geffard, A., Quéau, H., Dedourge-Geffard, O., Biagianti-Risboug, S., Geffard, O., 2007. Influence of biotic and abiotic factors on metallothionein level in *Gammarus pulex*. Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol. 145, 632-640. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.02.012>
- Geffard, A., Sartelet, H., Garric, J., Biagianti-Risbourg, S., Delahaut, L., Geffard, O., 2010. Subcellular compartmentalization of cadmium, nickel, and lead in *Gammarus fossarum*: Comparison of methods. Chemosphere 78, 822-829. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.051>
- Geffard, O., 2014. Proposition d'une espèce bio-indicatrice, *Gammarus fossarum*: Démarches, méthodes et outils pour diagnostiquer et comprendre la contamination chimique et la toxicité des milieux aquatiques.
- Geffard, O., Xuereb, B., Chaumot, A., Geffard, A., Biagianti, S., Noël, C., Abbaci, K., Garric, J., Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., 2010. Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: Application for reproductive toxicity assessment. Environ. Toxicol. Chem. 29, 2249-2259. <https://doi.org/10.1002/etc.268>
- Gelman, A., Carlin, J.B., Stern, H.S., Rubin, D.B., 1995. Bayesian Data Analysis, 1st Editio. ed. Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9780429258411>
- Gerhardt, A., 2011. GamTox: a low-cost multimetric ecotoxicity test with *Gammarus spp.* for in and ex situ application. Int. J. Zool. <https://doi.org/10.1155/2011/574536>
- Gestin, O., Lacoue-Labarthe, T., Coquery, M., Delorme, N., Garnero, L., Dherret, L., Ciccia, T., Geffard, O., Lopes, C., 2021. One and multi-compartments toxico-kinetic modeling to understand metals' organotropism and fate in *Gammarus fossarum*. Environ. Int. 156. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106625>
- Gestin, O., Lopes, C., Delorme, N., Garnero, L., Geffard, O., Lacoue-Labarthe, T., 2022. Organ-specific accumulation of cadmium and zinc in *Gammarus fossarum* exposed to environmentally relevant metal concentrations. Environ. Pollut. 308. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119625>
- Gismondi, E., Thomé, J.P., Urien, N., Uher, E., Baiwir, D., Mazzucchelli, G., De Pauw, E., Fechner, L.C., Lebrun, J.D., 2017. Ecotoxicoproteomic assessment of the functional alterations caused by chronic metallic exposures in gammarids. Environ. Pollut. 225, 428-438. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.006>
- Goedemakers, A., 1981. Population dynamics of three gammarids species (Crustacea, Amphipoda) in a french chalk stream - Part II. Standing crop. Bijdr. tot Dierkd. 51, 31-69.
- Golding, L.A., Borgmann, U., George Dixon, D., 2013. Cadmium bioavailability to *Hyaella azteca* from a periphyton diet compared to an artificial diet and application of a biokinetic model. Aquat. Toxicol. 126, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.016>
- Golovanova, I.L., 2008. Effects of heavy metals on the physiological and biochemical status of fishes and aquatic invertebrates. Inl. Water Biol. 1, 93-101. <https://doi.org/10.1007/s12212-008-1014-1>
- Gouveia, D., Almunia, C., Cogne, Y., Pible, O., Degli-Esposti, D., Salvador, A., Cristobal, S., Sheehan, D., Chaumot, A., Geffard, O., Armengaud, J., 2019. Ecotoxicoproteomics: A

- decade of progress in our understanding of anthropogenic impact on the environment. J. Proteomics 198, 66-77. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.001>
- Graça, M.A.S., 2001. The role of invertebrates on leaf litter decomposition in streams - a review. Int. Rev. Hydrobiol. 86, 383-393. [https://doi.org/10.1002/1522-2632\(200107\)86:4/5<383::AID-IROH383>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1522-2632(200107)86:4/5<383::AID-IROH383>3.0.CO;2-D)
- Grech, A., Brochot, C., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Bois, F.Y., Beaudouin, R., 2017. Toxicokinetic models and related tools in environmental risk assessment of chemicals. Sci. Total Environ. 578, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.146>
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F.Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J. Lou, Quignot, N., Beaudouin, R., 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. Sci. Total Environ. 651, 516-531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.163>
- Griffith, M.B., 2017. Toxicological perspective on the osmoregulation and ionoregulation physiology of major ions by freshwater animals: Teleost fish, crustacea, aquatic insects, and Mollusca. Environ. Toxicol. Chem. 36, 576-600. <https://doi.org/10.1002/etc.3676>

- $\mathcal{H}$ -

- Hadji, R., Urien, N., Uher, E., Fechner, L.C., Lebrun, J.D., 2016. Contribution of aqueous and dietary uptakes to lead (Pb) bioaccumulation in *Gammarus pulex*: From multipathway modeling to in situ validation. Ecotoxicol. Environ. Saf. 129, 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.033>
- Handy, R.D., 1993. The effect of acute exposure to dietary Cd and Cu on organ toxicant concentrations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* 27, 1-14.
- Hare, L., 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. Crit. Rev. Toxicol. 22, 327-369. <https://doi.org/10.3109/10408449209146312>
- Hare, L., Tessier, A., Borgmann, U., 2003. Metal sources for freshwater invertebrates: Pertinence for risk assessment. Hum. Ecol. Risk Assess. 9, 779-793. <https://doi.org/10.1080/713610009>
- Hartwig, A., 2001. Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: Differential effects on structure and function. Antioxidants Redox Signal. 3, 625-634. <https://doi.org/10.1089/15230860152542970>
- Hédouin, L., Metian, M., Lacoue-Labarthe, T., Fichez, R., Teyssié, J.L., Bustamante, P., Warnau, M., 2010a. Influence of food on the assimilation of selected metals in tropical bivalves from the New Caledonia lagoon: Qualitative and quantitative aspects. Mar. Pollut. Bull. 61, 568-575. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.06.034>
- Hédouin, L., Metian, M., Teyssié, J.L., Fichez, R., Warnau, M., 2010b. Delineation of heavy metal contamination pathways (seawater, food and sediment) in tropical oysters from New Caledonia using radiotracer techniques. Mar. Pollut. Bull. 61, 542-553. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.06.037>

- Henry, R.P., Lucu, Č., Onken, H., Weihrauch, D., 2012. Multiple functions of the crustacean gill: Osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Front. Physiol.* 3 NOV, 1-33. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00431>
- Henry, Y., Piscart, C., Charles, S., Colinet, H., 2017. Combined effect of temperature and ammonia on molecular response and survival of the freshwater crustacean *Gammarus pulex*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 137, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.011>
- Hopkin, S.P., Martin, M.H., 1982. The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the woodlouse *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda). *Oecologia* 54, 227-232. <https://doi.org/10.1007/BF00378396>
- Howell, R., 1985. Effect of zinc on cadmium toxicity to the amphipod *Gammarus pulex*. *Hydrobiologia* 123, 245-249. <https://doi.org/10.1007/BF00034386>
- Huang, S.S.Y., Strathe, A.B., Hung, S.S.O., Boston, R.C., Fadel, J.G., 2012. Selenocompounds in juvenile white sturgeon: Estimating absorption, disposition, and elimination of selenium using Bayesian hierarchical modeling. *Aquat. Toxicol.* 109, 150-157. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.11.005>
- Huang, Y., Tang, H., Jin, J., Fan, M. bi, Chang, A.K., Ying, X., 2020. Effects of waterborne cadmium exposure on its internal distribution in *Meretrix meretrix* and detoxification by metallothionein and antioxidant enzymes. *Front. Mar. Sci.* 7, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00502>
- Huang, Z.Y., Zhang, Q., Chen, J., Zhuang, Z.X., Wang, X.R., 2007. Bioaccumulation of metals and induction of metallothioneins in selected tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.) co-exposed to cadmium, mercury and lead. *Appl. Organomet. Chem.* 21, 101-107. <https://doi.org/10.1002/aoc.1167>

- I -

- Icely, J.D., Nott, J.A., 1985. Feeding and digestion in *Corophium volutator* (Crustacea: Amphipoda). *Mar. Biol.* 89, 183-195. <https://doi.org/10.1007/BF00392889>
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G., 2010. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere* 81, 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.063>

- J -

- Jager, T., 2020. Revisiting simplified DEBtox models for analysing ecotoxicity data. *Ecol. Modell.* 416, 108904. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108904>
- Jager, T., Ashauer, R., 2018. Modelling survival under chemical stress to the GUTS framework.
- Jakob, L., Bedulina, D.S., Axenov-gribanov, D. V, Ginzburg, M., Shatilina, Z.M., Lubyaga, Y.A., Madyarova, E. V, Gurkov, A.N., Timofeyev, M.A., Pörtner, H., Sartoris, F.J., Altenburger, R., Luckenbach, T., 2017. Uptake kinetics and subcellular compartmentalization explain lethal but not sublethal effects of cadmium in two closely related amphipod species. *Environ. Sci. Technol.* 51, 7208-7218. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06613>

- Jereb, V., Horvat, M., Drobne, D., Pihlar, B., 2003. Transformations of mercury in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea). Sci. Total Environ. 304, 269-284. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00574-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00574-0)
- Ju, Y.-R., Chen, W.-Y., Singh, S., Liao, C.-M., 2011. Trade-offs between elimination and detoxification in rainbow trout and common bivalve molluscs exposed to metal stressors. Chemosphere 85, 1048-1056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.033>
- Jubeaux, G., 2012. Développement de la mesure de la vitellogénine chez les invertébrés & utilisation de marqueurs de la perturbation endocrinienne chez le crustacé amphipode *Gammarus fossarum*.
- Júdová, J., 2006. Crustacea and heavy metal accumulation. Oecologia Mont. 15, 29-37.

- K -

- Kadiene, E.U., Meng, P., Hwang, J., Souissi, S., 2019. Acute and chronic toxicity of cadmium on the copepod *Pseudodiaptomus annandalei*: A life history traits approach. Chemosphere 233, 396-404. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.220>
- Karaman, G., Pinkster, S., 1977. Freshwater *Gammarus* species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea, Amphipoda) - Part I. *Gammarus pulex*-group and related species. Bijdr. tot Dierkd. 47.
- Kelly, D.W., Dick, J.T.A., Montgomery, W.I., 2002. The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators, or both? Hydrobiologia 485, 199-203. <https://doi.org/10.1023/A:1021370405349>
- Khan, F.R., Irving, J.R., Bury, N.R., Hogstrand, C., 2011. Differential tolerance of two *Gammarus pulex* populations transplanted from different metallogenic regions to a polymetal gradient. Aquat. Toxicol. 102, 95-103. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.01.001>
- Kidd, K., Clayden, M., Jardine, T., 2012. Bioaccumulation and biomagnification of mercury through food webs, in: Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N. (Ed.), Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury. John Wiley & Sons, p. 453-499. <https://doi.org/10.1002/9781118146644.ch14>
- Kim, S.G., Jee, J.H., Kang, J.C., 2004. Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure. Environ. Pollut. 127, 117-123. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00254-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00254-9)
- Kon Kam King, G., Larras, F., Charles, S., Delignette-Muller, M.L., 2015. Hierarchical modelling of species sensitivity distribution: Development and application to the case of diatoms exposed to several herbicides. Ecotoxicol. Environ. Saf. 114, 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.022>
- Kraak, M.H.S., Scholten, M.C.T., Peeters, W.H.M., Kock, W.C. De, 1991. Biomonitoring of Heavy Metals in the Western European Rivers Rhine and Meuse Using the Freshwater Mussel *Dreissena polymorpha*. Environ. Pollut. 74, 101-114. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(91\)90107-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(91)90107-8)

- Krauss, M., Schuppert, A., 2016. Assessing interindividual variability by Bayesian-PBPK modeling. *Drug Discov. Today Dis. Model.* 22, 15-19. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2017.08.001>
- Krishnan, K., Peyret, T., 2009. Physiologically-based toxicokinetic (PBTK) modeling in ecotoxicology, in: Devillers, J. (Éd.), *Ecotoxicology modeling*. p. 145-175. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0197-2>
- Kunz, P.Y., Kienle, C., Gerhardt, A., 2010. *Gammarus* spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests, *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1
- Kutlu, M., Düzen, A., Bayçu, C., Özata, A., 2002. A transmission electron microscope investigation of the effect of lead acetate on the hepatopancreatic caeca of *Gammarus pulex*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 12, 181-187. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00036-4)
- *L* -
- Lacaze, E., Devaux, A., Mons, R., Bony, S., Garric, J., Geffard, A., Geffard, O., 2011. DNA damage in caged *Gammarus fossarum* amphipods: A tool for freshwater genotoxicity assessment. *Environ. Pollut.* 159, 1682-1691. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.038>
- Lacoue-Labarthe, T., Villanueva, R., Rouleau, C., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Jeffree, R., Bustamante, P., 2011. Radioisotopes demonstrate the contrasting bioaccumulation capacities of heavy metals in embryonic stages of cephalopod species. *PLoS One* 6, 1-5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027653>
- Lacoue-Labarthe, T., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Bustamante, P., 2009. Bioaccumulation of inorganic Hg by the juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* exposed to ²⁰³Hg radiolabelled seawater and food. *Aquat. Biol.* 6, 91-98. <https://doi.org/10.3354/ab00172>
- Lacoue-labarthe, T., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Jeffree, R., Bustamante, P., 2008. First experiments on the maternal transfer of metals in the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Mar. Pollut. Bull.* 57, 826-831.
- Lam, I.K.S., Wang, W.-X., 2006. Accumulation and elimination of aqueous and dietary silver in *Daphnia magna*. *Chemosphere* 64, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.023>
- Lanctôt, C.M., Cresswell, T., Melvin, S.D., 2017. Uptake and tissue distributions of cadmium, selenium and zinc in striped marsh frog tadpoles exposed during early post-embryonic development. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 291-299. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.047>
- Landrum, P.F., Lydy, M.J., Lee, H., 1992. Toxicokinetics in aquatic systems: Model comparisons and use in hazard assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 11, 1709-1725. <https://doi.org/10.1002/etc.5620111205>
- Lebrun, J.D., Geffard, O., Urien, N., François, A., Uher, E., Fechner, L.C., 2015. Seasonal variability and inter-species comparison of metal bioaccumulation in caged gammarids under urban diffuse contamination gradient: Implications for biomonitoring

- investigations. Sci. Total Environ. 511, 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.078>
- Lebrun, J.D., Leroy, D., Giusti, A., Gourlay-Francé, C., Thomé, J.-P., 2014a. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in *Gammarus pulex*: Relative importance of different exposure routes and multipathway modeling. Aquat. Toxicol. 154, 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.05.015>
- Lebrun, J.D., Perret, M., Geffard, A., Gourlay-Francé, C., 2012. Modelling copper bioaccumulation in *Gammarus pulex* and alterations of digestive metabolism. Ecotoxicology 2022-2030. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0955-7>
- Lebrun, J.D., Perret, M., Uher, E., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Gourlay-Francé, C., 2011. Waterborne nickel bioaccumulation in *Gammarus pulex*: Comparison of mechanistic models and influence of water cationic composition. Aquat. Toxicol. 104, 161-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.04.011>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Fechner, L.C., 2017. Behavioural and biochemical responses to metals tested alone or in mixture (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) in *Gammarus fossarum*: From a multi-biomarker approach to modelling metal mixture toxicity. Aquat. Toxicol. 193, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.018>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Gourlay-Francé, C., 2014b. Essential metal contents in indigenous gammarids related to exposure levels at the river basin scale: Metal-dependent models of bioaccumulation and geochemical correlations. Sci. Total Environ. 466-467, 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.003>
- Lebrun, J.D., Uher, E., Urien, N., Tales, E., 2020. Ecological factors governing distribution of gammarid species and their metal bioaccumulation abilities at the Seine basin scale. Ecol. Indic. 118, 106726. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106726>
- Lee, J.H., Birch, G.F., Cresswell, T., Johansen, M.P., Adams, M.S., Simpson, S.L., 2015. Dietary ingestion of fine sediments and microalgae represent the dominant route of exposure and metal accumulation for Sydney rock oyster (*Saccostrea glomerata*): A biokinetic model for zinc. Aquat. Toxicol. 167, 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.07.020>
- Legoff, F., Bonnomet, V., 2004. Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM, Rapport technique Ineris.
- Liao, C.M., Chen, B.C., Lin, M.C., Chen, J.W., 2000. An optimal trace zinc biomonitor (*Haliotis diversicolor supertexta*) control system design in aquacultural ecosystems. Appl. Math. Model. 24, 27-43. [https://doi.org/10.1016/S0307-904X\(99\)00024-4](https://doi.org/10.1016/S0307-904X(99)00024-4)
- Liu, D., Pan, L., Yang, H., Wang, J., 2014. A physiologically based toxicokinetic and toxicodynamic model links the tissue distribution of benzo[a]pyrene and toxic effects in the scallop *Chlamys farreri*. Environ. Toxicol. Pharmacol. 37, 493-504. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.01.005>
- Liu, J., Cao, L., Dou, S., 2019. Trophic transfer, biomagnification and risk assessments of four common heavy metals in the food web of Laizhou Bay, the Bohai Sea. Sci. Total Environ. 670, 508-522. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.140>
- Liu, X., Jiang, H., Ye, B., Qian, H., Guo, Z., Bai, H., Gong, J., Feng, J., Ma, K., 2021. Comparative transcriptome analysis of the gills and hepatopancreas from *Macrobrachium rosenbergii*

exposed to the heavy metal Cadmium (Cd^{2+}). Sci. Rep. 11, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95709-w>

Lucu, Ć., Obersnel, V., 1996. Cadmium influx across isolated *Carcinus* gill epithelium - Interaction of lanthanum and calcium with cadmium influxes. J. Comp. Physiol. B 184-189.

- *M* -

Ma, W., Wang, L., He, Y., Yan, Y., 2008. Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in freshwater crab *Sinopotamon henanense* during acute exposure to waterborne cadmium. Wiley InterSci. 393-400. <https://doi.org/10.1002/tox.20339>

MacKay, D., Fraser, A., 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: Mechanisms and models. Environ. Pollut. 110, 375-391. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00162-7)

MacNeil, C., Dick, J.T.A., Bigsby, E., Elwood, R.W., Ian Montgomery, W., Gibbins, C.N., Kelly, D.W., 2002. The validity of the *Gammarus:Asellus* ratio as an index of organic pollution: abiotic and biotic influences. Water Res. 36, 75-84. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00218-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00218-4)

Macneil, C., Dick, J.T.A., Elwood, R.W., 1999. The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda). Biol. Rev. 74, 375-395. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1999.tb00035.x>

Macneil, C., Dick, J.T.A., Elwood, R.W., 1997. The trophic ecology of freshwater *Gammarus* spp. (crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. Biol. Rev. 72, 349-364. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1997.tb00017.x>

MacNeil, C., Elwood, R.W., Dick, J.T.A., 2000. Factors influencing the importance of *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda) in riverine salmonid diets. Arch. fur Hydrobiol. 149, 87-107. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/149/2000/87>

Maculewicz, J., Świacka, K., Kowalska, D., Stolte, S., Dolżonek, J., 2020. In vitro methods for predicting the bioconcentration of xenobiotics in aquatic organisms. Sci. Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140261>

Maltby, L., 1995. Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L.) and *Asellus aquaticus* (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: observations and possible mechanisms. Water Res. 29, 781-787.

Maltby, L., Clayton, S.A., Wood, R.M., McLoughlin, N., 2002. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: robustness, responsiveness, and relevance. Environ. Toxicol. Chem. 21, 361-368.

Maltby, L., Crane, M., 1994. Responses of *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) to metalliferous effluents: identification of toxic components and the importance of interpopulation variation. Environ. Pollut. 84, 45-52. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(94\)90069-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(94)90069-8)

Manciocco, A., Calamandrei, G., Alleva, E., 2014. Global warming and environmental contaminants in aquatic organisms: The need of the etho-toxicology approach. Chemosphere 100, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.072>

- Marsden, I.D., Rainbow, P.S., 2004. Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology - The amphipod example? J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 300, 373-408. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.12.009>
- Mason, R.P., Laporte, J.-M., Andres, S., 2000. Factors controlling the bioaccumulation of mercury, methylmercury, arsenic, selenium, and cadmium by freshwater invertebrates and fish. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 38, 283-297. <https://doi.org/10.1007/s002449910038>
- McCarty, L.S., Mackay, D., 1993. Enhancing ecotoxicological modeling and assessment. Environ. Sci. Technol. 27, 1718-1728. <https://doi.org/10.1021/es00046a001>
- McDonald, S., Cresswell, T., Hassell, K., 2020. Bioaccumulation kinetics of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Paratya australiensis* following multiple pulse exposures. Sci. Total Environ. 720, 137609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137609>
- McGeer, J.C., Brix, K. V., Skeaff, J.M., Deforest, D.K., Brigham, S.I., Adams, W.J., Green, A.S., 2003. Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure concentration for metals: Implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment. Environ. Toxicol. Chem. 22, 1017-1037. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2003\)022<1017:IRBBFA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2003)022<1017:IRBBFA>2.0.CO;2)
- Mehennaoui, K., Cambier, S., Serchi, T., Ziebel, J., Lentzen, E., Valle, N., Guérol, F., Thomann, J.S., Giamberini, L., Gutleb, A.C., 2018. Do the pristine physico-chemical properties of silver and gold nanoparticles influence uptake and molecular effects on *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda)? Sci. Total Environ. 643, 1200-1215. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.208>
- Mehennaoui, K., Georgantzopoulou, A., Felten, V., Andrei, J., Garaud, M., Cambier, S., Serchi, T., Pain-Devin, S., Guérol, F., Audinot, J.N., Giambérini, L., Gutleb, A.C., 2016. *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) as a model organism to study the effects of silver nanoparticles. Sci. Total Environ. 566-567, 1649-1659. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.068>
- Mellinger, P.J., 1972. The comparative metabolism of two mercury compounds as environmental contaminants in the freshwater mussel (*Margaritifera margaritifera*). Proc. Sixth Conf. Trace Subst. Environ. Heal. 173-180.
- Méndez, L., Acosta, B., Palacios, E., Magallón, F., 1997. Effect of stocking densities on trace metal concentration in three tissues of the brown shrimp *Penaeus californiensis*. Aquaculture 156, 21-34. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00078-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00078-1)
- Metian, M., Bustamante, P., Hédouin, L., Oberhänsli, F., Warnau, M., 2009. Delineation of heavy metal uptake pathways (seawater and food) in the variegated scallop *Chlamys varia*, using radiotracer techniques. Mar. Ecol. Prog. Ser. 375, 161-171. <https://doi.org/10.3354/meps07766>
- Metian, M., Pouil, S., Fowler, S.W., 2019. Radiocesium accumulation in aquatic organisms: A global synthesis from an experimentalist's perspective. J. Environ. Radioact. 198, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2018.11.013>
- Metian, M., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Bustamante, P., 2007. Interspecific comparison of Cd bioaccumulation in European Pectinidae (*Chlamys varia* and

- Pecten maximus*). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 353, 58-67.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.09.001>
- Mijošek, T., Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Ivanković, D., Krasnići, N., Redžović, Z., Veseli, M., Gottstein, S., Lajtner, J., Sertić Perić, M., Matonićkin Kepčija, R., Erk, M., 2020. Thallium accumulation in different organisms from karst and lowland rivers of Croatia under wastewater impact. Environ. Chem. 17, 201-212.
- Miquel, G., 2000. Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Off. Parlem. d'évaluation des choix Sci. Technol. 95.
- Mok, J.S., Kwon, J.Y., Son, K.T., Choi, W.S., Shim, K.B., Lee, T.S., Kim, J.H., 2014. Distribution of heavy metals in muscles and internal organs of Korean cephalopods and crustaceans: Risk assessment for human health. J. Food Prot. 77, 2168-2175.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-317>
- Munro Fox, H., 1952. Anal and oral water intake by Crustacea. Nature 169, 1051-1052.
<https://doi.org/10.1038/1691051b0>
- *N* -
- Nassiri, Y., Rainbow, P.S., Smith, B.D., Nassiri, Y., Amiard-Triquet, C., Rainglet, F., 2000. Trace-metal detoxification in the ventral caeca of *Orchestia gammarellus* (Crustacea: Amphipoda). Mar. Biol. 136, 477-484. <https://doi.org/10.1007/s002270050707>
- Ng, T.Y.T., Wood, C.M., 2008. Trophic transfer and dietary toxicity of Cd from the oligochaete to the rainbow trout. Aquat. Toxicol. 87, 47-59.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.01.003>
- Nichols, J.W., Fitzsimmons, P.N., Whiteman, F.W., Dawson, T.D., 2004. A physiologically based toxicokinetic model for dietary uptake of hydrophobic organic compounds by fish: I. Feeding studies with 2,2', 5,5'-tetrachlorobiphenyl. Toxicol. Sci. 77, 206-218.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh033>
- Nieboer, E., Richardson, D.H.S., 1980. The replacement of the nondescript term « heavy metals » by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollution. Ser. B, Chem. Phys. 1, 3-26. [https://doi.org/10.1016/0143-148X\(80\)90017-8](https://doi.org/10.1016/0143-148X(80)90017-8)
- Nunez-Nogueira, G., Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2006a. Subcellular distribution of zinc and cadmium in the hepatopancreas and gills of the decapod crustacean *Penaes indicus*. Mar. Biol. 150, 197-211. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0350-0>
- Nunez-Nogueira, G., Rainbow, P.S., 2005. Kinetics of zinc uptake from solution, accumulation and excretion by the decapod crustacean *Penaes indicus*. Mar. Biol. 147, 93-103.
<https://doi.org/10.1007/s00227-004-1542-0>
- Nunez-Nogueira, G., Rainbow, P.S., Smith, B.D., 2006b. Assimilation efficiency of zinc and cadmium in the decapod crustacean *Penaes indicus*. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 332, 75-83.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.11.004>

- O -

- O'Callaghan, I., Harrison, S., Fitzpatrick, D., Sullivan, T., 2019. The freshwater isopod *Asellus aquaticus* as a model biomonitor of environmental pollution: A review. *Chemosphere* 235, 498-509. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.217>
- Ockleford, C., Adriaanse, P., Berny, P., Brock, T., Duquesne, S., Grilli, S., Hernandez-Jerez, A.F., Bennekou, S.H., Klein, M., Kuhl, T., Laskowski, R., Machera, K., Pelkonen, O., Pieper, S., Smith, R.H., Stemmer, M., Sundh, I., Tiktak, A., Topping, C.J., Wolterink, G., Cedergreen, N., Charles, S., Focks, A., Reed, M., Arena, M., Ippolito, A., Byers, H., Teodorovic, I., 2018. Scientific Opinion on the state of the art of Toxicokinetic/Toxicodynamic (TKTD) effect models for regulatory risk assessment of pesticides for aquatic organisms. *EFSA J.* 16. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5377>
- Olmedo, P., Hernández, A.F., Pla, A., Femia, P., Navas-Acien, A., Gil, F., 2013. Determination of essential elements (copper, manganese, selenium and zinc) in fish and shellfish samples. Risk and nutritional assessment and mercury-selenium balance. *Food Chem. Toxicol.* 62, 299-307. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.076>
- Ortega, P., Custódio, M.R., Zanotto, F.P., 2017. Characterization of cadmium transport in hepatopancreatic cells of a mangrove crab *Ucides cordatus*: The role of calcium. *Aquat. Toxicol.* 188, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.04.012>
- Otero-Muras, I., Franco-Uría, A., Alonso, A.A., Balsa-Canto, E., 2010. Dynamic multi-compartmental modelling of metal bioaccumulation in fish: Identifiability implications. *Environ. Model. Softw.* 25, 344-353. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2009.08.009>
- Oyoo-okoth, E., Admiraal, W., Osano, O., Kraak, M.H.S., Gichuki, J., Ogwai, C., 2012. Parasites modify sub-cellular partitioning of metals in the gut of fish. *Aquat. Toxicol.* 106-107, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.10.014>

- P -

- Páez-Osuna, F., Tron-Mayen, L., 1995. Distribution of heavy metals in tissues of the shrimp *Penaeus californiensis* from the northwest coast of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 209-215. <https://doi.org/10.1007/BF00203011>
- Pedersen, T. V., Bjerregaard, P., 2000. Cadmium influx and efflux across perfused gills of the shore crab, *Carcinus maenas*. *Aquat. Toxicol.* 48, 223-231. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00040-5)
- Peeters, E.T.H.M., Gardeniers, J.J.P., 1998. Logistic regression as a tool for defining habitat requirements of two common gammarids. *Freshw. Biol.* 39, 605-615. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1998.00304.x>
- Pellet, B., Ayrault, S., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Gourlay-Francé, C., 2014. Quantifying diet-borne metal uptake in *Gammarus pulex* using stable isotope tracers. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 110, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.001>
- Pellet, B., Geffard, O., Lacour, C., Kermoal, T., Gourlay-Francé, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2009. A model predicting waterborne cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex*: the

- effects of dissolved organic ligands, calcium, and temperature. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2434-2442. <https://doi.org/10.1897/09-042.1>
- Pelletier, E., Maheu, S., 1996. Cinétique d'accumulation et rétention d'espèces du mercure chez l'étoile de mer *Leptasterias polaris* : une expérience de transfert trophique à long terme. *Rev. des Sci. l'eau / J. Water Sci.* 9, 351-364. <https://doi.org/10.7202/705257ar>
- Peng, X., Liu, F., Wang, W.-X., 2016. Organ-specific accumulation, transportation, and elimination of methylmercury and inorganic mercury in a low Hg accumulating fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 2074-2083. <https://doi.org/10.1002/etc.3363>
- Penicaud, V., Lacoue-Labarthe, T., Bustamante, P., 2017. Metal bioaccumulation and detoxification processes in cephalopods: A review. *Environ. Res.* 155, 123-133. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.02.003>
- Péqueux, A., 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J. Crustac. Biol.* 15, 1-60.
- Pery, A., 2008. Évaluation du risque écotoxicologique dans les milieux aquatiques à partir d'expérimentations de laboratoire. Perspectives offertes par la modélisation. *Tech. Sci. Méthodes* 37-49. <https://doi.org/10.1051/tsm/200809037>
- Péry, A.R.R., Geffard, A., Conrad, A., Mons, R., Garric, J., 2008. Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on *Chironomus riparius* based on cytosolic accumulation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71, 869-873. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.04.009>
- Pichard, A., Bisson, M., Diderich, R., Hulot, C., Houeix, N., Lacroix, G., Lefevre, J.P., Leveque, S., Magaud, H., Morin, A., 2005. Zinc et ses dérivés, INERIS - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques.
- Pinkster, S., 1972. On members of the *Gammarus pulex*-group (Crustacea, Amphipoda) from Western Europe. *Bijdr. tot Dierkd.* 42, 164-191.
- Plénet, S., 1995. Freshwater amphipods as biomonitors of metal pollution in surface and interstitial aquatic systems. *Freshw. Biol.* 33, 127-137. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1995.tb00393.x>
- Plummer, M., 2003. JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using gibbs sampling JAGS: Just Another Gibbs Sampler, in: 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing. Vienne, Austria, p. 8.
- Polak-Juszczak, L., Góra, A., 2019. Organotropism of organic and inorganic mercury in fish from the Vistula Lagoon, Poland. *J. Elem.* 24, 589-602. <https://doi.org/10.5601/jelem.2018.23.2.1663>
- Pouil, S., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Bustamante, P., Metian, M., 2016. Influence of food on the assimilation of essential elements (Co, Mn, and Zn) by turbot *Scophthalmus maximus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 550, 207-218. <https://doi.org/10.3354/meps11716>
- Pouil, S., Warnau, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Metian, M., 2015. Trophic transfer of ^{110m}Ag in the turbot *Scophthalmus maximus* through natural prey and compounded feed. *J. Environ. Radioact.* 150, 189-194. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2015.08.016>

- Pourang, N., Amini, G., 2001. Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from Persian gulf and effects of storage temperature on elements transportation. *Water. Air. Soil Pollut.* 129, 229-243.
- Pourang, N., Dennis, J.H., Ghourchian, H., 2004. Tissue distribution and redistribution of trace elements in shrimp species with the emphasis on the roles of metallothionein. *Ecotoxicology* 13, 519-533. <https://doi.org/10.1023/b:ectx.0000037189.80775.9c>
- Pourret, O., Bollinger, J., 2017. Heavy Metals - What to do now: To use or not to use ? (Letter to the Editor). *Sci. Total Environ.* 610-611, 419-420.

- *R* -

- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, in: R Foundation for Statistical Computing. Vienne, Austria.
- Raftery, A.E., Lewis, S.M., 1992. Comment: One long run with diagnostics: Implementation strategies for Markov Chain Monte Carlo. *Stat. Sci.* 7, 493-497. <https://doi.org/10.1214/ss/1177011143>
- Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environ. Pollut.* 120, 497-507. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00238-5)
- Rainbow, P.S., 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 44, 169-176. <https://doi.org/10.1006/ecss.1996.0208>
- Rainbow, P.S., 1995. Physiology, physicochemistry and metal uptake-A crustacean perspective. *Mar. Pollut. Bull.* 31, 55-59. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(95\)00005-8](https://doi.org/10.1016/0025-326X(95)00005-8)
- Rainbow, P.S., Luoma, S.N., 2011a. Trace metals in aquatic invertebrates, in: *Environmental Contaminants in Biota*. CRC Press, p. 24.
- Rainbow, P.S., Luoma, S.N., 2011b. Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates-Modelling zinc in crustaceans. *Aquat. Toxicol.* 105, 455-465. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.08.001>
- Ramiro Pastorinho, M., Telfer, T.C., Soares, A.M.V.M., 2009. Amphipod susceptibility to metals: Cautionary tales. *Chemosphere* 75, 1423-1428. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.003>
- Ratier, A., 2019. Modélisation toxico-cinétique de la bioaccumulation de composés organiques persistants par des invertébrés benthiques d'eau douce.
- Ratier, A., Baudrot, V., Kaag, M., Siberchicot, A., Lopes, C., Charles, S., 2022a. rbioacc: An R-package to analyze toxicokinetic data. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 242, 0-3. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113875>
- Ratier, A., Charles, S., 2022. Accumulation-depuration data collection in support of toxicokinetic modelling. *Sci. Data* 9, 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01248-y>
- Ratier, A., Lopes, C., Geffard, O., Babut, M., 2021. The added value of Bayesian inference for estimating biotransformation rates of organic contaminants in aquatic invertebrates. *Aquat. Toxicol.* 234, 105811. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105811>

- Ratier, A., Lopes, C., Labadie, P., Budzinski, H., Delorme, N., Quéau, H., Peluhet, L., Geffard, O., Babut, M., 2019. A Bayesian framework for estimating parameters of a generic toxicokinetic model for the bioaccumulation of organic chemicals by benthic invertebrates: Proof of concept with PCB153 and two freshwater species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 180, 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.080>
- Ratier, A., Lopes, C., Multari, G., Mazerolles, V., Carpentier, P., Charles, S., 2022b. New perspectives on the calculation of bioaccumulation metrics for active substances in living organisms. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 18, 10-18. <https://doi.org/10.1002/ieam.4439>
- Reinfelder, J.R., Fisher, N.S., 1994. Retention of elements absorbed by juvenile fish (*Menidia menidia*, *Menidia beryllina*) from zooplankton prey. *Limnol. Oceanogr.* 39, 1783-1789. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.8.1783>
- Reinfelder, J.R., Fisher, N.S., 1991. The assimilation of elements ingested by marine copepods. *Science* (80-.). 251, 794-796. <https://doi.org/10.1126/science.251.4995.794>
- Ren, X., Wang, X., Liu, P., Li, J., 2019. Bioaccumulation and physiological responses in juvenile *Marsupenaes japonicus* exposed to cadmium. *Aquat. Toxicol.* 214. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105255>
- Ritz, C., 2010. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 220-229. <https://doi.org/10.1002/etc.7>
- Rivière, J., 1993. Les animaux sentinelles. *Courr. l'Environnement l'INRA* 20, 59-67.
- Rocha, T.L., Gomes, T., Pinheiro, J.P., Sousa, V.S., Nunes, L.M., Teixeira, M.R., Bebianno, M.J., 2015. Toxicokinetics and tissue distribution of cadmium-based Quantum Dots in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environ. Pollut.* 204, 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.05.008>
- Roditi, H.A., Fisher, N.S., 1999. Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels. *Limnol. Oceanogr.* 44, 1730-1749. <https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.7.1730>
- Roussel, H., Chauvet, E., Bonzom, J.M., 2008. Alteration of leaf decomposition in copper-contaminated freshwater mesocosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 637-644. <https://doi.org/10.1897/07-168.1>
- Roux, C., Roux, A.L., 1967. Température et métabolisme respiratoire d'espèces sympatriques de gammarus du groupe *pulex* (Crustacés, Amphipodes). *Ann. Limnol.* 3, 3-16. <https://doi.org/10.1051/limn/1967020>
- Rowland, M.A., Perkins, E.J., Mayo, M.L., 2017. Physiological fidelity or model parsimony? The relative performance of reverse-Toxicokinetic modeling approaches. *BMC Syst. Biol.* 11, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12918-017-0407-3>
- S -
- Saleem, M., Iqbal, J., Akhter, G., Shah, M.H., 2018. Fractionation, bioavailability, contamination and environmental risk of heavy metals in the sediments from a freshwater reservoir, Pakistan. *J. Geochemical Explor.* 184, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.11.002>

- Sarabia, R., Varó, I., Amat, F., Pastor, A., Del Ramo, J., Díaz-Mayans, J., Torreblanca, A., 2006. Comparative toxicokinetics of cadmium in *Artemia*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50, 111-120. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-7026-5>
- Schaller, J., Brackhage, C., Mkandawire, M., Dudel, E.G., 2011a. Metal/metalloid accumulation/remobilization during aquatic litter decomposition in freshwater: A review. Sci. Total Environ. 409, 4891-4898. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.08.006>
- Schaller, J., Dharamshi, J., Dudel, E.G., 2011b. Enhanced metal and metalloid concentrations in the gut system comparing to remaining tissues of *Gammarus pulex* L. Chemosphere 83, 627-631. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.063>
- Scheibener, S., Song, Y., Tollefsen, K.E., Salbu, B., Teien, H.C., 2021. Uranium accumulation and toxicokinetics in the crustacean *Daphnia magna* provide perspective to toxicodynamic responses. Aquat. Toxicol. 235, 105836. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105836>
- Schmitz, E.H., 1967. Visceral anatomy of *Gammarus lacustris lacustris* Sars (Crustacea: Amphipoda). Am. Midl. Nat. 78, 1. <https://doi.org/10.2307/2423369>
- Schmitz, E.H., Scherrey, P.M., 1983. Digestive anatomy of *Hyaella azteca* (Crustacea, Amphipoda). J. Morphol. 175, 91-100.
- Schneeweiss, A., Juvigny-Khenafou, N.P.D., Osakpolor, S., Scharmüller, A., Scheu, S., Schreiner, V.C., Ashauer, R., Escher, B.I., Leese, F., Schäfer, R.B., 2022. Three perspectives on the prediction of chemical effects in ecosystems. Glob. Chang. Biol. 1-20. <https://doi.org/10.1111/gcb.16438>
- Schultz, T.W., 1976. The ultrastructure of the hepatopancreatic caeca of *Gammarus minus* (Crustacea, Amphipoda). J. Morphol. 149, 383-400.
- Serdar, O., Pala, A., Ince, M., Onal, A., 2019. Modelling cadmium bioaccumulation in *Gammarus pulex* by using experimental design approach. Chem. Ecol. 35, 922-936. <https://doi.org/10.1080/02757540.2019.1670814>
- Shalini, R., Jeyasekaran, G., Jeya, R., Arisekar, U., Sundhar, S., Jawahar, P., Aanand, S., Hemamalini, A., 2020. Concentrations of trace elements in the organs of commercially exploited crustaceans and cephalopods caught in the waters of Thoothukudi, South India. Mar. Pollut. Bull. 154. <https://doi.org/10.1016/j.marpollbul.2020.111045>
- Shuhaimi-Othman, M., Pascoe, D., 2007. Bioconcentration and depuration of copper, cadmium, and zinc mixtures by the freshwater amphipod *Hyaella azteca*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 66, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.03.003>
- Soegianto, A., Winarni, D., Handayani, U.S., Hartati, 2013. Bioaccumulation, elimination, and toxic effect of cadmium on structure of gills and hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium sintangense* (De Man, 1898). Water. Air. Soil Pollut. 224. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1575-4>
- Sokolova, I.M., Lannig, G., 2008. Interactive effects of metal pollution and temperature on metabolism in aquatic ectotherms: Implications of global climate change. Clim. Res. 37, 181-201. <https://doi.org/10.3354/cr00764>

- Souid, G., Souayed, N., Yaktiti, F., Maaroufi, K., 2013. Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of *Sparus aurata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 89, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.015>
- Spiegelhalter, D.J., Best, N.G., Carlin, B.P., Van Der Linde, A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 64, 583-639. <https://doi.org/10.1111/1467-9868.00353>
- Stadnicka, J., Schirmer, K., Ashauer, R., 2012. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3273-3280. <https://doi.org/10.1021/es2043728>
- Stephenson, M., Turner, M.A., 1993. A field study of cadmium dynamics in periphyton and in *Hyalella azteca* (crustacea: amphipoda). *Water, Air, Soil Pollut.* 68, 341-361. <https://doi.org/10.1007/BF00478462>
- Sterling, K.M., Mandal, P.K., Roggenbeck, B.A., Ahearn, S.E., Gerencser, G.A., Ahearn, G.A., 2007. Heavy metal detoxification in crustacean epithelial lysosomes: Role of anions in the compartmentalization process. *J. Exp. Biol.* 210, 3484-3493. <https://doi.org/10.1242/jeb.008300>
- Stuhlbacher, A., Maltby, L., 1992. Cadmium resistance in *Gammarus pulex* (L.). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 22, 319-324. <https://doi.org/10.1007/BF00212093>
- Sures, B., 2008. Host – parasite interactions in polluted environments. *J. Fish Biol.* 73, 2133-2142. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02057.x>
- Sutcliffe, D.W., 1992. Reproduction in *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): female strategies. *Freshw. Forum* 3, 26–64.
- Suter II, G.W., 2016. *Ecological Risk Assessment*, 2^e ed. CRC Press.
- Szebedinszky, C., McGeer, J.C., Gordon McDonald, D., Wood, C.M., 2001. Effects of chronic Cd exposure via the diet or water on internal organ-specific distribution and subsequent gill Cd uptake kinetics in juvenil rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 597. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2001\)020<0597:eoccev>2.0.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2001)020<0597:eoccev>2.0.co;2)

- T -

- Tair-Abbaci, K., 2016. Impact des polluants sur la gamétogenèse de *Gammarus fossarum* 1-107.
- Tan, Q.G., Wang, W.-X., 2012. Two-compartment toxicokinetic-toxicodynamic model to predict metal toxicity in *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9709-9715. <https://doi.org/10.1021/es301987u>
- Tan, Q.G., Zhou, W., Wang, W.-X., 2018. Modeling the toxicokinetics of multiple metals in the oyster *Crassostrea hongkongensis* in a dynamic estuarine environment. *Environ. Sci. Technol.* 52, 484-492. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04906>
- Taylor, D., 1983. The significance of the accumulation of cadmium by aquatic organisms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 7, 33-42. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(83\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0147-6513(83)90046-5)

- Tercier-Waeber, M. Lou, Stoll, S., Slaveykova, V.I., 2012. Trace metal behavior in surface waters: Emphasis on dynamic spéciation, sorption processes and bioavailability. Arch. des Sci. 65, 119-142.
- Timmermans, K.R., Spijkerman, E., Tonkes, M., Govers, H.A.J., 1992. Cadmium and zinc uptake by two species of aquatic invertebrate predators from dietary and aqueous sources. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49, 655-662. <https://doi.org/10.1139/f92-074>
- Tran, D., Boudou, A., Massabuau, J.C., 2001. How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the asiatic clam *Corbicula fluminea*: A laboratory and field study. Environ. Toxicol. Chem. 20, 2073-2080. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200929>
- Trevisan, M., Leroy, D., Decloux, N., Thomé, J.-P., Compère, P., 2014. Molt-related changes in the integument, midgut and digestive gland in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* 34, 539-551.

- V -

- UNEP, 2010. Final review of scientific information on cadmium. United Nations Environ. Program. pp.324.
- Urien, N., 2015. Modélisation de la bioaccumulation des métaux par voie dissoute chez le genre *Gammarus* : influence des facteurs environnementaux et de l'histoire de vie des organismes. Université Claude Bernard - Lyon 1.
- Urien, N., Farfarana, A., Uher, E., Fechner, L.C., Chaumot, A., Geffard, O., Lebrun, J.D., 2017. Comparison in waterborne Cu, Ni and Pb bioaccumulation kinetics between different gammarid species and populations: Natural variability and influence of metal exposure history. Aquat. Toxicol. 193, 245-255. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.016>
- Urien, N., Lebrun, J.D., Fechner, L.C., Uher, E., François, A., Quéau, H., Coquery, M., Chaumot, A., Geffard, O., 2016. Environmental relevance of laboratory-derived kinetic models to predict trace metal bioaccumulation in gammarids: Field experimentation at a large spatial scale (France). Water Res. 95, 330-339. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.023>
- Urien, N., Uher, E., Billoir, E., Geffard, O., Fechner, L.C., Lebrun, J.D., 2015. A biodynamic model predicting waterborne lead bioaccumulation in *Gammarus pulex*: Influence of water chemistry and in situ validation. Environ. Pollut. 203, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.045>

- V -

- Väinölä, R., Witt, J.D.S., Grabowski, M., Bradbury, J.H., Jazdzewski, K., Sket, B., 2008. Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater. Hydrobiologia 595, 241-255. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9020-6>
- Van Campenhout, K., Bervoets, L., Redeker, E.S., Blust, R., 2009. A kinetic model for the relative contribution of waterborne and dietary cadmium and zinc in the common carp (*Cyprinus carpio*). Environ. Toxicol. Chem. 28, 209-219. <https://doi.org/10.1897/08-136.1>
- Van Den Brink, N.W., Jemec Kokalj, A., Silva, P. V., Lahive, E., Norrfors, K., Baccaro, M., Khodaparast, Z., Loureiro, S., Drobne, D., Cornelis, G., Lofts, S., Handy, R.D., Svendsen,

- C., Spurgeon, D., Van Gestel, C.A.M., 2019. Tools and rules for modelling uptake and bioaccumulation of nanomaterials in invertebrate organisms. *Environ. Sci. Nano* 6, 1985-2001. <https://doi.org/10.1039/c8en01122b>
- Van Ginneken, M., De Jonge, M., Bervoets, L., Blust, R., 2015. Uptake and toxicity of Cd, Cu and Pb mixtures in the isopod *Asellus aquaticus* from waterborne exposure. *Sci. Total Environ.* 537, 170-179. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.153>
- van Hattum, B., de Voogt, P., van den Bosch, L., van Straalen, N.M., Joosse, E.N.G., Govers, H.A.J., 1989. Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.* 62, 129-151. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(89\)90183-8](https://doi.org/10.1016/0269-7491(89)90183-8)
- van Hattum, B., van Straalen, N.M., Govers, H.A.J., 1996. Trace metals in populations of freshwater isopods: Influence of biotic and abiotic variables. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31, 303-318. <https://doi.org/10.1007/BF00212669>
- Vellinger, C., Felten, V., Sornom, P., Rousselle, P., Beisel, J.N., Usseglio-Polatera, P., 2012a. Behavioural and physiological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium and arsenate at three temperatures: Individual and combined effects. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039153>
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Immel, F., Wagner, P., Usseglio-Polatera, P., 2012b. Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Environ. Pollut.* 160, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.09.002>
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Usseglio-Polatera, P., 2012c. Antagonistic toxicity of arsenate and cadmium in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Ecotoxicology* 21, 1817-1827. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0916-1>
- Vidal, A., 2020. Approche toxicocinétique de la bioaccumulation des composés perfluoroalkyles chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).
- Vigneron, A., Geffard, O., Coquery, M., François, A., Quéau, H., Chaumot, A., 2015. Evolution of cadmium tolerance and associated costs in a *Gammarus fossarum* population inhabiting a low-level contaminated stream. *Ecotoxicology* 24, 1239-1249. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1491-z>
- Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., Lanno, R.P., Van Straalen, N.M., Peijnenburg, W.J.G.M., 2004. Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4705-4712. <https://doi.org/10.1021/es040354g>

- W -

- Wallace, W.G., Lopez, G.R., 1996. Relationship between subcellular cadmium distribution in prey and cadmium trophic transfer to a predator. *Estuaries* 19, 923-930. <https://doi.org/10.2307/1352308>
- Wallace, W.G., Luoma, S.N., 2003. Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. II. Significance of trophically available metal (TAM). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 257, 125-137.

- Wan, Y., Zhang, K., Dong, Z., Hu, J., 2013. Distribution is a major factor affecting bioaccumulation of decabrominated diphenyl ether: Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) as an example. *Environ. Sci. Technol.* 47, 2279-2286. <https://doi.org/10.1021/es304926r>
- Wang, W.-X., Fisher, N.S., 1999a. Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: A synthesis. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2034-2045. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1999\)018<2034:AEOCCI>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1999)018<2034:AEOCCI>2.3.CO;2)
- Wang, W.-X., Fisher, N.S., 1999b. Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *Sci. Total Environ.* 237/238, 459-472. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(99\)00158-8](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(99)00158-8)
- Wang, W.-X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1996. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 140, 91-113.
- Wang, W.-X., Rainbow, P.S., 2008. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 148, 315-323. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.003>
- Wang, W.-X., Tan, Q.G., 2019. Applications of dynamic models in predicting the bioaccumulation, transport and toxicity of trace metals in aquatic organisms. *Environ. Pollut.* 252, 1561-1573. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.043>
- Wang, W.-X., Wong, R.S.K., 2003. Bioaccumulation kinetics and exposure pathways of inorganic mercury and methylmercury in a marine fish, the sweetlips *Plectorhinchus gibbosus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 261, 257-268. <https://doi.org/10.3354/meps261257>
- Wang, X., Wang, W.-X., 2016. Homeostatic regulation of copper in a marine fish simulated by a physiologically based pharmacokinetic model. *Environ. Pollut.* 218, 1245-1254. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.080>
- Wang, X., Wang, W.-X., 2015. Physiologically based pharmacokinetic model for inorganic and methylmercury in a marine fish. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10173-10181. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02301>
- Wang, X., Wu, F., Wang, W.-X., 2017. *In vivo* mercury demethylation in a marine fish (*Acanthopagrus schlegelii*). *Environ. Sci. Technol.* 51, 6441-6451. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00923>
- Warnau, M., Bustamante, P., 2007. Radiotracer techniques: A unique tool in marine ecotoxicological studies. *Environ. Bioindic.* 2, 217-218. <https://doi.org/10.1080/15555270701714822>
- Wattier, R., Mamos, T., Copilaş-Ciocianu, D., Jelić, M., Ollivier, A., Chaumot, A., Danger, M., Felten, V., Piscart, C., Žganec, K., Rewicz, T., Wysocka, A., Rigaud, T., Grabowski, M., 2020. Continental-scale patterns of hyper-cryptic diversity within the freshwater model taxon *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Sci. Rep.* 10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73739-0>
- Weeks, J.M., 1992. Copper-rich granules in the ventral caeca of talitrid amphipods (Crustacea; Amphipoda: Talitridae). *Ophelia* 36, 119-133. <https://doi.org/10.1080/00785326.1992.10430363>

- Weeks, J.M., Rainbow, P.S., 1993. The relative importance of food and seawater as sources of copper and zinc to talitrid amphipods (Crustacea; Amphipoda; Talitridae). J. Appl. Ecol. 30, 722. <https://doi.org/10.2307/2404250>
- Weeks, J.M., Rainbow, P.S., 1991. The uptake and accumulation of zinc and copper from solution by two species of talitrid amphipods (crustacea). J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom 71, 811-826. <https://doi.org/10.1017/S0025315400053479>
- Wellborn, G.A., Witt, J.D.S., Cothran, R.D., 2015. Class Malacostraca, Superorders Peracarida and Syncarida, in: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates: Ecology and General Biology: Fourth Edition. Elsevier, p. 781-796. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385026-3.00031-0>
- Wen-Xiong, W., Fisher, N.S., 1996. Assimilation of trace elements by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of diatom chemical composition. Mar. Biol. 125, 715-724. <https://doi.org/10.1007/BF00349254>
- White, S.L., Rainbow, P.S., 1984. Regulation of zinc concentration by *Palaemon elegans* (Crustacea: Decapoda): zinc flux and effects of temperature, zinc concentration and moulting. Mar. Ecol. Prog. Ser. 16, 135-147. <https://doi.org/10.3354/meps016135>
- Wiech, M., Amlund, H., Jensen, K.A., Aldenberg, T., Duinker, A., Maage, A., 2018. Tracing simultaneous cadmium accumulation from different uptake routes in brown crab *Cancer pagurus* by the use of stable isotopes. Aquat. Toxicol. 201, 198-206. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.05.015>
- Wilding, J., Maltby, L., 2006. Relative toxicological importance of aqueous and dietary metal exposure to a freshwater crustacean: Implications for risk assessment. Environ. Toxicol. Chem. 25, 1795-1801. <https://doi.org/10.1897/05-316R1.1>
- Wintermyer, M., Skaidas, A., Roy, A., Yang, Y.C., Georgapoulos, P., Burger, J., Cooper, K., 2005. The development of a physiologically-based pharmacokinetic model using the distribution of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the tissues of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*). Mar. Environ. Res. 60, 133-152. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.08.004>
- Wood, C.M., Franklin, N.M., Niyogi, S., 2006. The Protective Role of Dietary Calcium Against Cadmium Uptake and Toxicity in Freshwater Fish : an Important Role for the Stomach. Environ. Chem. 3, 389-394. <https://doi.org/10.1071/EN06056>
- Wood, C.M., Playle, R.C., Hogstrand, C., 1999. Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. Environ. Toxicol. Chem. 18, 71-83. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180110>
- Wright, D.A., 1980. Cadmium and calcium interactions in the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. Freshw. Biol. 10, 123-133. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1980.tb01187.x>
- Wright, D.A., Welbourn, P.M., 1994. Cadmium in the aquatic environment: A review of ecological, physiological, and toxicological effects on biota. Environ. Rev. 2, 187-214. <https://doi.org/10.1139/a94-012>

- X -

- Xu, Q., Pascoe, D., 1994. The importance of food and water as sources of zinc during exposure of *Gammarus pulex* (Amphipoda). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 26, 459-465. <https://doi.org/10.1007/BF00214147>
- Xu, Q., Pascoe, D., 1993. The bioconcentration of zinc by *Gammarus pulex* (L.) and the application of a kinetic model to determine bioconcentration factors. Water Res. 27, 1683-1688. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90132-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90132-2)
- Xuereb, B., 2009. Développement de marqueurs de neurotoxicité et de perturbations endocrines chez l'amphipode d'eau douce *Gammarus fossarum* 317.

- Y -

- Yang, F., Sun, N., Sun, Y.X., Shan, Q., Zhao, H.Y., Zeng, D.P., Zeng, Z.L., 2013. A physiologically based pharmacokinetics model for florfenicol in crucian carp and oral-to-intramuscular extrapolation. J. Vet. Pharmacol. Ther. 36, 192-200. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2012.01419.x>
- Yen Le, T.T., Grabner, D., Nachev, M., García, M.R., Balsa-Canto, E., Peijnenburg, W.J.G.M., Hendriks, A.J., Sures, B., 2021. Development of a toxicokinetic-toxicodynamic model simulating chronic copper toxicity to the zebra mussel based on subcellular fractionation. Aquat. Toxicol. 241, 106015. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106015>
- Yeşilbudak, B., Erdem, C., 2014. Cadmium accumulation in gill, liver, kidney and muscle tissues of common carp, *Cyprinus carpio*, and nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 92, 546-550. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1228-3>
- Yin, N.H., Sivry, Y., Benedetti, M.F., Lens, P.N.L., van Hullebusch, E.D., 2015. Application of Zn isotopes in environmental impact assessment of Zn-Pb metallurgical industries: A mini review. Appl. Geochemistry 64, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.09.016>

- Z -

- Zauke, G.-P., 2008. Toxicokinetic models as predictive tools in biomonitoring metals in zooplankton: A synthesis of ideas. Hydrobiologia 614, 3-18. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9532-8>
- Zhang, H., Reynolds, M., 2019. Cadmium exposure in living organisms : A short review. Sci. Total Environ. 678, 761-767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>
- Zhang, L., Wang, W.-X., 2007. Waterborne cadmium and zinc uptake in a euryhaline teleost *Acanthopagrus schlegelii* acclimated to different salinities. Aquat. Toxicol. 84, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.027>
- Zhang, Y., Feng, J., Gao, Y., Liu, X., Qu, L., Zhu, L., 2019. Physiologically based toxicokinetic and toxicodynamic (PBTk-TD) modelling of Cd and Pb exposure in adult zebra fish *Danio rerio*: Accumulation and toxicity. Environ. Pollut. 249, 959-968. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.115>

- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta* 606, 135-150. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>
- Zivic, I., Markovic, Z., 2007. Distribution of the Species *Gammarus balcanicus* and *Gammarus fossarum* on the Territory of Serbia (Central Part of the Balkan Peninsula). *Crustaceana* 80, 67-76.

Résumé

Largement dispersés dans les milieux aquatiques, les métaux ou Éléments Traces Métalliques (ETM) comme le cadmium (Cd) ou le zinc (Zn), du fait de leur toxicité, font l'objet d'une surveillance dans les masses d'eau, telle que définie par la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Cependant, les indicateurs qui en sont issus ne font pas état de la bioaccumulation et de l'intégration de ces métaux dans le vivant. L'utilisation d'espèces bioindicatrices dans cette surveillance intègre l'ensemble des processus incluant variables biotiques ou abiotiques qui détermine la biodisponibilité et l'accumulation des métaux par les organismes. Les gammarus sont très utilisés pour la biosurveillance, notamment sur la base des concentrations de contaminants mesurées dans les organismes. Jusqu'à présent les études de la bioaccumulation des ETM chez cet organisme ont cependant été effectuées essentiellement au niveau de l'organisme entier et il existe très peu de données au niveau des tissus/organes. Ces données sont pourtant essentielles pour comprendre la complexité des processus régissant la bioaccumulation. Dans les travaux présentés dans ce manuscrit, nous avons cherché, chez des gammarus mâles de l'espèce *Gammarus fossarum*, à améliorer la compréhension de la bioaccumulation des métaux en cherchant à : i) étudier l'organotropisme des métaux ; ii) comprendre le rôle des organes dans la bioaccumulation des métaux ; iii) étudier les processus ADME (d'Absorption/Assimilation, de Distribution, « de Métabolisation/Méthylation » et d'Élimination) régissant la gestion et le devenir des métaux ; et iv) savoir si des facteurs comme la voie d'accumulation, le caractère essentiel ou non, ou enfin la concentration d'exposition ont une influence sur les processus de bioaccumulation. Pour cela un protocole expérimental spécifique a été mis en place, couplant les outils sensibles, des radiotraceurs, pour suivre l'accumulation et la dépuration des ETM, aux modèles toxico-cinétiques un- et/ou multi-compartiments couplés à l'inférence Bayésienne pour formaliser le devenir interne des ETM. Les résultats montrent que l'organotropisme, la toxico-cinétique et le devenir des métaux sont spécifiques : i) au métal en lui-même, montrant des profils de bioaccumulation différents entre le Cd, le mercure (Hg), et le Zn, indépendamment du caractère essentiel ou non-essentiel du métal ; ii) à la voie d'accumulation, montrant une très forte concentration du Cd dans les branchies après une accumulation par la voie dissoute et une absence d'accumulation dans ce même organe par la voie trophique. Cependant, les travaux présentés ici n'ont pas démontré d'influence de la concentration d'exposition en Cd sur l'organotropisme, les processus ADME ou le devenir du Cd chez le gammarus. Ce travail pourrait aider à améliorer la précision des prédictions des effets induits par les métaux, *via* les modèles TKTD, utilisés en évaluation du risque environnemental.

Mots-clés

Invertébrés, Métaux, Bioaccumulation, Organes, Modèles TK un-compartiment, Modèles TK multi-compartiments, Processus ADME, Inférence Bayésienne

