

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR  
LOUIS CROSETIÈRE

L'UTILISATION DES BRYOPHYTES POUR LE SUIVI DU CADMIUM EN MILIEU  
AQUATIQUE : INFLUENCE DE DIFFÉRENTS PARAMÈTRES SUR  
L'ACCUMULATION

FÉVRIER 2000

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## AVANT-PROPOS

Suite aux réformes apportées en 1991 concernant les exigences d'obtention du diplôme associé à des études de deuxième cycle en Sciences de l'Environnement, ce mémoire est présenté sous forme d'articles scientifiques plutôt que sous la forme d'un mémoire traditionnel.

Tel que convenu avec mon directeur et mes co-directeurs, les résultats issus de mes recherches sont présentés sous forme d'articles en anglais. Ces derniers seront par la suite soumis à des journaux scientifiques comportant un jury de correction. Conformément aux directives en place, mon mémoire inclut une rétrospective de la littérature et une problématique en français. Ces textes, précédemment soumis à la communauté universitaire dans le cadre de mon cours Séminaire I (ECL-6005) sont partie intégrante de ce document, tout en ayant subit une mise à jour suivant l'évolution de la littérature dans ce domaine.

## REMERCIEMENTS

Mon expérience passée en ces murs aura été pour le moins inoubliable. Mon esprit critique s'est développé en grande partie par mon passage dans les méandres du monde universitaire, aussi difficile cet apprentissage puisse-t'il être. Au delà des obstacles rencontrés se trouvait un monde en soi, la science.

Cet ouvrage ne serait tout simplement pas, sans l'apport d'hommes de science, dignes de ce nom. Possédant un vif esprit et un sens critique hors du commun, deux personnes ont su orienter mes idées, soit Landis Hare et André Tessier. Ils comptent parmi les quelques personnes côtoyées au cours de ces années qui considèrent que l'unité de base du savoir universitaire est, et sera toujours, l'étudiant.

Cette aventure inoubliable n'aurait su être la même sans l'apport, parfois académique, de gens comme Sylvain Versailles, Serge Montour et Martin Arvisais. Leur présence n'a su que me faire apprécier ces trop brèves années.

Mes remerciements ne seraient que partiels en omettant de mentionner les responsables de mon cheminement académique, soit Guy Vaillancourt et Pierre Magnan. Les organismes que sont le Fonds de Développement Académique du Réseau de l'Université du Québec et le Ministère de l'Environnement du Québec ont aussi contribué à ce projet de façon déterminante, allant jusqu'à permettre sa réalisation.

J'aimerais finalement remercier ceux qui m'ont assuré un soutien d'une toute autre nature, mais tellement important : de sincères remerciements à Julie et bien entendu, à mes parents.

**TABLE DES MATIÈRES**

AVANT-PROPOS.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1	
Uptake and loss of cadmium by the aquatic moss <i>Fontinalis dalecarlica</i> .....	19
à soumettre à <i>Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences</i>	
CHAPITRE 2	
Influence of current velocity on cadmium accumulation by an aquatic moss and the consequences for its use as a biomonitor.....	39
à soumettre à <i>Environmental Science and Technology</i>	
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	56
RÉFÉRENCES DE L'INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	57
ANNEXE A : Résumé français du chapitre 1.....	63
ANNEXE B : Résumé français du chapitre 2.....	73

## LISTE DES TABLEAUX

### CHAPITRE 1

TABLE 1. Water chemistry during our experiment ( $\pm$  SD).

TABLE 2. Measured aqueous Cd concentrations during the Cd-exposure phase of our experiment for the duplicates of each treatment level. Also given are the Cd uptake ( $k_1$ ) and elimination ( $k_2$ ) rate constants calculated from equation 1, as well as the  $r^2$  values between measured and modelled values.

TABLE 3. Estimated metal concentration in mosses during Cd-exposure after 14 and 28 days. Also given are the Cd concentration in mosses at steady-state and the proportion of the total accumulated Cd after 14 and 28 days. BCFs were estimated following equation 5.

TABLE 4. Estimated metal concentration in mosses after the Cd-elimination phase of our experiment. Also given are the  $r^2$  values between measured and modelled values according equation 6, as well as the BEFs.

### CHAPITRE 2

TABLE 1. Water chemistry during our laboratory and field experiments.

TABLE 2. Experimental current velocities during our laboratory and field experiments.

## LISTE DES FIGURES

### INTRODUCTION GÉNÉRALE

Figure 1. Représentation de la couche limite de diffusion et du gradient de concentration vers les sites de fixation.

### CHAPITRE 1

Figure 1. Uptake kinetics of Cd during the exposition phase of our experiment for the duplicates of each treatment level. Symbols represent the average of 3 samples  $\pm$  SE. Values predicted by eq. 1 are fitted to actual data.

Figure 2. Release kinetics of Cd during the elimination phase of our experiment for the duplicates of each treatment level. Symbols represent the average of 3 samples  $\pm$  SE. Values predicted by eq. 6 are fitted to actual data.

### CHAPITRE 2

Figure 1. Experimental set-up used for our laboratory experiment where (1): container for Cd stock solution, (2): peristaltic pump, (3): activated charcoal bed, (4): tap water intake, (5): Cd-contaminated water reservoir, (6): high-output pumps, (7): flow-regulating valve, (8): PVC half-cut pipe, (9): system overflow and (10): stainless-steel moss retainer.

Figure 2. Experimental set-up used for our field experiment where (1): PVC pipe, (2): clear acrylic pipe and (3): stainless-steel moss retainer inserted in (2).

Figure 3. Cd accumulation by mosses over time during the laboratory experiment for all current velocities.

Figure 4. Cd accumulation by mosses over time during the field experiment for all current velocities.

## **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

### **PROBLÉMATIQUE**

Le suivi de l'état de la pollution des cours d'eau nécessite l'utilisation de toute une gamme d'outils écotoxicologiques tels les bioessais et les indicateurs biologiques. Les bioessais peuvent procurer de l'information sur la toxicité potentielle d'un rejet, d'un éluriat, d'un lixiviat ou tout simplement d'un échantillon d'eau. Les indicateurs biologiques, quant à eux, peuvent fournir une indication de l'état de santé de l'écosystème par le choix de variables biologiques représentatives ou encore une estimation de l'importance de la contamination de l'écosystème par le dosage de toxiques à même les organismes (Ramade 1992). Lors de l'utilisation de ces deux types d'indicateurs, on parle respectivement de monitoring biologique et de monitoring chimique. Bien qu'il n'existe pas de consensus dans la littérature à ce sujet (Sanchez *et al.* 1994), nous utiliserons le terme bioindicateur pour désigner le suivi des effets chez les organismes, alors que le terme biomonitoring sera associé au suivi des composés chimiques au sein des organismes biologiques. Le projet traité dans ce document est une étude de l'influence de différents paramètres sur un biomonitoring largement utilisé: les bryophytes aquatiques.

Les mousses aquatiques sont utilisées depuis les années '70 pour le suivi des métaux traces dans les cours d'eau (Benson-Evans et Williams 1976) et plus récemment, pour le suivi de substances organiques (Mouvet 1985). Le pouvoir exceptionnel de bioaccumulation de ces organismes constitue le principal avantage pour leur intégration au sein de programmes de suivi environnemental (Glime et Keen 1984). Par contre, les données résultant de leur

utilisation ne permettent pas d'évaluer précisément l'importance de la contamination de l'eau par la substance étudiée mais permet plutôt d'obtenir des valeurs indicatives sur ce même niveau de contamination (Mouvet 1987).

L'utilisation de mousses aquatiques pour les programmes de suivi au Québec se fait selon la méthode de transfert de mousses à partir d'un site de référence (Berryman 1990). L'utilisation de cette technique permet l'utilisation d'une seule espèce de mousses et d'éventuelles variations interspécifiques sont ainsi éliminées. L'espèce utilisée pour nos expériences, soit *Fontinalis dalecarlica*, a déjà démontré son grand potentiel de bioaccumulation (Gagnon 1996 et Samson 1995). Plusieurs facteurs sont reconnus comme étant des déterminants de l'accumulation des métaux par les mousses aquatiques. Par exemple, la vitesse de courant a été qualifiée de facteur important dans le processus d'accumulation des métaux (Mouvet 1987). Le phénomène qui expliquerait cet effet n'est pas clairement établi et les données recueillies jusqu'à ce jour ne nous permettent pas de l'expliquer complètement. Les observations faites par Mouvet (1987) et Claveri (1995) suggèrent une influence marquée du régime d'écoulement des eaux mais leur approche n'était pas purement quantitative. La description d'un tel effet sans sa modélisation ne contribue pas à l'aspect prédictif des dosages des métaux dans les mousses. La modélisation de cette variable pourrait permettre, par exemple, de compléter les modèles existants décrivant les échanges eau-bryophytes. La nature de ces échanges étant mieux connue, l'interprétation des données issues des programmes de suivi avec les mousses aquatiques n'en serait que facilitée.

Le premier objectif du présent projet était de caractériser les cinétiques d'accumulation et

de relargage du cadmium par la mousses aquatique *Fontinalis dalecarlica* en laboratoire sous des condition d'expositions stables.

Le deuxième objectif était d'évaluer l'effet de la vitesse de courant sur l'accumulation du cadmium chez la même espèce de bryophytes et advenant le cas où le courant influence l'accumulation, une modélisation du phénomène devait être proposée.

## RÉTROSPECTIVE DE LA LITTÉRATURE

### L'origine et la dispersion des métaux dans la biosphère

#### *Sources de métaux*

Les métaux sont présents à l'état naturel dans tous les compartiments de la biosphère soit: l'air, le sol et l'eau. L'érosion des roches et des sols et les émissions volcaniques comptent parmi les sources naturelles de métaux dans l'environnement mais à cela il a fallu ajouter l'extraction minière, l'utilisation de combustibles fossiles et l'emploi industriel de métaux (Claveri 1995). Les activités anthropiques peuvent modifier de façon très importante la distribution des métaux et augmenter de façon drastique leur concentration dans les écosystèmes jusque là adaptés à de faibles concentrations. Contrairement à plusieurs composés organiques, les métaux ne sont pas dégradés naturellement au sein des écosystèmes mais sont plutôt accumulés, passant vers des formes plus stables en étant stockés au sein des organismes vivants ou encore en passant vers une forme chimique plus stable (Förstner et Wittmann 1983). L'utilisation de métaux par l'humain dans plusieurs domaines (Goyer 1980) est sans nul doute le principal facteur à la source des fortes

concentrations en milieu naturel.

### *Métaux essentiels et non-essentiels*

Certains métaux sont nécessaires à diverses fonctions métaboliques spécifiques alors que d'autres n'y sont absolument pas requis. On parle alors respectivement de métaux essentiels et non-essentiels. Le premier groupe comprend des métaux tels le cuivre (Cu) le zinc (Zn), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), etc.. Les métaux non-essentiels occasionnent souvent des désordres métaboliques de par leur grande affinité pour des sites de fixation qui sont habituellement réservés à des métaux essentiels. C'est le cas, par exemple, du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd). Dans le cas des métaux non-essentiels, il ne peut y avoir de carence. La concentration dans un organisme vivant passe rapidement d'un niveau tolérable à toxique lorsqu'on l'augmente (Förstner et Wittmann 1983).

### *Cadmium*

Ce métal a un fort pouvoir complexant avec les groupements -SH au niveau des protéines. La stabilité du complexe formé est fonction du métal en présence, généralement, la stabilité suit l'ordre suivant Zn<Cd<Hg (Förstner et Wittmann 1983). Le Cd déplace le Zn au niveau des métalloenzymes, modifiant du même coup leur structure, donc leur fonction. L'effet du Cd peut être lent chez l'humain. En effet, on peut observer une insuffisance rénale ou un cancer associé à l'exposition Cd, même lorsque celle-ci est survenue il y a 20 ans (Förstner et Wittmann 1983). En milieu aquatique, il a la propriété de s'accumuler tout au long de la chaîne alimentaire (CCMRE 1992). Chez les animaux aquatiques, il peut causer des effets similaires à ceux observés chez l'homme, soit des dommages au système cardio-vasculaire, aux reins et aux organes de reproduction. Chez les plantes, le cadmium

inhibe le transport d'électrons dans le processus photosynthétique entraînant une diminution de la synthèse de NADPH (Salisbury et Ross 1991). La sorption sur différentes surfaces constitue probablement le plus important des processus d'élimination du cadmium de l'eau (CCMRE 1992).

### **Utilisation des indicateurs biologiques d'accumulation et concept de monitoring environnemental**

Le monitoring des polluants dans l'environnement fait largement appel à l'utilisation d'espèces bioaccumulatrices comme indicateur biologique de contamination. De telles espèces, dont les caractéristiques bioindicatrices sont plus ou moins sélectives selon le cas, ont été identifiées et parfois utilisées à vaste échelle aussi bien dans les écosystèmes terrestres que limniques ou marins (Ramade 1992). Même si le concept de monitoring biologique est bien répandu, certains auteurs ne s'entendent pas sur les délimitations du terme. Le monitoring de substances chimiques au sein d'organismes vivants peut être associé à une démarche de monitoring chimique (Claveri 1995) ou encore englobé dans la définition plus large de monitoring biologique (Agneta et Burton 1990). Tout au cours de ce travail, le suivi de substances toxiques par le dosage dans les organismes sera associé au monitoring chimique et à l'utilisation de biomoniteurs.

L'utilisation de biomoniteurs permet de représenter la fraction biodisponible du toxique étudié et ce, en intégrant les variations de concentrations dans le milieu pour une période donnée. Les biomoniteurs trouvent leur place dans les programmes de monitoring environnemental. Au sein de ces programmes de suivi, les dosages de substances toxiques

dans les biomonitoring peuvent donner une indication de la qualité de l'écosystème étudié, ou encore une indication du degré de contamination de ce dernier. Les organismes utilisés comme biomonitoring doivent correspondre à certains critères (Ramade 1992) :

- on doit observer une corrélation simple entre la concentration en polluant de l'organisme et celle du milieu;
- l'espèce devrait être capable d'accumuler le polluant sans être tuée;
- l'espèce devrait être sédentaire afin d'être sûr que les concentrations trouvées soient bien en rapport avec la localisation géographique considérée;
- l'espèce devrait être abondante dans l'ensemble de l'aire étudiée;
- les espèces à forte longévité sont préférables parce qu'elles permettent un échantillonnage sur plusieurs classes d'âge;
- l'espèce devrait être de taille suffisante pour fournir des tissus en quantité importante pour l'analyse;
- l'espèce devrait être facile à échantillonner.

### **Utilisation des mousses aquatiques comme biomonitoring**

L'utilisation des mousses aquatiques pour le suivi de divers toxiques dans l'eau se justifie par la très faible concentration de ces derniers au sein des écosystèmes aquatiques. En effet, la concentration de plusieurs métaux et composés est tellement faible dans l'eau que leur présence peut difficilement être détectée par les techniques usuelles d'analyse. L'utilisation des mousses aquatiques pour le suivi de ces substances permet d'une part, leur détection, et d'autre part, leur suivi sur une période donnée (Mouvet *et al.* 1986, Carter et

Porter 1997).

La gamme des micropolluants détectables par les bryophytes est très large. La majorité des travaux ont porté sur la détection des métaux lourds. Des études utilisant diverses espèces de mousses et différents métaux ont permis de démontrer le potentiel des mousses aquatiques pour l'accumulation de Cu, Zn, Cd, Cr, Ni, Fe, Pb et Hg (Berryman et Nadeau 1999, Claveri 1991, Gagnon 1996, Kelly et Whitton 1989, Lopez et Carballeira 1993, Mouvet 1980, Mouvet 1987, Mouvet 1985, Mouvet 1986, Samson 1995, Say *et al.* 1981, Swedish Environmental Agency 1991) Elles ont aussi été étudiées pour le suivi de rejets radioactifs. Leur efficacité dans suivi de plusieurs radioisotopes tels  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{106}\text{Ru}$ ,  $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{134}\text{Cs}$  a été démontrée (Baudin *et al.* 1991, Baudin *et al.* 1991b, Foulquier *et al.* 1991, Vray *et al.* 1992). Certains travaux portent même sur l'utilisation des bryophytes pour le suivi de micropolluants organiques. Des études portant sur la détection de lindane, PCP et HCH ont démontré la viabilité de la technique pour le suivi de tels toxiques (Mouvet 1985 et Mouvet *et al.* 1993)

L'utilisation des mousses aquatiques pour le suivi de la micropollution métallique existe depuis plusieurs années. Les premières utilisations étaient surtout basées sur le dosage de métaux à partir des mousses autochtones prélevées à divers endroits (Mouvet *et al.* 1996). Mais, dès 1976, Benson et Williams ont procédé à des transplantations de bryophytes à partir d'un site de référence. La transplantation de bryophytes à partir de sites de référence a depuis été utilisée par plusieurs auteurs (Berryman et Nadeau 1999, Claveri *et al.* 1993, Claveri 1995, Claveri *et al.* 1995, Merch *et al.* 1993). Cette méthode, tout comme celle qui préconise l'usage des mousses autochtones, permet de donner des valeurs indicatrices de

l'ampleur de la contamination, tout en s'assurant de l'uniformité du matériel biologique au début de la période d'exposition. L'utilisation des mousses aquatiques en routine existe en France depuis le début des années '80, les informations recueillies permettent la caractérisation de la micropollution multiforme (Mouvet *et al.* 1986). Elles ont été utilisées par plusieurs auteurs dans diverses études portant sur le suivi de la contamination du milieu aquatique (Arts 1990, Burton et Peterson 1979, Carter et Porter 1997, Empain 1976, Jones 1985, Jones et Peterson 1985, Merch et Johansson 1993, Merch et Pihan 1993, Mouvet 1980, Mouvet *et al.* 1993, Sanchez *et al.* 1994, Satake et Nishikawa 1990, Say et Whitton 1983, Siebert *et al.* 1996, Say *et al.* 1981, Wehr et Whitton 1983).

L'utilisation des mousses aquatiques pour ce type de suivi comporte plusieurs avantages (Mouvet *et al.* 1986) :

- leur pouvoir d'accumulation est parmi les plus élevés de tous les compartiments de l'écosystème aquatique (Wehr et Whitton 1983);
- elles se développent toute l'année et leurs peuplements sont stables dans le temps et l'espace;
- elles accumulent en quelques heures ou quelques jours un grand nombre de micropolluants et se décontaminent en quelques jours ou quelques semaines, ce qui permet la détection de pollutions accidentelles (Mouvet 1987, Claveri 1995, Merch 1993);
- elles n'ont ni racines, ni système vasculaire développé ce qui évite les transferts internes et leur permet de refléter la qualité de l'eau et non celle du substrat (Glime et Keen 1984);

- le coefficient de variation de dosages multiples effectués au sein d'une même population dépasse rarement 20% (Wehr *et al.* 1983);
- elles tolèrent des degrés élevés de divers types de pollution minérale et organique (Mouvet 1985);
- leur prélèvement est facile, rapide et ne nécessite qu'un équipement très léger (Wehr *et al.* 1983);
- leur conservation est aisée et ne produit pas d'interférences, ce qui permet le stockage et les échanges entre laboratoires (Wehr *et al.* 1983);
- la facilité de leur transfert d'un site à l'autre permet l'étude de cours d'eau aux caractéristiques très diversifiées (Claveri *et al.* 1993, Claveri *et al.* 1995, Merch *et al.* 1993).

L'utilisation des bryophytes autochtones a donné lieu à la mise au point d'une grille de qualité associée aux concentrations *in vivo*. Cette grille, proposée par Mouvet (1986), permet de qualifier la qualité globale du cours d'eau pour le toxique étudié. La situation de contamination du cours d'eau, selon l'évaluation tirée de la grille, peut alors être qualifiée de normale, suspecte, pollution certaine, pollution importante ou pollution exceptionnelle. L'utilisation des mousses pour suivre l'évolution spatiale en milieu minier est assez répandue. Beaucoup d'études ont porté sur le potentiel des mousses aquatiques dans la détermination de zones plus contaminées ou dans la localisation de sources (Carter et Porter 1997, Sanchez *et al.* 1994). Ces comparaisons, bien qu'exécutées à partir de données numériques (concentrations) n'ont souvent mené qu'à des conclusions qualitatives ou semi-quantitatives (Ciffroy *et al.* 1995).

## Accumulation des métaux par les bryophytes

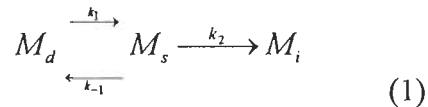
### *Concepts généraux*

La bioaccumulation correspond en général à une rétention nette d'un contaminant par un organisme avec le temps, c'est-à-dire que l'entrée du contaminant dépasse son élimination (Hare 1992). L'accumulation des métaux par les bryophytes comprend deux étapes majeures, soit l'adsorption et l'absorption (Brown et Brumelis 1996, Claveri 1995, Glime et Keen 1984, Merch 1993). Le processus d'accumulation des métaux chez les bryophytes a surtout été étudié dans un contexte où ces plantes étaient utilisées comme biomonitor. La capacité d'échange de la paroi cellulaire des bryophytes a maintes fois été qualifiée d'exceptionnelle (Anonyme 1979, Claveri 1995, Glime et Keen 1984, Merch 1993) et serait à la source de leur grand pouvoir de bioaccumulation. Cette capacité d'échange a été associée à la présence de groupements carboxyles, phénols, peptidiques qui constituerait de nombreux sites potentiels d'échange (Claveri 1995, Crist *et al.* 1996, Hao *et al.* 1993).

Les membranes ou capsules externes des cellules des bryophytes sont constituées en grande partie d'exopolymères, de nature essentiellement polysaccharadique (comme les acides uroniques), dont les groupes fonctionnels anioniques peuvent interagir avec les contaminants présents dans l'eau, principalement s'ils sont cationiques (Anonyme 1979, Ciffroy *et al.* 1995, Glime et Keen 1984, Mouvet *et al.* 1993). Une concentration plus élevée en acides uroniques dans les plantes a été associée à une plus grande capacité d'échange des cations (Knight *et al.* 1961). Les cations divalents se lient à la paroi plus fortement que les cations monovalents donc ils tendent à les remplacer. Parce que le cation se lie à la paroi, il n'entraînerait pas d'effet toxique (Glime et Keen 1984). L'étape suivante

de l'accumulation, soit le passage vers l'intérieur de la cellule, entraînera toutefois une réponse de la part des bryophytes (Bruns *et al.* 1997).

Ce passage des métaux vers l'intérieur serait fonction de la concentration qui se retrouve dans la paroi elle-même. Claveri (1995) a décrit les échanges entre la paroi et l'espace intracellulaire (équation 1) comme une accumulation en deux phases: l'adsorption et l'absorption. L'absorption intracellulaire des métaux par les mousses aquatiques a été mise en évidence par des réponses d'inhibition de fonctions vitales (Claveri 1995).



où  $M_d$  représente la concentration dissoute du métal,  $M_s$  le métal adsorbé à la surface et  $M_i$  le métal intracellulaire.

La résultante de l'adsorption et l'absorption de façon successive est l'accumulation totale par les mousses elles-mêmes. La vitesse et l'ampleur de ces deux phénomènes combinés peuvent être décrites par une cinétique d'accumulation. Dans le cas où des mousses préalablement contaminées seraient placées en conditions non-contaminées, il y aurait inversion du phénomène et on pourrait alors tracer une cinétique d'élimination. Lors de l'accumulation, un état stationnaire, dont l'atteinte peut prendre quelques heures (Brown et Becket 1985) à quelques jours (Claveri *et al.* 1994, Claveri 1995, Merch 1993) est précédé d'une accumulation rapide et importante. Dans le cas du relargage, le même phénomène est observé, mais de façon inverse. À une élimination rapide de la fraction adsorbée succède une élimination lente atteignant un état de pseudo-équilibre.

## Facteurs physiques et physico-chimiques pouvant influencer l'accumulation des métaux par les bryophytes

Plusieurs facteurs peuvent influencer les échanges eau-bryophytes. Cette section fera mention des facteurs dont l'influence sur l'accumulation des métaux a été démontrée, de ceux ayant potentiellement une influence et finalement de ceux dont l'absence d'influence a été démontrée.

### *La température*

La seule expérience documentée portant spécifiquement sur la température a été menée par Claveri (1995). Les résultats n'indiquent pas une différence significative entre trois températures d'expositions, soit 7, 17 et 29°C sur l'accumulation du cuivre. De plus, Wehr et Whitton (1983) qui ont étudié les variations saisonnières des métaux dans les mousses, n'ont pas attribué les variations de métaux dans les mousses à la saison ou à la température, mais à un ensemble d'autres facteurs.

### *Le pH*

Le pH, d'une part, est reconnu comme ayant une grande influence sur la spéciation chimique des métaux (Tessier *et al.* 1979), cet aspect sera traité ultérieurement. En effet, une baisse de pH entraînerait un plus grand relargage de métaux sous forme libre dans l'environnement. Par contre, les protons H<sup>+</sup> associés au pH seraient compétiteurs des métaux pour les sites de fixation à la surface des bryophytes, cette section sera limitée à cet aspect. Merch *et al.* (1993) ont obtenu une corrélation entre la désorption des métaux et la baisse du pH dans l'eau. Les auteurs expliquent ce phénomène par la compétition entre les

ions H<sup>+</sup> et les métaux fixés sur les parois cellulaires des bryophytes, soit Zn et Cu. Claveri *et al.* (1995) font le même constat: la compétition par les ions H<sup>+</sup> mène à une sous-estimation des concentrations de métaux dans l'eau. Ces auteurs incitent à la prudence lors de l'interprétation des concentrations mesurées dans les mousses lorsqu'elles ont été placées dans un cours d'eau acide, ils considèrent aussi le pH comme étant un déterminant de la spéciation chimique des métaux.

### *La spéciation chimique*

La spéciation chimique correspond à la distribution des formes ou "espèces" sous lesquelles un métal peut se retrouver. Par exemple le Cd peut se retrouver sous forme de Cd<sup>2+</sup> (ion libre), CdCl<sup>+</sup>, CdCl<sub>2</sub><sup>0</sup> (aq), CdOH<sup>+</sup>, etc. (Hare 1992). La spéciation dépendra du pH (Campbell et Stokes 1985, Tessier *et al.* 1979), des ions majeurs en présence (Claveri 1995, Merch 1993, Tipping 1994), de la matière organique dissoute (Claveri 1995, Kerndorff et Schnitzer 1980, Tipping 1994) et de la teneur en matière en suspension (MES). La forme libre du métal (l'ion libre) représente pour beaucoup (Hare 1992, Hare et Tessier 1996, Holwerda *et al.* 1988, Pommery *et al.* 1985) la forme qui permet la meilleure prédition de la toxicité ou de l'accumulation. Les modèles représentant les échanges de métaux eau-bryophytes font mention de l'ion libre comme étant la forme se liant à la paroi (Ciffroy *et al.* 1995, Claveri 1995), mais les travaux entourant ces modèles ne considèrent que la fraction dissoute du métal, et non sa forme libre. Ces mêmes auteurs parlent de la spéciation chimique comme d'un déterminant de l'accumulation mais ils n'évaluent pas la spéciation chimique des milieux d'exposition pour la mettre en relation avec l'accumulation proprement dite. Dans ces modèles, la forme métallique se liant au site de fixation serait en

fait l'ion libre, dont la concentration réelle n'a pas été mesurée. La mesure directe de l'ion libre ( $M^{z+}$ ) en milieu aqueux ne peut se faire qu'à de fortes concentrations (Gardiner 1974). Dans les eaux de surface naturelles, la concentration d'ions libres de métaux traces ne peut être mesurée directement, on procède alors à sa détermination par calcul (Hare et Tessier 1996, Tipping 1994) à partir des constantes thermodynamiques associées à la formation des diverses "espèces" de métaux. À l'aide de ces modèles de spéciation chimique, il est possible d'estimer la concentration réelle de chaque forme sous laquelle se retrouve le métal dans l'eau, incluant celle de l'ion libre. Les variables introduites dans le modèle sont la concentration totale du métal en question, le pH, ainsi que les principaux anions avec lesquels il forme des composés dans les eaux naturelles. En eau douce, le cadmium se retrouve principalement sous forme d'ion libre ( $Cd^{++}$ ), mais on le retrouve aussi sous forme de carbonate ou de chlorure (CCMRE 1992). Par ailleurs, l'adsorption du Cd sur des substances humiques et sur d'autres agents organiques complexants peut être un facteur important dans les eaux à forte teneur en matières organiques (Hare et Tessier 1996). La concentration en matière organique est reconnue comme ayant un effet sur l'accumulation des métaux par les bryophytes (Claveri 1995, Mouvet 1987, Wehr et Whitton 1983).

### *Les cations majeurs*

Les cations majeurs, principalement associés à la dureté de l'eau, sont depuis longtemps considérés comme étant des facteurs importants dans l'accumulation des métaux, que ce soit chez les animaux (CCMRE 1992) ou chez les bryophytes (Brown et Becket 1985, Gagnon 1996, Mouvet 1979, Say et Whitton 1983). Il apparaît que les cations compétiteurs soient principalement par les formes ioniques du Ca, et à un degré moindre du Mg et du Fe.

Dès 1979, Mouvet a observé une diminution de l'accumulation du Cr<sup>3+</sup> et une accélération du relargage par les bryophytes lorsque la concentration de Ca<sup>++</sup> était accrue. D'autres auteurs ont observé une telle inhibition pour le Cd et le Zn (Brown et Beckett 1985, Kelly et Whitton 1989). Selon Mouvet (1979), le Fe serait lui aussi un facteur à considérer en tant que compétiteur potentiel. Par contre, les compétitions inter-métaux traces seraient beaucoup moins importantes qu'entre ces derniers et les cations majeurs du milieu (Mouvet 1979, Gstoettner et Fisher 1997).

#### *L'espèce de mousses*

Il existe des variations inter-spécifiques du potentiel d'accumulation des métaux par les mousses. Par exemple, Samson (1995) et Gagnon (1996) ont comparé le potentiel de bioaccumulation de deux espèces de mousses aquatiques, établissant des différences entre les espèces *Platyhypnidium ripariooides* et *Fontinalis dalecarlica*. Ces résultats vont dans le même sens que toute la littérature faisant la comparaison entre les espèces (Kelly et Whitton 1989, Lopez et Caballeira 1993). L'importance de ces variations est parfois assez faible, soit d'environ 20% (Lopez et Caballeira 1993). Toutefois, dans le cas du Québec où une même espèce de mousses est transplantée vers tous les sites d'étude, ce facteur devient alors beaucoup moins important.

#### *La lumière*

Ce facteur, bien qu'ayant été peu étudié, ne semble pas avoir d'effet sur l'accumulation des métaux (Brown et Beckett 1985). Mouvet (1979) parle au plus d'une influence limitée sur l'accumulation. Beaucoup d'auteurs (Claveri 1995, Gagnon 1996, Merch 1993) accordent toutefois une importance à ce paramètre lors d'études en laboratoire pour la préservation

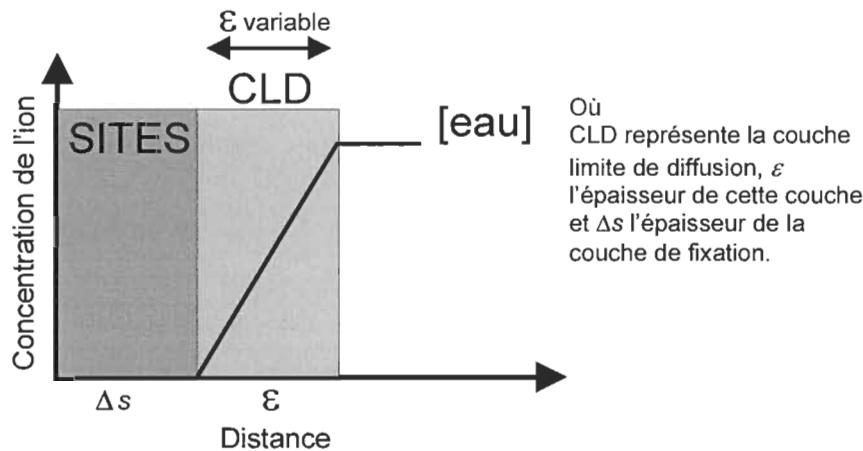
des bryophytes dans un bon état physiologique.

#### *Le régime d'écoulement des eaux*

Ce facteur est considéré comme très important par André et Lascombe (1987) pour les métaux en général, par Gonçalves (1992) pour le Cd, Cr, Cu, Pb et Zn, par Mouvet (1987) pour le Cd, Cr, Cu, Pb, et Zn et Say et Whitton (1983) recommandent de prélever dans des zones de courant rapide. De plus, Claveri (1995) a observé une plus grande accumulation du Cu, Cr et Zn en conditions de courant plus rapide. Ce facteur a été jugé comme tellement important que l'agence Électricité de France (EDF) a mis au point un module servant à faire la régulation de ce paramètre lors de l'exposition des mousses (Claveri 1995). Le but du module était d'homogénéiser le flux de contaminants autour des mousses pour pouvoir comparer des points ayant des régimes d'écoulement différents. L'implantation d'un tel module requiert toutefois une logistique beaucoup plus lourde qu'un simple *moss-bag* (Kelly *et al.* 1987, Mouvet 1986) et de plus, son utilisation est limitée par un brevet (Ciffroy *et al.* 1995). Le phénomène entourant l'effet qu'a la vitesse de courant sur l'accumulation n'a pas été décrit par de nombreux auteurs, le seul s'étant attardé à ce facteur isolément et pour l'accumulation des métaux par les bryophytes est Claveri (1995). Les résultats issus de ces recherches ne permettent toutefois pas de quantifier l'effet du courant ou encore de le modéliser.

Les hypothèses émises pour expliquer l'effet de la vitesse de courant sur l'accumulation s'appuie en partie sur la loi de Fick. Si l'on considère la fixation des métaux à la surface des bryophytes comme étant limitante dans le processus d'accumulation, la diffusion des métaux vers les sites de fixation externes deviendrait alors d'une grande importance. Les

sites de fixation extracellulaires des bryophytes seraient "protégés" du milieu extérieur par une couche limite de diffusion (CLD) dont l'épaisseur serait fonction de la vitesse du courant (Fig. 1). C'est dans l'explication de la diffusion au sein de cette même couche qu'intervient la loi de Fick.



**Figure 1. Représentation de la couche limite de diffusion et du gradient de concentration vers les sites de fixation.**

Dans cette zone d'épaisseur variable se formerait un fort gradient de diffusion tout comme celui décrit par Davison et Zhang (1994) pour une application différente mais représentant de fortes analogies. À partir de cette loi, il est possible de calculer le flux dans une couche de diffusion donnée. Dans notre cas, le flux influencerait directement l'augmentation de métaux au niveau des sites de fixation extracellulaires. Pour les bryophytes, le flux serait fonction de la concentration dans l'eau et de l'épaisseur de la couche de diffusion qui serait elle-même tributaire de la vitesse de courant. En adaptant l'équation proposée par Davison et Zhang (1994), on obtiendrait une relation tenant compte de l'épaisseur de la couche limite de diffusion (équation 2).

$$\text{flux} = \frac{D[\text{ion}]_{\text{eau}}}{\varepsilon} \quad (2)$$

où  $D$  représente le coefficient de diffusion et  $\varepsilon$  l'épaisseur de la couche limite de diffusion

L'étude de ce paramètre se justifie alors pleinement, considérant que la concentration de métaux dans les mousses peut être fonction de l'épaisseur de la couche superficielle d'échange. Ces mêmes concentrations de métaux sont à la base des conclusions qui seront tirées suite à l'utilisation des mousses aquatiques comme biomonitor.

## CHAPITRE 1

**Uptake and loss of cadmium by the  
aquatic moss *Fontinalis dalecarlica*.**

*Louis Croisetière<sup>1</sup>, Landis Hare<sup>2</sup> and Guy Vaillancourt<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Département de Chimie-Biologie*

*Université du Québec à Trois-Rivières*

*C.P. 500, Trois-Rivières (Québec)*

*G9A 5H7, Canada*

<sup>2</sup> *Institut National de la recherche Scientifique – Eau (INRS-Eau),*

*Université du Québec*

*C.P. 7500, Sainte-Foy (Québec)*

*G1V 4C7, Canada*

**ABSTRACT**

We measured cadmium uptake and loss by the aquatic moss *Fontinalis dalecarlica*. Mosses were exposed for 28 d to 3 duplicated nominal Cd concentrations of 0.5, 1.0, and 5.0  $\mu\text{g l}^{-1}$  in a flow-through laboratory system. Cadmium accumulation by mosses was rapid, reaching a near steady state after about 14 d and maximum concentrations up to 500  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Our results suggest that a 14-d exposure of transplanted mosses would be adequate for biomonitoring purposes. During a subsequent 22-d elimination phase, mosses lost a mean of 42% of their previously accumulated Cd. We applied a first-order one-compartment model to estimate several parameters including: Cd influx and efflux rate constants; steady-state Cd concentrations; and Cd bioconcentration factors.

## INTRODUCTION

Mosses have been widely used as biological monitors to estimate the degree to which aquatic systems are contaminated with trace metals (Mouvet 1985, Mouvet *et al.* 1993, Say *et al.* 1981, Siebert *et al.* 1996). Mosses are good biomonitor because they can accumulate metals to high concentrations, thereby facilitating the measurement of these contaminants (Carter and Porter 1997, Mouvet *et al.* 1986). Furthermore, mosses are tolerant of the metals that they accumulate and thus can survive at even highly contaminated sites (Siebert *et al.* 1996).

In Europe, where mosses are abundant and widespread in running waters, plants are often collected *in situ* for metal analysis (Merch and Pihan 1993). In contrast, the relative scarcity of mosses in eastern North America has meant that these plants are more frequently transplanted from sites of abundance to sites at which metal measurements are required. The moss *Fontinalis dalecarlica* has been used in this way in eastern Canadian rivers and streams (Berryman 1990). To be effective as biomonitor, environmental agencies need to know the length of time that transplanted mosses should be left in contaminated environments to attain a steady state with respect to ambient metal concentrations.

In previous laboratory studies with *F. dalecarlica*, exposure to metals has been in semi-static conditions under which metal concentrations in water tend to fluctuate widely (Gagnon 1996, Samson 1995). First-order kinetic models, which are valuable tools for characterizing biomonitor responses, cannot be applied to systems in which metal concentrations are unstable. Under unstable conditions, Cd concentrations in *F. dalecarlica*

were reported to increase linearly and did not reach a steady-state even after 4 weeks of Cd exposure (Gagnon 1996). These results contrast with studies on other moss species and metals, which suggest that under stable metal exposure concentrations mosses should reach a steady-state in their metal concentrations after one or two weeks (Claveri 1995, Merch 1993, Mouvet 1987).

Organisms are likely to be more effective biomonitorors if their use is based on knowledge of how and at what rate they take up and lose metal to their surroundings (Munger and Hare 1999). We used a first order kinetic model to estimate Cd accumulation ( $k_1$ ) and elimination ( $k_2$ ) rate constants for the aquatic moss *F. dalecarlica* under stable exposure conditions. These constants were then used to calculate other useful parameters such as the steady-state Cd concentration and the length of time required to reach this concentration, as well as the proportion of the accumulated Cd that remains after a period of depuration.

## METHODS

### *Collection and maintenance of mosses*

*Fontinalis dalecarlica* was collected in a small river located in the Mastigouche Reserve (46°50'41"N, 73°19'52"W) in the province of Québec, Canada. This moss species lives totally submerged and fixed to the riverbed by rhizoids. We collected only the distal two thirds of plants to ensure their continued survival in the river. Mosses were rinsed in river water, then transported to the laboratory in plastic bags filled with river water in coolers. In the laboratory, mosses were cleaned under pressure with deionised water, then leafy stems were isolated and placed in dechlorinated tap water for two weeks prior to our experiment

at conditions resembling those in the river, that is, at 14°C, under an illumination of  $\approx$ 35 W m $^{-2}$ , and a current speed  $\approx$ 0.2 m s $^{-1}$ .

#### *Experimental design*

We exposed mosses to Cd for 28 d at one of 3 nominal concentrations, that is, 0.5, 1.0 and 5.0  $\mu\text{g Cd l}^{-1}$ , representing contaminated conditions in nature (Croteau *et al.* 1998). After this exposure period, remaining mosses were placed in uncontaminated water for a further 22 days. Water for our experiment was tap water that had been dechlorinated by an activated charcoal system. Prior to the introduction of mosses, we flushed the experimental system (35 L glass aquariums) for 2 d with CdCl<sub>2</sub> solutions at the 3 nominal Cd concentrations to ensure that surface sites would be saturated with the metal. We used a 16 : 8 light : dark photoperiod for our experiment, and mosses were exposed to a flow rate of 0.6 l min $^{-1}$  that corresponds to a 35 min water-renewal time. Water temperature was maintained at 14°C. We placed  $\approx$ 125 g of moss in each aquarium at time 0 of the Cd-exposure portion of our experiment; duplicate aquariums were used for each of the 3 nominal Cd concentrations and one aquarium was used as a control.

#### *Sampling and analysis*

For the Cd-exposure portion of the experiment, we collected 3 moss samples (each  $\approx$ 2 g fresh weight) from each tank at time 0 and at frequent intervals up to 28 d. We then transferred the remaining plants to Cd-free aquariums and continued sampling for a further 22 d to measure Cd efflux. We sampled more frequently at the beginning of both the exposure and loss portions of the experiment to provide detailed information on the rapid

changes likely to occur subsequent to a change in ambient Cd concentrations. Moss samples were stored in paper bags.

We dried moss samples at 65°C, then weighed the samples and digested them for 16 h at 65°C in closed high-density polyethylene test tubes containing 17% ACS-grade HNO<sub>3</sub> (Mouvet 1986). Cadmium concentrations in mosses and Ca and Mg concentrations in water were determined by flame atomic-absorption spectrophotometry (AAS) on a Perkin-Elmer (model 5000) spectrophotometer fitted with a deuterium background corrector. For lower Cd concentration determinations in mosses, flameless AAS was used. Measurements of Cd by the two instruments on the same moss sample differed by <5%. To ensure the efficiency of the moss digestion procedure, we also digested similar-sized samples of a certified aquatic moss standard (BCR 61). Cadmium concentrations measured in the moss standard fell within the allowable 10% deviation from the certified value. To further ensure the accuracy of our analytical techniques, 10% of samples analyzed were replicates, 10% were calibration checks, and 5% were blanks. Our detection limit for Cd in mosses was 0.5 µg g<sup>-1</sup> with flame AAS and 0.2 ng g<sup>-1</sup> with flameless AAS.

We collected water samples in high-density polyethylene containers and acid-soaked glass containers from the experimental system at least once a day during the Cd-contamination stage, and at least once every two days during the decontamination stage. Water samples were acidified with ACS-grade HNO<sub>3</sub> to a pH < 2 prior to storage. Cadmium concentrations in water were determined by flameless AAS on a Perkin-Elmer (model 5000) spectrophotometer fitted with a Zeeman background corrector. Ammonium

phosphate was used as a matrix modifier. To ensure the accuracy of Cd determinations in water, we used a certified water standard (NIST 1643c); mean Cd concentrations measured in the NIST standard were within the certified range. We measured the temperature, conductivity, and pH of water in the experimental system on a regular basis.

### *Cd exchange model*

Metal accumulation by moss is thought to be a 2-stage process in which adsorption to surface transport sites is followed by metal transport into cells (Claveri 1995). To simplify the modeling of our experimental Cd uptake data, we considered Cd uptake as a single process for which we can estimate a Cd influx rate constant  $k_1$ . In addition, we can estimate a Cd-efflux rate constant,  $k_2$ , from our data on Cd loss from moss. We estimated values for these parameters by least-squares optimization using the 1-compartment model shown in Eq. 1 (Gonçalves and Boaventura 1998, van Hattum *et al.* 1989).

$$C_m = \frac{C_w k_1}{k_2} [1 - e^{-k_2 t}] \quad (1)$$

In this model, the Cd concentration in moss,  $C_m$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), is given as a function of that in water,  $C_w$  ( $\text{mg l}^{-1}$ ; assumed to be constant), the influx and efflux rate constants  $k_1$  and  $k_2$  ( $\text{h}^{-1}$ ), respectively, and time,  $t$  (h). At the end of the accumulation phase of our experiment, that is, at time  $t_{ea}$  (28 d), Eq. 1 can be rewritten as follows where the Cd concentration in moss at the end of the accumulation phase,  $C_{ea}$ , is given as

$$C_{ea} = \frac{C_w k_1}{k_2} [1 - e^{-k_2 t_{ea}}] \quad (2)$$

As  $t$  tends toward infinity, the Cd concentration in moss will tend towards a steady state,  $C_{ss}$ , which can be estimated as

$$C_{ss} = \frac{k_1 C_w}{k_2} \quad (3)$$

Eqs. 1 and 3 can be combined to give

$$C_m = C_{ss} [1 - e^{-k_2 t}] \quad (4)$$

Assuming a negligible Cd background concentration in moss, the ratio of the uptake and efflux rates constants gives the bioconcentration factor (BCF).

$$BCF = \frac{k_1}{k_2} \quad (5)$$

For the efflux portion of our experiment, we can express the Cd concentration in moss as:

$$C_m = C_{rm} + (C_{ea} - C_{rm}) e^{-k_2 t} \quad (6)$$

in which the residual metal concentration after elimination,  $C_{rm}$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), tends towards  $C_m$  as  $t$  tends towards infinity. At infinity, a biological elimination factor (BEF) can be estimated for Cd efflux as follows:

$$\text{BEF} = 1 - \frac{C_{rm}}{C_{ss}}$$

(7)

where a BEF of 0 indicates that no Cd elimination has occurred and a BEF of 1 indicates complete Cd elimination.

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Water chemistry*

Cadmium concentrations in water remained stable during our experiment. Measured Cd concentrations were slightly higher than nominal values during the Cd-exposure phase (Table 1). During the Cd-elimination phase of our experiment, Cd concentrations in water remained very low. After 24 h the Cd concentration in water dropped by about 90% and by 95% after 72 h of elimination. Temperature, conductivity and pH were also near constant throughout the experiment (Table 1), and there were no significant differences in these variables among treatment levels ( $p > 0.05$ , Kruskal-Wallis).

### *Cd uptake and loss by moss*

Our experimental results were very similar between replicates and there was little variability among samples for a given sampling time and treatment level (Figs. 1 and 2), which attests to the constancy and precision of our experimental data. For each aqueous Cd concentration, increases in Cd concentrations in moss followed a non-linear pattern of being rapid during the first few days and then slowing to reach a plateau at about 14 d (Fig. 1). A similar form of uptake curve has been reported for Cd and other metals in other moss

species by several researchers (Claveri 1995, Gonçalves and Boaventura 1998, Merch 1993, Mouvet 1987). In contrast, a linear uptake of Cd by *F. dalecarlica* over 28 d was reported by Gagnon (1996) and is likely explained by the strong fluctuations in aqueous Cd concentrations in the experimental system used by this researcher.

Visual examination of Figure 1 suggests that Cd concentrations in mosses reached a plateau after  $\approx$ 14 d of Cd exposure. Using Eq. 1, we estimate that Cd concentrations in mosses for all treatment levels reached an average of 94% of those at steady state at day 14 and 99% of those at steady state at day 28 of our Cd-contamination experiment (Table 3). Thus a doubling of exposure time from 14-28 d resulted in only a 5% increase in moss Cd concentrations. Our results suggest that in nature transplanted *F. dalecarlica* would likely attain concentrations close to those expected at steady-state after 2 weeks, and thus that mosses should be exposed for this length of time in biomonitoring studies. The rapidity with which mosses attain near steady-state metal concentrations would be advantageous in a biomonitoring study.

Our estimated average BCF value is high at  $\approx$ 91,000 (Table 3), indicating the strong propensity for mosses to concentrate Cd with respect to its concentrations in water. Gonçalves and Boaventura (1998) also reported very high theoretical BCF values when studying Cu uptake by the congener *Fontinalis antipyretica*. High metal concentrations in a biomonitor simplify metal analyses.

Cadmium efflux was non-linear, that is, a rapid decrease in moss Cd concentrations after the initial transfer of moss to Cd-free water was followed by a slower rate of Cd loss as Cd

concentrations tended towards an asymptote (Fig. 2). At the end of the 22 d Cd-elimination period, Cd concentrations in mosses remained higher than those measured prior to their initial exposure to Cd, indicating that only a partial loss of the Cd taken up during our experiment had occurred. The average theoretical BEF was 0.42 (Table 4), indicating that 42% of the Cd accumulated by mosses had been released during the 22 d elimination period. Several authors have reported that a high proportion of a variety of metals are retained when mosses are transferred to metal-free water (Gonçalves and Boaventura 1998, Merch 1993, Mouvet 1987, Say *et al.* 1981). This retention of metal by moss has been referred to as a memory-effect (Beaudin *et al.* 1991). Retained metals are likely to be incorporated into moss cells in a strongly bound form, the turnover rate of which is too slow to be measured in the laboratory.

Model curves fitted both our Cd-uptake and -loss data well (Figs. 1 and 2), as reflected by the high  $r^2$  values between experimental and model values (Table 2). There was little difference among treatment levels in our estimates for a given model parameter, as indicated by the overlap in the standard errors of parameter values (Table 2). The overall lack of variability in our biological data augurs well for the use of mosses as metal biomonitor. Our results suggest that the theoretically-based model that we used could provide the underpinnings for using *F. dalecarlica* as a metal biomonitor in North America.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Fonds de Développement Académique du Réseau de l'Université du Québec (FODAR) and the Ministère de l'Environnement du Québec. We would also thank the Betz Dearborn Co. for their pumping devices, Fisheries and Oceans Canada for the atomic absorption spectrophotometer and Louis Tessier for his critical review of the manuscript.

## REFERENCES

- Baudin J.P., Lambrechts A. et Pally M. 1991. Utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs de contamination radioactive. *Hydroécol. Appl.* 2 : 209-240.
- Berryman, D. 1990. Sélection de nouveaux indicateurs de la qualité des cours d'eau du Québec. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, rapport no. QE-90-95, Envirodoq no.EN900140 QE/67/1, 77 p.
- Carter L.F. et Porter S.D. 1997. Trace-element accumulation by *Hygrohypnum ochraceum* in the upper Rio Grande Bassin, Colorado and New Mexico, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* (16) 12: 2521-2528.
- Claveri B. 1995. Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination métallique des eaux continentales. Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un Module d'Intégration de la Micropollution (M.I.M). Thesis, Université de Metz, France, 238 p.
- Croteau M.N., Hare L. and Tessier A. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1348-1353.
- Gagnon C. 1996. Influence de la dureté de l'eau sur l'accumulation et l'élimination de

- cadmium réalisées par deux mousses aquatiques, *Fontinalis dalecarlica* et *Platyhypnidium riparioides*, en conditions contrôlées. MA Thesis, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec, Canada, 92 p.
- Gonçalves E.P. and Boaventura R.A.R 1998. Uptake and release kinetics of copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Wat. Res.* (32) 4: 1305-1313.
- Merch J. 1993. Modalités d'utilisation de la moule Zébrée *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique de la contamination des écosystèmes d'eau douce par les métaux lourds. Comparaison avec un autre type d'organismes sentinelles, les mousses aquatiques. Thesis, Université de Metz, France, 231 p.
- Merch J. et Pihan J-C. 1993. Simultaneous assesment of environmental impact on condition and trace metal availability in Zebra Mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 353-364.
- Mouvet C. 1985. The use of aquatic bryophytes to monitor heavy metals pollution of freshwater as illustrated by case studies. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 22: 2420-2425
- Mouvet C. 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques. Synthèse méthodologique. Agence de l'Eau Rhin-Meuse. Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz. 110 p.
- Mouvet C., Pattée E. et Cordebar P. 1986. Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise des sources de pollution métallique multiforme. *Acta Oecol.* (7) 1: 77-91.
- Mouvet C. 1987. Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre

- par les mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Agence de Bassin Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz, France, 122p.
- Mouvet C., Morhain E., Sutter C. et Couturieux N. 1993. Aquatic mosses for the detection and follow-up of accidental discharges in surface waters. Water Air Soil Poll. 66: 333-348.
- Munger C. and Hare L. 1999. Influence of ingestion rate and food types on cadmium accumulation by the aquatic insect *Chaoborus*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 56: in press.
- Samson G. 1995. Performance des mousses aquatiques *Fontinalis dalecarlica* (Schimp) ex B.S.G. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix. à titre d'indicateur biologique de la pollution des eaux. MA Thesis, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec, Canada, 153 p.
- Say P.J., Harding J.P.C. et Whitton B.A. 1981. Aquatic mosses as monitors of heavy metal contamination in the River Etherow, Great Britain. Environ. Pollut. (Series B) 2: 295-307.
- Siebert A., Bruns I., Krauss G.J., Miersch J. et Markert B. 1996. The use of aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a biomonitor for heavy metals 1. Fundamental investigations into metal accumulation in *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. Sci. Tot. Environ. 177: 137-144.
- van Hattum B, de Voogt P. et van den Bosch L. 1989. Bioaccumulation of cadmium by the freshwater Isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. Environ. Pollut. (62) 129-151.

**TABLE 1. Water chemistry during our experiments ( $\pm$  SD).**

Parameter	Mean value
pH <sup>b</sup>	7.56 $\pm$ 0.09
Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	59.1 $\pm$ 6.7
Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>b</sup>	13.7 $\pm$ 0.5
Ca ( $\text{mg l}^{-1}$ ) <sup>c</sup>	5.94 $\pm$ 0.36
Mg ( $\text{mg l}^{-1}$ ) <sup>c</sup>	0.59 $\pm$ 0.02

Data were computed from all treatment levels

<sup>b</sup> n=378

<sup>c</sup> n=175

**TABLE 2. Measured aqueous Cd concentrations during the Cd-exposure phase of our experiment for the duplicates of each treatment level. Also given are the Cd uptake ( $k_1$ ) and elimination ( $k_2$ ) rate constants calculated from equation 1, as well as the  $r^2$  values between measured and modelled values.**

Treatment level (replicate)	$C_w \pm SD$ ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), n=30	$k_1 \pm SE$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$k_2 \pm SE$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$r^2$
Control	<0.03	NS	NS	---
0.5 $\mu\text{g l}^{-1}$ (1)	0.64 ± 0.14	684.3 ± 110.4	0.006 ± 0.001	0.92
0.5 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2)	0.63 ± 0.15	787.8 ± 97.0	0.008 ± 0.001	0.95
1.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ (1)	1.27 ± 0.19	821.3 ± 82.7	0.010 ± 0.001	0.97
1.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2)	1.24 ± 0.22	840.0 ± 86.9	0.010 ± 0.001	0.97
5.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ (1)	5.84 ± 0.70	785.5 ± 66.3	0.009 ± 0.001	0.98
5.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2)	5.87 ± 0.67	740.6 ± 52.4	0.009 ± 0.001	0.99

<sup>a</sup> constants and  $r^2$  were estimated following eqn. 1.

NS : Non-significant

**TABLE 3.** Estimated metal concentration in mosses during Cd-exposure after 14 and 28 days. Also given are the Cd concentration in mosses at steady-state and the proportion of the total accumulated Cd after 14 and 28 days. BCFs were estimated following equation 5.

Actual Cd <sub>w</sub> ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	C <sub>m</sub> after 14 d (C <sub>14d</sub> ) ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	C <sub>m</sub> after 28 d (C <sub>28d</sub> ) ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	C <sub>ss</sub> ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	C <sub>14d</sub> / C <sub>ss</sub>	C <sub>28d</sub> / C <sub>ss</sub>	BCF
<0.1	NS	NS	NS	---	---	---
0.64 ± 0.14	63.3	71.7	73.0	0.87	0.98	114,048
0.63 ± 0.15	57.6	61.6	61.8	0.93	0.99	98,482
1.27 ± 0.19	100.4	103.8	104.0	0.96	0.99	82,129
1.24 ± 0.22	100.5	104.0	104.2	0.96	0.99	84,001
5.84 ± 0.70	484.1	507.6	508.8	0.95	0.99	87,280
5.87 ± 0.67	459.6	481.9	483.1	0.95	0.99	82,293
Average				0.94	0.99	91,372

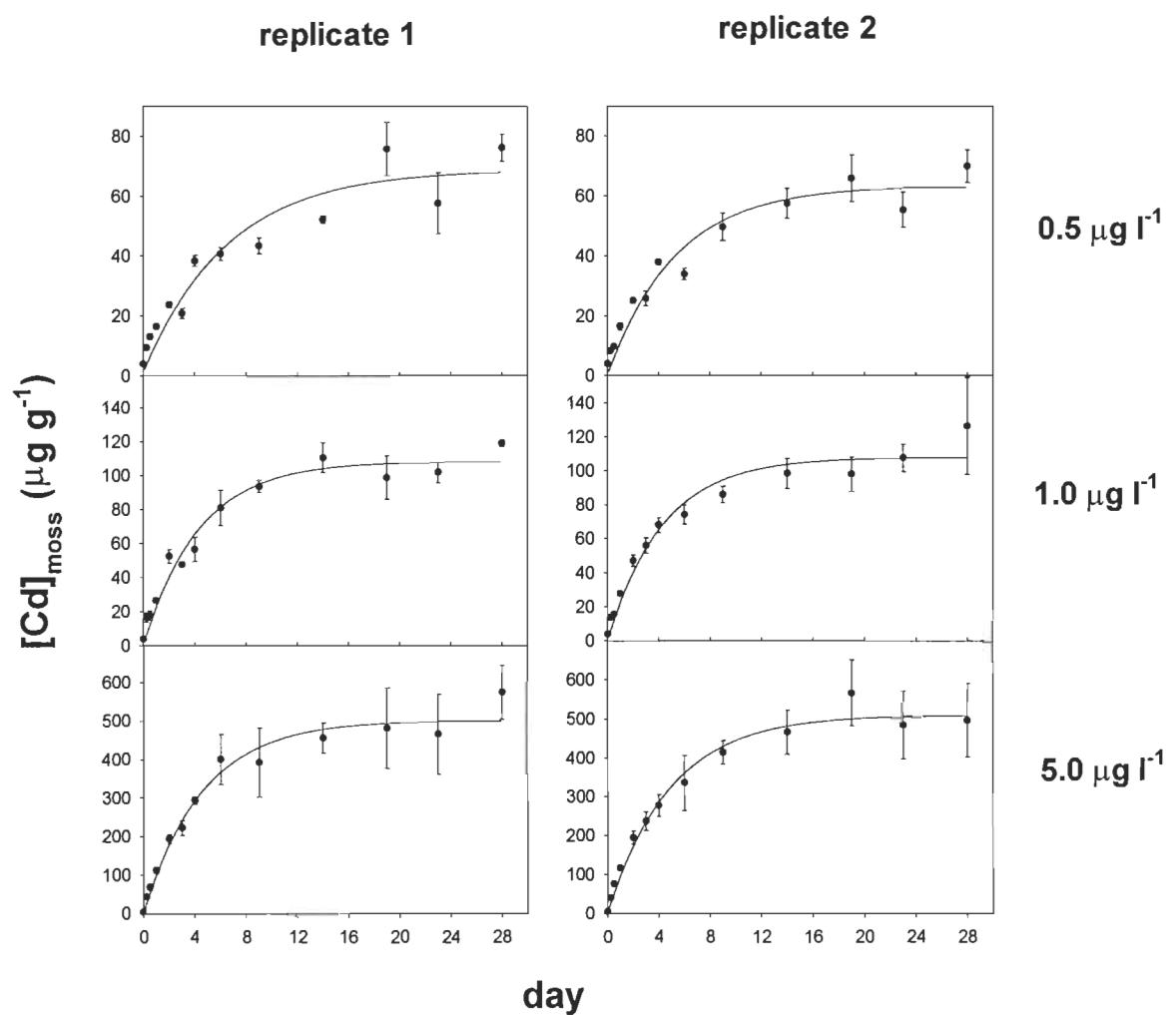
NS : Non-significant

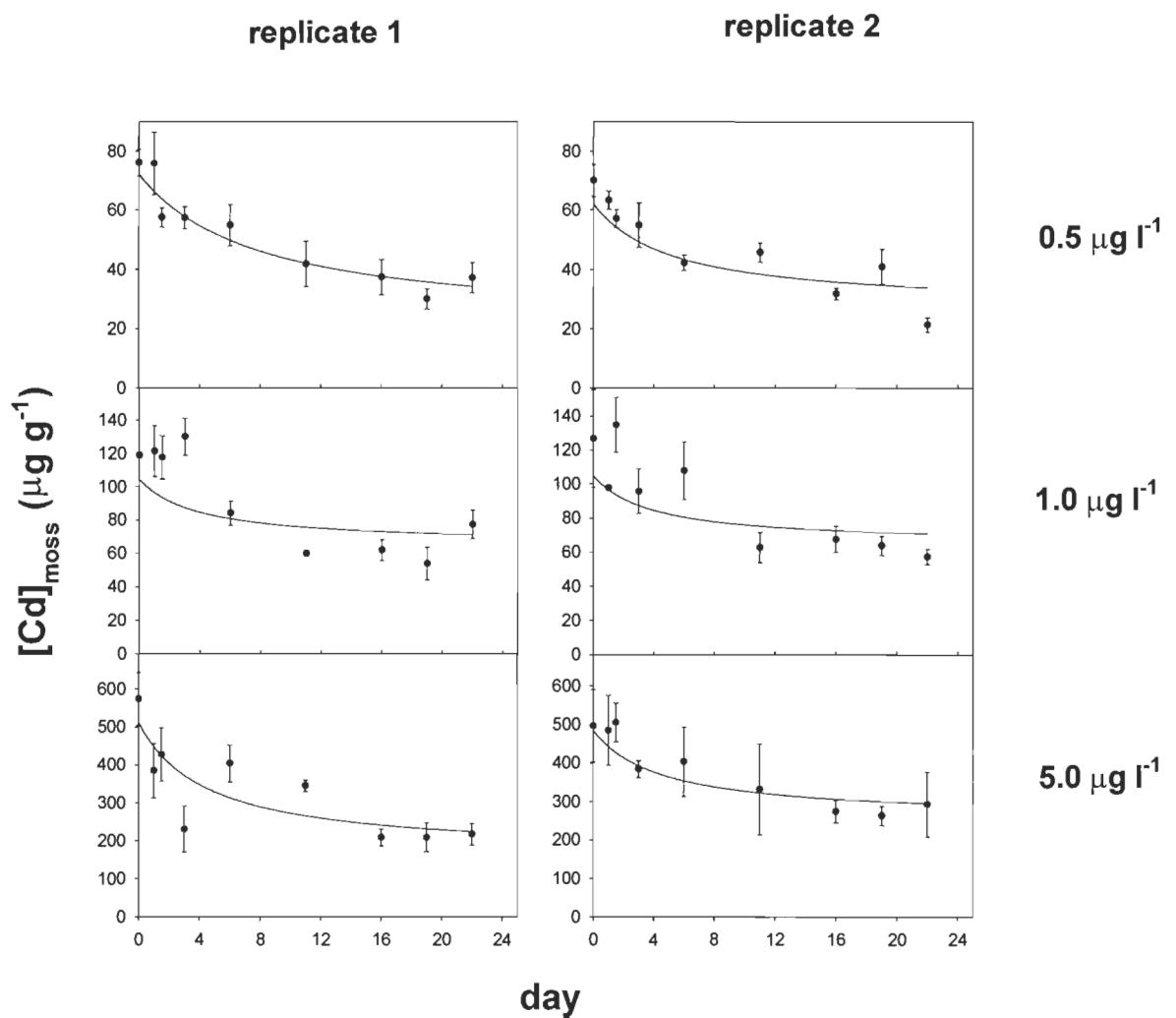
**TABLE 4.** Estimated metal concentration in mosses after the Cd-elimination phase of our experiment. Also given are the  $r^2$  values between measured and modelled values according equation 6, as well as the BEFs.

Actual $C_w$ ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	$C_{mn}^{(a)}$ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	$r^2$ <sup>(a)</sup>	BEF
<0.03	NS	---	---
$0.64 \pm 0.14$	33.4	0.90	0.53
$0.63 \pm 0.15$	34.3	0.77	0.44
$1.27 \pm 0.19$	72.2	0.47	0.30
$1.24 \pm 0.22$	71.7	0.49	0.31
$5.84 \pm 0.70$	230.2	0.62	0.55
$5.87 \pm 0.67$	298.7	0.83	0.38
Average			0.42

<sup>a</sup> Estimated from elimination data with eqn. 6.

NS : Non-significant

**Figure 1**

**Figure 2**

## CHAPITRE 2

### **Influence of current velocity on cadmium accumulation by an aquatic moss and the consequences for its use as a biomonitor.**

*Louis Croisetière<sup>1</sup> and Landis Hare<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Département de Chimie-Biologie*

*Université du Québec à Trois-Rivières*

*C.P. 500, Trois-Rivières (Québec)*

*G9A 5H7, Canada*

<sup>2</sup> *Institut National de la recherche Scientifique – Eau (INRS-Eau),*

*Université du Québec*

*C.P. 7500, Sainte-Foy (Québec)*

*G1V 4C7, Canada*

## ABSTRACT

Because current speed is thought to influence trace-metal accumulation by aquatic mosses, this variable is often taken into account when mosses are used as metal biomonitorers. However, the influence of water velocity has not been demonstrated unambiguously in the absence of other confounding factors. We conducted controlled laboratory and field experiments to test the influence of current speed on Cd accumulation by the riverine moss *Fontinalis dalecarlica*. In the laboratory, there was no difference in Cd accumulation over 2 weeks by moss exposed to a constant Cd concentration over a wide range of current speeds (0.01 to 0.70 m s<sup>-1</sup>). A field experiment, in which we placed *F. dalecarlica* in a contaminated stream at four current speeds (0.05 to 0.50 m s<sup>-1</sup>), confirmed that in nature Cd accumulation was also not influenced by current speed. Our results suggest that current speed does not have to be considered when using aquatic mosses as metal biomonitorors or in designing metal accumulation models for these plants.

## INTRODUCTION

Trace metals are usually present in natural waters at concentrations that are difficult to measure (1), and yet could be toxic to organisms. Mosses are used as biomonitorors to estimate trace-metal concentrations in potentially contaminated aquatic systems (2, 3, 4, 5, 6). In spite of their long history as biomonitorors, there has been little attempt to develop theoretically-based models to relate metal concentrations in mosses to those in water.

In previous studies with mosses, the influence of individual environmental variables on metal bioaccumulation has not been measured (3, 7, 8). However, several researchers have suggested that high water velocities are correlated with increases in the concentrations of metals such as Cd, Pb, Cu, Cr, and Zn in mosses (7, 9, 10, 11). Fick's law can be used to explain greater bioaccumulation as a result of increased metal sorption at the surface of moss leaves due to faster water flow. To apply this law we must assume that metal sorption to the plant surface is the slow step compared to the transport of metal internally. In this case, metal concentrations in the organism should be proportional to the flux of metal to biological uptake sites. If we assume the presence of a diffusive boundary layer (DBL) at the leaf surface, equation 1 describes how a change in the thickness of the DBL ( $\varepsilon$ ), due to a change in current speed, could influence the flux of a metal ion to the moss, i.e.,

$$\text{flux} = D \frac{[\text{ion}]_{\text{water}}}{\varepsilon} \quad (1)$$

where  $D$  is a diffusion constant.

We conducted experiments in both the laboratory and the field to unambiguously determine if current speed influences the accumulation of Cd by *Fontinalis dalecarlica*, a widespread moss used to monitor water courses in eastern North America.

## METHODS

We collected *Fontinalis dalecarlica* for our experiments from a small creek located in the Mastigouche Reserve, Québec, Canada ( $46^{\circ}50'41''N$ ,  $73^{\circ}19'52''W$ ). Mosses were maintained near field temperatures during transport to the laboratory where they were cleaned with deionised water to remove adhering particles. Leafy stems were selected and held prior to our experiment in dechlorinated tap water at  $14^{\circ}C$  under a light regime similar to that in the field.

In our laboratory experiment, we attached *F. dalecarlica* stems near their base to longitudinally cut halves of PVC piping (Fig. 1). The plants were exposed to a constant Cd concentration at current speeds of  $<0.01$ ,  $0.05$ ,  $0.10$ ,  $0.15$ ,  $0.25$ ,  $0.35$ ,  $0.55$  or  $0.70\text{ m s}^{-1}$ , which reached the maximum water velocity measured in the field. Current was generated by two non-metallic pumps (Jacuzzi model 15 RTC) providing a total output of  $\approx 920\text{ l min}^{-1}$ , and current speeds were measured daily (OTT C2 current meter). We added Cd (as  $\text{CdCl}_2$ , Sigma) to obtain a nominal Cd concentration of  $1\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$  throughout the experimental system. Fresh exposure medium was added to the system at the rate of  $6\text{ l min}^{-1}$ . The system was maintained at  $16^{\circ}C$  at an illumination of  $\approx 35\text{ W m}^{-2}$  on a 16:8 light:dark photoperiod. Water samples for measurements of Cd, Ca, Mg, Na, K, pH, conductivity, and temperature were collected daily throughout the experimental system to monitor system

homogeneity. Moss samples collected in triplicate at 0, 1, 2, 5, 8, 11 and 14 d were rinsed in deionised water and placed in paper envelopes for drying.

In our field experiment, mosses were exposed to the prevailing high-Cd concentrations in Stitchman Creek, located near the mining and smelting complex at Rouyn-Noranda in northwestern Québec ( $48^{\circ}13'11''N$ ,  $78^{\circ}48'53''W$ ). We conducted our field experiment in these high-Cd waters to facilitate Cd measurements. Four stations of various current speeds ( $0.05, 0.10, 0.25, 0.50 \text{ m s}^{-1}$ ) were chosen and groups of *F. dalecarlica* leafy stems were placed in four holders (Fig. 2) attached to poles that were driven into the streambed at each site. Tubes were positioned parallel to the direction of water flow well above the streambed and close to each other (less than 10 m). Current speeds were measured with a Price type "mini" current meter (Scientific instrument inc., model 1205) current meter.

We collected moss samples from each holder at 0, 1, 3, 6, 10 and 14 d, with the exception of the  $0.5 \text{ m s}^{-1}$  station that was not sampled after 6 d due to logistical problems. Immediately after collection, samples of moss were cleaned with pressurized water from the river to remove adhering particles and then rinsed in deionised water. Moss samples were then stored in a paper envelope prior to analysis. Water samples for the measurement of Cd and major ions were collected by diffusion samplers (13) after 3, 6, 10 and 14 d, and acidified with Environmental-Grade HNO<sub>3</sub> (Anachemia) to a final pH of <2. Measurements of pH, temperature, and conductivity were made directly in the stream at 0, 1, 3, 6, 10 and 14 d.

Samples of moss were dried at 65°C, weighed and then digested at 65°C for 16 h in closed polyethylene test tubes containing 17% Environmental-grade HNO<sub>3</sub> (Anachemia) following the method described by Mouvet (14). Labware used for metal determinations was soaked in 10 % HNO<sub>3</sub> overnight and rinsed 5 times with deionised water. Cadmium concentrations were measured by flame AAS for mosses from our laboratory experiment (Perkin-Elmer model 5000 with deuterium background correction), and by graphite furnace AAS (Perkin-Elmer model 5000 with Zeeman background correction) for mosses from our field experiment. Measurements of Cd by the two instruments on the same moss sample differed by <5%. For moss samples, the method detection limit was 0.2 ng g<sup>-1</sup> by flameless AAS. Measurements of Cd in standard samples of moss (BCR no. 61) were within 10% of certified values. Cadmium in water was measured by graphite furnace AAS (as above) with ammonium phosphate as a matrix modifier. Measurements of Cd in standard water samples (NIST 1643c) were within 10% of certified values. The method detection limit for samples from the laboratory experiment was 0.03 µg Cd l<sup>-1</sup>, whereas the detection limit for field samples was 0.02 µg Cd l<sup>-1</sup>. We determined the concentrations of major cations (Ca, Mg, Na, and K) by inductively coupled plasma spectrophotometry.

## RESULTS

Cadmium concentrations in water remained constant throughout our laboratory experiment, as did all other physico-chemical parameters measured (Table 1). We measured no significant difference in Cd concentrations in water among current speeds ( $p>0.05$ , Kruskal-Wallis test). After 14 days, Cd concentrations in *Fontinalis dalecarlica* reached an apparent steady-state (Fig. 3). An analysis of covariance revealed no significant differences

in the Cd concentrations of mosses exposed to the metal at the various current speeds ( $p>0.05$ , log transformed data, time as covariable). Thus current speed appeared to have no effect on Cd accumulation by *F. dalecarlica* over the range of water velocities used.

Dissolved Cd concentrations and other physico-chemical parameters also remained stable during our field experiment (Table 1). As in the laboratory, we observed no influence of current speed on Cd accumulation by mosses (Fig. 4). An analysis of covariance also revealed no significant difference in Cd concentrations in mosses among the treatment levels ( $p>0.05$ ). Our field results support the laboratory findings in suggesting that current speed does not influence Cd accumulation by *F. dalecarlica*.

## DISCUSSION

Both our laboratory and field results suggest that current speed has no influence on Cd accumulation by aquatic mosses. Our laboratory results appear to contradict those of several researchers, who report significant differences in metal accumulation by mosses with changes in flow rates. In one such study (12), concentrations of Cr, Cu and Zn in the moss were reported to depend on flow regime. However, in this laboratory, flow regime was altered by varying the rate of water renewal in containers, and water velocities were not measured. In their river experiment, current velocity has been studied simultaneously with other confounding factors (12). In several other studies (7, 9, 10, 11), the influence of water velocity was not measured individually and thus its supposed effect on metal bioaccumulation is probably explained by other variables. Our field study is the first published study designed to unambiguously measure the influence of current speed on

metal accumulation by mosses in nature. Our field results are consistent with those that we obtained in the laboratory in suggesting that current speed does not influence metal accumulation by mosses.

Our experimental results suggest that current speed can be ignored in metal biomonitoring studies with mosses. Furthermore, current speed can be ignored in models designed to relate dissolved metal concentrations to those in these plants. Theoretically-based models are necessary to provide a base for the effective use of mosses as metal biomonitor. Our experimental results do not support the model presented in equation 1 to explain metal concentrations in mosses. The lack of an influence of current speed on metal bioaccumulation suggests that the rate-limiting step is not the sorption of metal ions to surface sites, but their transport internally.

We suggest that a better model to explain metal bioaccumulation is likely to be based on a simple relationship between the concentration of a given metal in moss,  $[M]_{moss}$ , and its concentrations in the environment. Current models for mosses are limited because they ignore metal speciation (4, 7, 12, 15). Recent studies suggest that free metal ions are better predictors of bioaccumulation in many organisms than is the total concentration of dissolved metal (13, 16, 17). Thus such a model could take the form:

$$[M]_{moss} = f [M^{z+}] \quad (2)$$

where  $f$  is a proportionality constant between metal concentrations in a given moss species and those of the free metal ion,  $[M^{z+}]$ . If studies reveal that other ions compete for uptake sites on mosses then this simple model could be modified to include such effects (15). The development of such a model would facilitate the use of mosses as metal biomonitoring.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Our research was supported by the Fonds de Développement Académique du Réseau de l'Université du Québec (FODAR) and the Ministère de l'Environnement du Québec. We would also thank Fisheries and Oceans Canada for atomic absorption spectrophotometer and Telmax for providing communication equipment during our field experiment.

### REFERENCES

- (1) Phillips, D.J. H. and P.S. Rainbow. 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Elsevier.
- (2) Benson-Evans K. et Williams P.F. 1976. Transplanting aquatic bryophytes to assess river pollution. J. Bryol. 9: 81-91.
- (3) Mouvet C., Pattée E. et Cordebar P. 1986. Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise des sources de pollution métallique multiforme. Acta Oecol. (7) 1: 77-91.
- (4) Carter L.F. et Porter S.D. 1997. Trace-element accumulation by *Hygrohypnum ochraceum* in the upper Rio Grande Basin, Colorado and New Mexico, USA. Environ. Toxicol. Chem. (16) 12: 2521-2528.

- (5) Kelly M.G. et Whitton B.A. 1989. Interspecific differences in Zn, Cd and Pb accumulation by freshwater algae and bryophytes. *Hydrobiologia* 175: 1-11.
- (6) Say P.J., Harding J.P.C. et Whitton B.A. 1981. Aquatic mosses as monitors of heavy metal contamination in the River Etherow, Great Britain. *Environ. Poll. (Series B)* 2: 295-307.
- (7) Say P.J. et Whitton B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 1: *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Hydrobiologia* 100: 245-260.
- (8) Wehr J.D. et Whitton B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2: *Rhynchostegium riparioides*. *Hydrobiologia* 100: 261-284.
- (9) Mouvet C. 1987. Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre par les mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Agence de Bassin Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz, France, 122p.
- (10) André B. et Lascombe C. 1987. Comparaison de deux traceurs de la pollution métallique des cours d'eau: les sédiments et les bryophytes. *Sci. Eau* 6: 225-247.
- (11) Goncalves E.P.R., Boaventura R.A.R. et Mouvet C. 1992. Sediments and aquatic mosses as pollution indicators for heavy metals in the Ave river basin (Portugal). *Sci. Total Environ.* 114: 7-24.
- (12) Claveri B. 1995. Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination métallique des eaux continentales. Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un Module d'Intégration de la Micropollution (M.I.M). Thesis, Université de Metz, France, 238 p.
- (13) Croteau M. N., Hare L. and Tessier A. 1998. Refining and testing trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Tech.* 32 : 1348-1353.

- (14) Mouvet C. 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques. Synthèse méthodologique. Agence de l'Eau Rhin-Meuse. Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz, France, 110 p.
- (15) Merch J. et Pihan J-C. 1993. Simultaneous assesment of environmental impact on condition and trace metal availability in zebra mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 25: 353-364.
- (16) Campbell P.G.C. 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms : a critique of the free-ion activity model, p.45-102. In A. Tessier and D. Turner [eds.], Trace metal speciation and bioavaibility in aquatic systems. Wiley.
- (17) Hare L. and Tessier A. 1996. Predicting animal cadmium concentration in lakes. Nature 380 : 430-432.

**TABLE 1. Water chemistry during our laboratory and field experiments.**

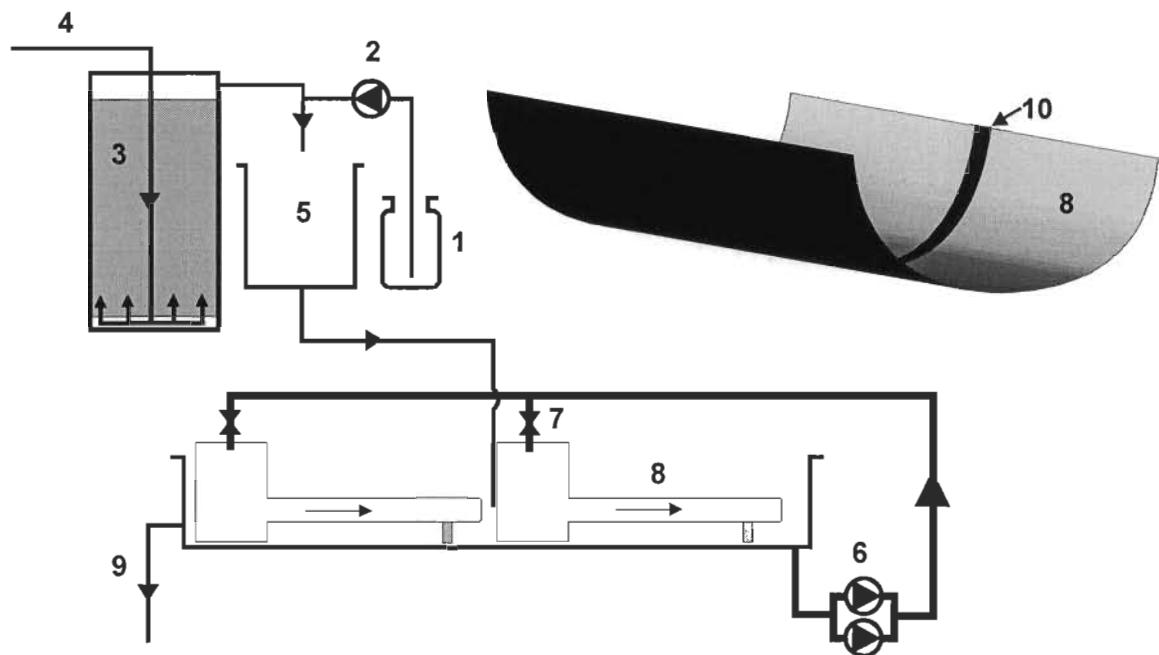
Parameter	Mean $\pm$ SD; n	
	Laboratory experiment	River experiment
pH	$7.54 \pm 0.05 ; 15$	$6.80 \pm 0.11 ; 6$
Temperature ( $^{\circ}$ C)	$16.9 \pm 0.6 ; 15$	$20.3 \pm 1.4 ; 6$
Cd ( $\mu$ g l $^{-1}$ )	$0.97 \pm 0.09 ; 125^a$	$0.16 \pm 0.03 ; 10^b$
Ca (mg l $^{-1}$ )	$2.75 \pm 0.13 ; 15$	$4.10 \pm 0.75 ; 6$
Mg (mg l $^{-1}$ )	$0.26 \pm 0.05 ; 15$	$0.97 \pm 0.19 ; 6$
Na (mg l $^{-1}$ )	$1.57 \pm 0.07 ; 15$	$1.81 \pm 0.44 ; 6$
K (mg l $^{-1}$ )	$0.21 \pm 0.05 ; 15$	$0.15 \pm 0.05 ; 6$
Conductivity ( $\mu$ S cm $^{-1}$ )	$63.8 \pm 4.2 ; 15$	$61.3 \pm 15.2 ; 6$

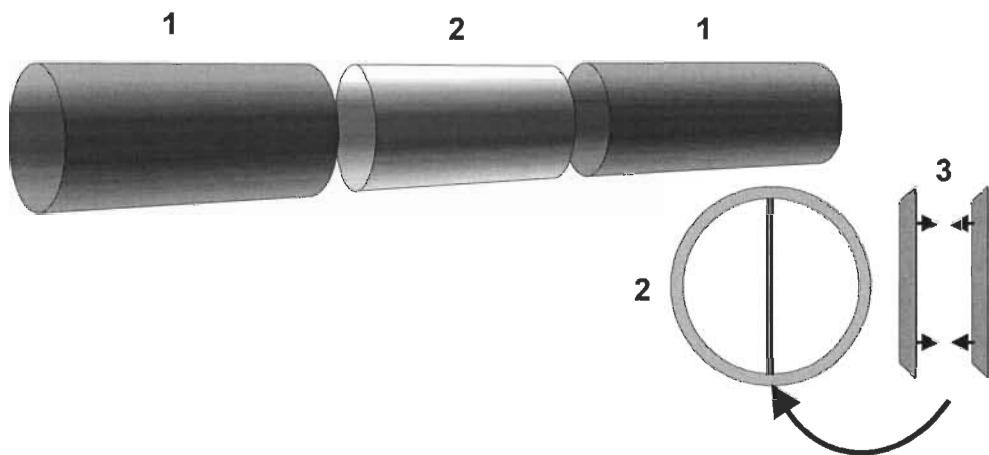
<sup>a</sup> Average for all treatment levels.

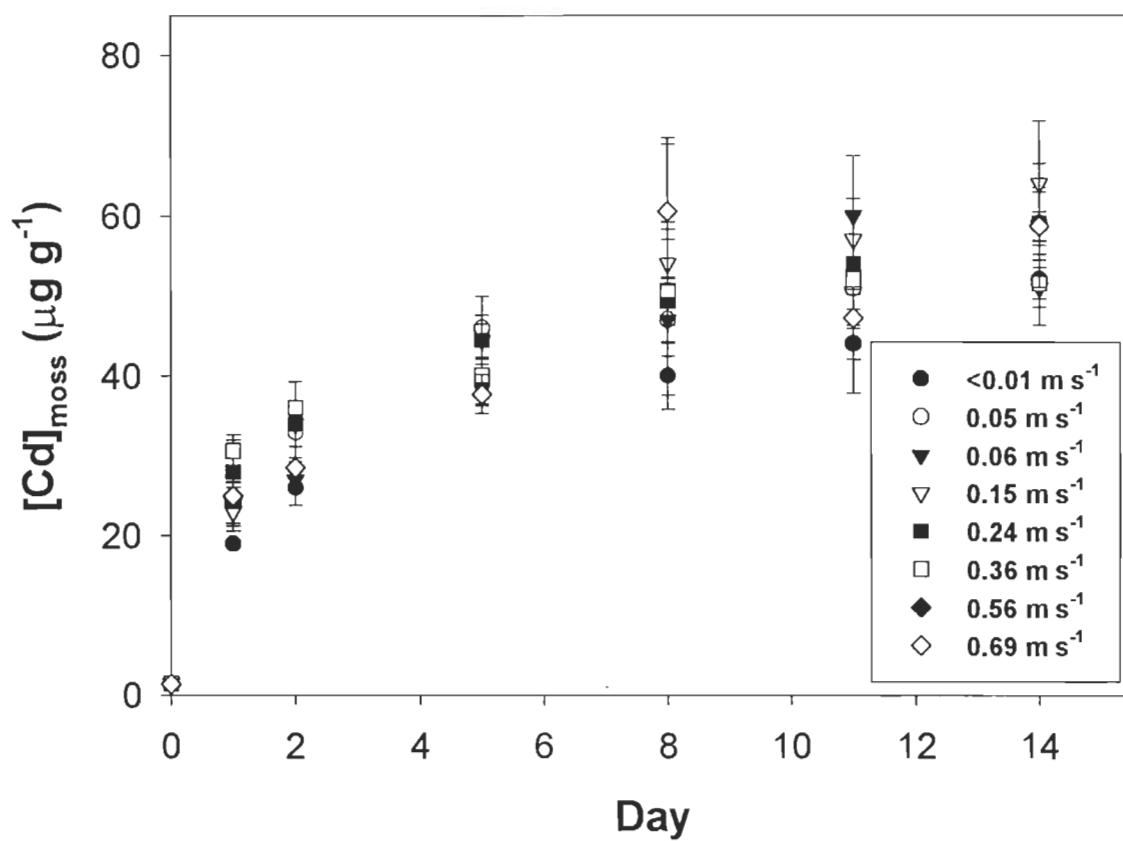
<sup>b</sup> Water samples were collected at 3, 6, 10 and 14 d in dialysis cells.

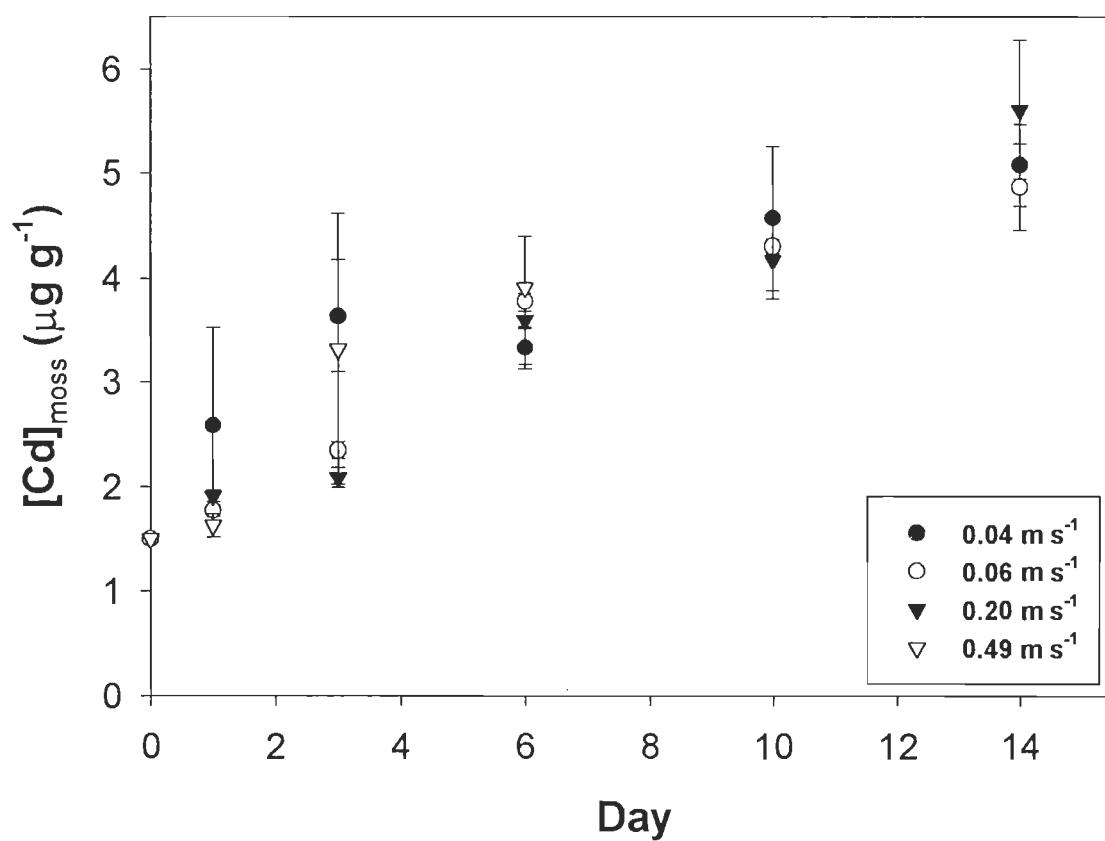
**TABLE 2. Experimental current velocities during our laboratory and field experiments.**

Laboratory experiment		Field experiment	
Nominal velocity ( $\text{m s}^{-1}$ )	Measured velocity $\pm$ SD ( $\text{m s}^{-1}$ ) n=15	Nominal velocity ( $\text{m s}^{-1}$ )	Measured velocity $\pm$ SD ( $\text{m s}^{-1}$ ) ; n
<0.01	<0.01	0.05	0.04 $\pm$ 0.01 ; 5
0.05	0.05 $\pm$ 0.003	0.1	0.06 $\pm$ 0.03 ; 5
0.10	0.06 $\pm$ 0.003	0.25	0.20 $\pm$ 0.07; 5
0.15	0.16 $\pm$ 0.01	0.5	0.49 ; 2
0.25	0.26 $\pm$ 0.01		
0.35	0.38 $\pm$ 0.01		
0.55	0.57 $\pm$ 0.02		
0.70	0.68 $\pm$ 0.01		

**Figure 1**

**Figure 2**

**Figure 3**

**Figure 4**

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude nous a permis de caractériser, en conditions stables, l'accumulation et l'élimination du cadmium (Cd) par la mousse aquatique *Fontinalis dalecarlica*. Cette accumulation est très importante et s'effectue sur une période qui est relativement courte. Cette étude en laboratoire nous a permis d'établir des balises concernant entre autre, la durée d'exposition nécessaire pour obtenir une réponse optimale lors du suivi du Cd en milieu aquatique.

L'effet de la vitesse de courant était jusqu'à maintenant décrite comme un facteur physique pouvant influencer l'accumulation des métaux par les bryophytes. Nos résultats indiquent le contraire, tant en conditions contrôlées qu'en conditions naturelles. Ces résultats suggèrent que l'étape limitante du processus d'accumulation ne serait pas un simple phénomène de surface, mais bien le passage du Cd vers l'espace intracellulaire. Ce paramètre n'étant plus à considérer, l'interprétation des données résultant de l'utilisation des mousses aquatiques dans les programmes de suivi n'en sera que facilitée.

## RÉFÉRENCES DE L'INTRODUCTION GÉNÉRALE

- Agneta M. et Burton S. 1990. Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. Bot. J. Linn. Soc. 104: 267-280.
- André B. et Lascombe C. 1987. Comparaison de deux traceurs de la pollution métallique des cours d'eau: les sédiments et les bryophytes. Sci. Eau 6: 225-247.
- Anonyme 1979. Studies on zinc location in aquatic bryophytes. Bryoplogist 82 (4) 594-598.
- Arts G.H.P. 1990. Aquatic Bryophyta as indicators of water quality in shallow pools and the lakes in the Netherlands. Ann. Bot. Fennici 27: 19-32.
- Baudin J.P., Lambrechts A. et Pally M. 1991. Utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs de contamination radioactive. Hydroécol. Appl. (2) 209-240.
- Benson-Evans K. et Williams P.F. 1976. Transplanting aquatic bryophytes to assess river pollution. J. Bryol. 9: 8.1-91.
- Berryman, D. 1990. Sélection de nouveaux indicateurs de la qualité des cours d'eau du Québec. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, rapport no. QE-90-95, Envirodoq no. EN900140 QE/67/1, 77 p.
- Berryman D. et Nadeau A. 1999. Le bassin de la rivière Yamaska : contamination de l'eau par des métaux et certaines substances organiques toxiques, section 3, dans Ministère de l'Environnement (éd.), Le bassin versant de la rivière Yamaska : état de l'écosystème aquatique, Québec, Direction des écosystèmes aquatiques, envirodoq n°EN990224, rapport n°EA-14.
- Brown D.H. et Becket R.P. 1985. Intracellular and extracellular uptake of cadmium by the moss *Rhytidadelphus squarrosus*. Ann. Bot. 55: 179-188.
- Brown D.H. et Brumelis G. 1996. A biomonitoring method using the cellular distribution of metals in moss. Sci. Total Environ. 187: 153-161.
- Brunn I., Friese K., Markert B. et Krauss G-J. 1997. The use of aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a biomonitor for heavy metals 2. Heavy metal accumulation and physiological reaction of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. in active biomonitoring in the River Elbe. Sci. Total Environ. 104: 161-176.

- Burton M.A.S. et Peterson P.J. 1979. Metal accumulation by aquatic bryophytes from polluted mine streams. Environ. Pollut. 19: 39-46.
- Campbell P.G.C. et Stokes P.M. 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. Can. J. Fish. Sci. (42): 2034-2049.
- Carter L.F. et Porter S.D. 1997. Trace-element accumulation by *Hygrohypnum ochraceum* in the upper Rio Grande Bassin, Colorado and New Mexico, USA. Environ. Toxicol. Chem. (16) 12: 2521-2528.
- Ciffroy P., Vazelle, D. et Claveri B. 1995. Mesure de micropolluants biodisponibles basée sur l'utilisation de bryophytes en milieu contrôlé et sur un modèle numérique d'interprétation. EDF-DER, 35p.
- Claveri B. 1991. Réponses des mousses à divers scénarios de pollution par le cuivre et le cadmium. DEA de Toxicologie. Université de Metz. 85 p.
- Claveri B. 1995. Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination métallique des eaux continentales. Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un Module d'Intégration de la Micropollution (M.I.M). Thèse, Université de Metz, 238 p.
- Claveri B., Guérol F. et Pihan J.C. 1993. Acidification des ruisseaux du massif vosgien et contamination métallique (Al, Mn, Pb, Cd): mise en évidence dans l'eau et dans les bryophytes transplantées. Hydroécol. Appl. (1) 111-125.
- Claveri B., Guérol F. et Pihan J.C. 1995. Use of transplanted mosses and autochthonous liverworts to monitor trace metals in acidic and non-acidic headwater streams (Vosges mountains, France). Sci. Total Environ. (175) 235-244.
- Claveri B., Morhain E. et Mouvet C. 1994. A methodology for the assessment of accidental copper pollution using the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. Chemosphere (28) 11 : 2001-2010.
- Conseil Canadien des Ministres des Ressources et de l'Environnement 1992 (CCMRE). Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. 400 p.
- Crist R.H., Martin J.R., Chonko J. et Crist D.R. 1996. Uptake of metals on peat moss: an ion-exchange process. Environ. Sci. Technol. 30: 2456-2461.
- Davison W. et Zhang H. 1994. *In situ* speciation measurement of trace components in natural waters using thin-film gels. Nature (367) 546-548.

- Empain A. 1976. Les bryophytes aquatiques utilisés comme traceurs de la contamination en métaux lourds des eaux douces. Mém. Soc. roy. Bot. Belg. 7: 141-156.
- Förstner U. et Wittmann G.T.W. (1983) Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, 486 p.
- Foulquier L., Descamps B., Lambrechts A. et Pally M. 1991. Analyse et évolution de l'impact de l'accident de Tchernobyl sur le fleuve Rhône. Verh. Internat. Verein. Limnol. 24: 2352-2355.
- Gagnon C. 1996. Influence de la dureté de l'eau sur l'accumulation et l'élimination de cadmium réalisées par deux mousses aquatiques, *Fontinalis dalecarlica* et *Platyhypnidium ripariooides*, en conditions contrôlées. Mémoire, Université du Québec à Trois-Rivières, 92 p.
- Gardiner J. 1974. The chemistry of cadmium in natural water-I. A study of cadmium complex formation using cadmium specific-ion electrode. Water Res. (8) 23-30.
- Glime J. M. et Keen R. E. 1984. The importance of bryophytes in a man-centered world. Journ. Hattori Bot. Lab. 55: 133-146.
- Goncalves E.P.R., Boaventura R.A.R. et Mouvet C. 1992. Sediments and aquatic mosses as pollution indicators for heavy metals in the Ave river basin (Portugal). Sci. Total Environ. 114: 7-24.
- Goyer N. 1980. Métaux lourds, Bureau d'études sur les substances toxiques, 73 p.
- Gstoettner E.M. et Fisher N.S. 1997. Accumulation of cadmium, chromium, and zinc by the moss *Sphagnum papillosum* Lindle. Water Air Soil Poll. 93: 321-330.
- Hao Y, Roach A.I. et Ramelow G.J. 1993. Uptake of metal ions by nonliving biomass derived from sphagnum moss and water hyacinth roots. J. Environ. Health 2333-2343.
- Hare L. 1992. Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. Crit. Rev. Toxicol. 22 (5/6): 327-369.
- Hare L. et Tessier A. Predicting animal cadmium concentration in lakes. Nature (380) 430-432.
- Holwerda D.A., Hemelraad J., Veenhof P.R. et Zandee D.I. 1988. Cadmium accumulation and depuration in *Anodonta anatina* exposed to cadmium chloride or cadmium-EDTA complex. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 40: 373-380.
- Jones K.C. 1985. Gold, silver and other elements in aquatic bryophytes from a mineralised area of North Wales, U.K. J. Geochem. Explor. 24: 237-246.

- Jones K.C. et Peterson P.J. 1985. Silver and other metals in some aquatic bryophytes from streams in the lead mining districts of Mid-Wales, Great-Britain. Water Air Soil Poll. 24: 329-338.
- Kelly M. G., Girton C. et Whitton B. A. 1987. Use of moss-bag for monitoring heavy metals in rivers. Water Res. (21) 11: 1429-1435.
- Kelly M.G. et Whitton B.A. 1989. Interspecific differences in Zn, Cd and Pb accumulation by freshwater algae and bryophytes. Hydrobiologia 175: 1-11.
- Kerndorff H. et Schnitzer M. 1980. Sorption of metals on humic acid. Geochim. Cosmochim. Ac. (44): 1701-1708.
- Knight A.H., Crooke W.M. et Inkson R.H.E. 1961. Cation-exchange capacities of tissues of higher and lower plants and their related uronic acid contents. Nature (192) 4798: 142-143.
- Lopez J. et Carballeira A. 1993. Interspecific differences in metal bioaccumulation and plant-water concentration ratios in five aquatic bryophytes. Hydrobiologia 263: 95-107.
- Merch J. 1993. Modalités d'utilisation de la moule Zébrée *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique de la contamination des écosystèmes d'eau douce par les métaux lourds. Comparaison avec un autre type d'organismes sentinelles, les mousses aquatiques. Thèse, Université de Metz, 231 p.
- Merch J. et Pihan J-C. 1993. Simultaneous assessment of environmental impact on condition and trace metal availability in Zebra Mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 25: 353-364.
- Merch J., Guérolé F., Rousselle P. et Pihan J.C. 1993. Transplanted aquatic mosses for monitoring trace metal mobilisation in acidified streams of the Vosges Mountains, France. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51: 255-259.
- Mersch J. et Johansson L. 1993. Transplanted aquatic mosses and freshwater mussels to investigate the trace metal contamination in the Rivers Meurthe and Paline, France. Environ. Technol. 14: 1027-1036.
- Mouvet C. 1979. Utilisation des bryophytes aquatiques pour l'étude de la pollution des cours d'eau par les métaux lourds et les radionucléides. Revue de Biologie et Ecologie méditerranéenne. Tome VI, no.3-4, 193-204. Ciffroy P., Vazelle, D. et Claveri B. 1995. Mesure de micropolluants biodisponibles basée sur l'utilisation de bryophytes en milieu contrôlé et sur un modèle numérique d'interprétation. EDF-DER, 35p.

- Mouvet C. 1980. Pollution de l'Amblève par les métaux lourds, en particulier le chrome: dosage dans les eaux et les bryophytes aquatiques. *Trib. Cebedeau* (33) 445: 527-538.
- Mouvet C. 1985. The use of aquatic bryophytes to monitor heavy metals pollution of freshwater as illustrated by case studies. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 22: 2420-2425
- Mouvet C. 1986. Métaux lours et mousses aquatiques. Synthèse méthodologique. Agence de l'Eau Rhin-Meuse. Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz. 110 p.
- Mouvet C. 1987. Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre par les mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Agence de Bassin Rhône-Méditerranée-Corse. Université de Metz, 122p.
- Mouvet C., Morhain E., Sutter C. et Couturieux N. 1993. Aquatic mosses for the detection and follow-up of accidental discharges in surface waters. *Water Air Soil Poll.* 66: 333-348.
- Mouvet C., Pattée E. et Cordebar P. 1986. Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise des sources de pollution métallique multiforme. *Acta Oecol.* (7) 1: 77-91.
- Pommery J., Imbenotte M. et Erb F. 1985. Relation entre toxicité et formes libres de quelques métaux traces. *Environ. Pollut. (Series B)* 9: 127-136.
- Ramade F. 1992. Précis d'écotoxicologie. ed. Masson, 300 p.
- Roeck U., Trémolières M., Exinger A et Carbiener R. 1991. Les mousses aquatiques, bioindicateurs du niveau de pollution chimique: utilisation des mousses aquatiques dans une étude du transfert du mercure en tant que descripteur du fonctionnement hydrologique (échanges cours d'eau - nappe) en plaine d'Alsace. *Hydroécol. Appl.* Tome 3 Vol. 2, p.241-256.
- Salisbury F.B. et Ross C.W. 1991. Plant physiology, 4<sup>th</sup> Edition, Wadsworth Publishing Company, 682 p.
- Samson G. 1995. Performance des mousses aquatiques *Fontinalis dalecarlica* (Schimp) ex. B.S.G. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix. à titre d'indicateur biologique de la pollution des eaux. Mémoire, Université du Québec à Trois-Rivières, 153 p.
- Sanchez J., Vaquero M.C. et Legorburu I. 1994. Metal pollution from old lead-zinc mine works: biota and sediment from Oiartzun Valle. *Environ. Technol.* 18: 1068-1076.
- Satake K. et Nishikawa M. 1990. Accumulation of scandium in the shoots of aquatic bryophytes in acid water. *Hydrobiologia* 199 : 173-177.

Say P.J. et Whitton B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 1: *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Hydrobiologia* 100: 245-260.

Say P.J., Harding J.P.C. et Whitton B.A. 1981. Aquatic mosses as monitors of heavy metal contamination in the River Etherow, Great Britain. *Environ. Pollut. (Series B)* 2: 295-307.

Siebert A., Bruns I., Krauss G.J., Miersch J. et Markert B. 1996. The use of aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a biomonitor for heavy metals 1. Fundamental investigations into metal accumulation in *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. *Sci. Total Environ.* 177: 137-144.

Swedish Environmental Agency 1991. Quality criteria for lakes and watercourses. A system for classification of water chemistry and sediment and organism metal concentrations. ISBN 91-620-1107-3, 171 85, Solna, Sweden *in* Calveri B. 1995. Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination métallique des eaux continentales. Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un Module d'Intégration de la Micropollution (M.I.M). Thèse, Université de Metz, 238 p.

Tessier A., Campbell P.G.C. et Bisson M. 1979. Trace metal speciation in the Yamaska and St-François Rivers (Quebec). *Can. J. Earth Sci.* (17): 90-105.

Tipping E. 1994. WHAM – A chemical equilibrium model and computer code for water, sediments, and soils incorporating a discrete site-electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Comput. Geosci.* (20) 6 : 973-1023.

Vray F., Baudin J.P. et Svdlenkova M. 1992. Effects of some factors on uptake and release of <sup>106</sup>Ru by a freshwater moss, *Plathypnidium ripariooides*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 23: 190-197.

Wehr J.D. et Whitton B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2: *Rhynchosstegium ripariooides*. *Hydrobiologia* 100: 261-284.

Wehr J.D. et Whitton B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 3: Seasonal changes. *Hydrobiologia* (100) 285-291.

Wehr J.D., Empain A., Mouvet C., Say P.J. et Whitton B.A. 1983. Methods for processing aquatic mosses used as monitors of heavy metals. *Water Res.* (17) 9: 985-992.

**ANNEXE A****Résumé français du chapitre 1****CHAPITRE 1**

Uptake and release of cadmium by the aquatic moss *Fontinalis dalecarlica*.

## INTRODUCTION

Les mousses aquatiques ont été grandement utilisées pour le suivi des métaux traces dans l'environnement (Benson-Evans et Williams 1976, Berryman 1990, Mouvet 1985, Siebert *et al.* 1996). Les propriétés qu'ont ces bryophytes aquatiques d'accumuler des cations métalliques sont à la base de l'intérêt pour leur utilisation comme biomoniteurs (Glime et Keen 1984). D'une part, il faut signaler l'utilité des bryophytes aquatiques : leur capacité de produire une concentration plus élevée de métaux dans leurs tissus que dans le milieu ambiant en font des organismes intéressants pour le suivi de la dispersion des métaux dans l'environnement. D'autre part, l'utilisation de biomoniteur plutôt qu'une procédure de simple suivi des contaminants dans l'eau se justifie par une meilleure représentation de la fraction biodisponible ainsi que d'une concentration importante de la substance par ces organismes, contournant ainsi le problème des limites de détection des méthodes analytiques conventionnelles. De plus, les mousses aquatiques peuvent contenir de très fortes teneurs en métaux sans toutefois que leur viabilité ne soit compromise (Claveri 1995). La mousse aquatique étudiée, *Fontinalis dalecarlica*, a été utilisée à plusieurs reprises comme biomoniteur au Québec (Berryman 1990) et a prouvé son efficacité pour le suivi des métaux en rivière. Au Québec, l'utilisation de ce biomoniteur se fait selon la méthode des transplants, contournant ainsi les problèmes associés à sa faible abondance. Cette méthode, qui consiste à prélever ces organismes en milieu non-contaminé pour les placer dans la rivière à l'étude pour une période donnée, permet d'obtenir un réponse intégrée, associée au niveau de contamination par la substance étudiée. Dans notre cas, l'accumulation et l'élimination du cadmium (Cd) furent étudiées.

De précédentes études ont qualifié l'accumulation du Cd par la mousse aquatique *Fontinalis dalecarlica* d'importante (Gagnon 1996, Samson 1995), mais l'instabilité des dispositifs d'exposition utilisés par ces auteurs n'a pu mener à une évaluation précise du pouvoir d'accumulation de cet organisme, ou même permis de caractériser les cinétiques d'accumulation et d'élimination du Cd. Lors de l'expérience portant sur l'accumulation du Cd par *Fontinalis dalecarlica* menée par Gagnon (1996), la très grande instabilité du dispositif expérimental a pu mener à une modification des cinétiques d'accumulation par les mousses. Si, comme le suggèrent plusieurs auteurs (Claveri 1995, Merch 1993, Mouvet 1987) l'accumulation des métaux par les bryophytes tend vers un état stationnaire apparenté à un état d'équilibre, alors une instabilité au niveau des concentrations dans l'eau a pu introduire un biais important dans la caractérisation des cinétiques d'accumulation et d'élimination.

Considérant l'importance de la stabilité d'exposition dans l'étude des cinétiques d'accumulation et d'élimination, nous avons donc réalisé une expérience en donnant à ce paramètre toute l'importance qu'il représente. Ces cinétiques étant généralement représentées par des patrons non-linéaires, nous avons donc utilisé un modèle cinétique de premier ordre pour évaluer la prise en charge et l'élimination du Cd par *Fontinalis dalecarlica*.

L'objectif principal de notre étude était l'évaluation de l'accumulation et de l'élimination du Cd à différentes concentrations d'expositions en conditions contrôlées et plus spécifiquement, la caractérisation des cinétiques d'accumulation et d'élimination dans ces mêmes conditions en utilisant des modèles cinétiques de premier ordre. L'intégration de

ces informations devait mener à la détermination d'une durée d'exposition adéquate lorsque ce biomoniteur est utilisé en milieu naturel.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel biologique

Des échantillons non-contaminés de la mousses aquatique *Fontinalis dalecarlica* ont été prélevés dans un ruisseau situé dans la Réserve Mastigouche ( $46^{\circ} 50' 41''$  N,  $73^{\circ} 19' 52''$  W), Québec, Canada. Cette espèce de mousses vit complètement submergée et est fixée au fond des cours d'eau par un système de rhizoïdes. Étant dépourvue de toute vascularisation, elle doit, comme tous les bryophytes aquatiques, puiser les substances nutritives directement de l'eau (Glime et Keen 1984). Lors de la récolte, le premier tiers du plant est laissé sur place, fixé au substrat, pour assurer la régénérescence et ainsi éviter l'épuisement de la ressource (Merch 1993). Après un lavage sommaire avec l'eau de la rivière, les mousses ont été placées dans une glacière avant d'être transportées. Une fois au laboratoire, elles ont été lavées sous un jet d'eau déminéralisée, triées et finalement, placées dans l'eau de distribution déchlorée dont la température était réglée à  $14^{\circ}\text{C}$ .

### Système expérimental

Pour la partie de l'expérience portant sur l'accumulation, les mousses ont été placées à trois concentrations nominales de Cd, soit : 0.5, 1.0, et  $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$  pour une période de 28 jours. Chaque enceinte était dupliquée, sauf le témoin, pour un total de 7 aquariums. Après cette période, ces mêmes mousses ont été placées dans l'eau non-contaminée pour une période

de 22 jours. Le système d'exposition était un système à renouvellement constant, dans le but d'assurer une exposition constante qui n'était que peu influencée par la fraction métallique accumulée par les bryophytes. L'eau de chaque aquarium, qui contenait 35 L, était renouvelée à toutes les 35 minutes. La température du système était fixée à 14°C pour toute la durée de l'expérience.

### **Échantillonnage**

Trois sous-échantillons de mousses d'environ 2 g (humide) étaient prélevés après 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 144, 216, 336, 456, 552 et 672 h pendant la période d'accumulation et après 696, 744, 816, 936, 1056, 1128 et 1200 h pendant l'élimination (temps calculés à partir du début de l'expérience). L'espacement plus restreint entre les échantillonnages au début de chacune des phases permettait de mieux caractériser la partie la plus critique de ces dernières, considérant que le début des cinétiques d'accumulation et d'élimination est souvent caractérisé par des changements rapides des concentrations de métaux dans les mousses. Après le prélèvement, les échantillons de mousses étaient placés dans une enveloppe de papier avant séchage. À chaque temps d'échantillonnage ou au minimum à chaque jour, un échantillon d'eau était prélevé et acidifié à pH < 2 avec de l'acide nitrique.

### **Suivi physico-chimique**

Les paramètres physico-chimiques de base étaient mesurés de façon journalière, soit : le pH, la conductivité, la température, les concentrations en Ca et Mg, ainsi que la concentration en Cd pour chacun des traitements.

Pour le suivi des teneurs en Cd dans les mousses, une procédure de minéralisation a précédé chaque analyse. Au cours de cette procédure, l'échantillon, qui a préalablement été séché à 65°C et pesé, était placé dans l'acide nitrique 17% à 65°C pour une minéralisation en milieu fermé. La procédure adoptée a été inspirée par celle développée par Mouvet (1987). Les concentrations de Cd dans les mousses ainsi que les concentrations de Ca et de Mg dans l'eau ont été déterminées par dosage en absorption atomique sur flamme air-acétylène. Pour le dosage du Cd dans l'eau, les dosages ont aussi été effectués par absorption atomique, mais en four au graphite, permettant une meilleure sensibilité, vu les faibles concentrations de Cd dans l'eau au cours de l'expérience.

### **Contrôle de qualité**

Pour s'assurer de l'exactitude des concentrations de métaux mesurées dans l'eau, nous avons utilisé un étalon d'eau certifié (NIST 1643c) lors de la validation des données. La même procédure a été appliquée aux dosages de Cd dans les mousses, mais avec un étalon de mousses aquatiques (BCR 61). En plus de valider la méthode de dosage, l'utilisation de mousses aquatiques certifiées permettait de valider la méthode de minéralisation. Toujours dans le but de vérifier l'efficacité des méthodes de dosages, une partie des échantillons était dupliquée (10%), des étalons de métaux permettaient de vérifier la courbe de calibration (10%) et des échantillons composés uniquement de réactifs (blancs) comptaient 5% du nombre des échantillons, dans le but de déceler une éventuelle source de contamination.

## Analyse des données

Étant donné que les cinétiques d'accumulation et d'élimination se traduisent généralement par des patrons non-linéaires, nous avons utilisé un modèle cinétique de premier ordre pour décrire la prise en charge et l'élimination du Cd par les mousses aquatiques. Dans un premier temps, ce modèle nous a permis d'évaluer les constantes d'accumulation ( $k_1$ ) et d'élimination ( $k_2$ ) du Cd par *Fontinalis dalecarlica* (chapitre 1, équation 1). Par la suite, le rapport de ces deux constantes nous a permis de déterminer le facteur de bioconcentration (FBC) pour chacun des traitements (chapitre 1, équation 5). Nous avons aussi estimé, encore à l'aide du modèle de base (chapitre 1, équation 1) la concentration de Cd dans les mousses après 14 et 28 jours d'accumulation, pour déterminer si une exposition de deux semaines serait suffisante pour obtenir une réponse intéressante de ce biomonitor. Pour l'interprétation des données issues de la phase d'élimination, nous avons utilisé une équation permettant d'estimer la concentration de Cd résiduelle dans les mousses (chapitre 1, équation 6), c'est-à-dire la fraction métallique qui ne serait pas échangeable et ce, même après une phase d'élimination dont la durée tend vers l'infini.

## RÉSULTATS

### Physico-chimie de l'eau

Pendant la phase d'accumulation, le bon fonctionnement du système expérimental a permis une très grande stabilité d'exposition, tant pour les paramètres de base (pH, température, conductivité), que pour les concentrations de Cd (chapitre 1, tableaux 1 et 2). Ces même paramètres ont aussi affiché une grande stabilité au cours de la phase d'élimination.

### **Évolution du Cd dans les mousses**

Lors de la phase d'accumulation, la prise en charge du Cd par les mousses aquatiques a été très rapide, pour atteindre un plateau après environ deux semaines (chapitre 1, figure 1). Les concentrations de Cd dans les mousses ont atteint des valeurs très élevées (chapitre 1, tableau 3). La cinétique d'accumulation suivant un patron non-linéaire, nous avons donc appliqué notre modèle cinétique de premier ordre pour estimer les paramètres précédemment mentionnés. L'adéquation entre le modèle (chapitre 1, équation 1) et les données expérimentales a été excellente (chapitre 1, tableau 2), permettant ainsi de déterminer avec certitude les constantes  $k_1$  et  $k_2$ . Ces constantes ont permis de déterminer les concentrations de Cd dans les mousses après une période d'exposition donnée, permettant ainsi d'affirmer qu'une exposition de 14 jours permet d'obtenir une réponse presque complète du biomonitor (chapitre 1, tableau 3). Lors de la phase d'élimination, les concentrations de Cd résiduelles étaient assez importantes par rapport aux concentrations mesurées à la fin de l'accumulation (chapitre 1, tableau 4).

### **DISCUSSION**

Les résultats issus de notre expérience montrent bien l'importance de la stabilité d'exposition dans l'étude des cinétiques d'accumulation et d'élimination. La stabilité de notre système a été comparable à celle d'autres auteurs (Claveri 1995, Merch 1993, Mouvet 1987) et elle fut plus importante que celle obtenue par Samson (1995) et Gagnon (1996). Cette stabilité s'est traduite par une allure très différente des cinétiques d'accumulation et

d'élimination. En effet, les cinétiques d'accumulation observées par Gagnon (1996) pour la même espèce de bryophytes suivaient un patron plutôt linéaire et ce, même après une période d'exposition de 28 jours, soutenant ainsi notre hypothèse que le plateau observé lors de l'accumulation serait fonction de la stabilité d'exposition. En conditions instables, l'atteinte de l'état stationnaire serait plus lente et les cinétiques prendraient une allure plutôt variable. La stabilité d'exposition de notre système a aussi permis de caractériser l'accumulation et l'élimination à l'aide de modèles cinétiques de premier ordre. Sans une telle stabilité de la concentration en Cd dans l'eau, nous n'aurions pu appliquer ces modèles, car la concentration en métal dans l'eau y apparaît comme une constante (chapitre 1, équation 1).

Suite à l'application du modèle, nous avons pu déterminer les concentrations de Cd dans les mousses à différentes périodes d'exposition. La comparaison entre ces concentrations calculées suggère qu'une durée de 14 jours serait suffisante lors de l'utilisation de ce biomonitor en milieu naturel. Après cette période, les mousses auraient atteint leur capacité maximale d'accumulation du Cd.

Les facteurs de bioconcentration calculés à partir des constantes d'accumulation et d'élimination ont montré le potentiel hors du commun des bryophytes à accumuler les métaux. Ces valeurs sont dans le même ordre de grandeur que d'autres facteurs calculés de manière similaires pour les bryophytes (Gonçalves et Boaventura 1998).

Lors de l'élimination, les concentrations de Cd dans les mousses ne sont pas retournées à la valeur de base (chapitre 1, tableau 4). Ce phénomène, qui a été décrit par d'autres auteurs comme étant un effet-mémoire (Beaudin *et al.* 1991), permettrait de suivre une

contamination antérieure d'une rivière. Par exemple, lorsque la contamination de l'eau n'a été que sporadique ou est tout simplement terminée. L'adéquation entre le modèle qui a permis de calculer ces concentrations après élimination et les données expérimentales étant parfois limitée (chapitre 1, tableau 4), ces données gagneraient toutefois à être confirmées par une phase d'élimination beaucoup plus longue.

**ANNEXE B****Résumé français du chapitre 2****CHAPITRE 2**

Influence of current velocity on cadmium accumulation by an aquatic  
moss and the consequence for its use as a biomonitor

## INTRODUCTION

L'accumulation des métaux par les bryophytes peut être influencée par plusieurs paramètres. Un de ces paramètres, qui a été décrit comme un possible déterminant de l'accumulation (Mouvet 1987), est la vitesse de courant. Bien que ce paramètre n'ait pas été étudié isolément, il semble y avoir une différence au niveau de l'accumulation des métaux par les bryophytes en fonction du régime d'écoulement des eaux (André et Lascombe 1987, Claveri 1995, Gonçalves *et al.* 1992, Mouvet 1987, Say et Whitton 1983). Lors de l'utilisation des mousses aquatiques comme biomonitor pour l'étude de la dispersion des contaminants dans l'environnement, la connaissance de l'effet des paramètres importants sur l'accumulation devient essentielle. En effet, la sur- ou sous-estimation des concentrations de contaminants dans l'eau peut provenir d'une mauvaise connaissance de facteurs déterminants pour l'accumulation par les bryophytes.

L'accumulation des métaux par les bryophytes a été décrite comme étant la succession de deux phénomènes : l'adsorption et l'absorption. Alors que l'adsorption ne se résume qu'à la fixation du cation métallique à la surface des feuilles des bryophytes, l'absorption implique le passage de ce même métal vers l'intérieur de la cellule.

Une augmentation potentielle de l'accumulation en régime d'écoulement plus rapide pourrait s'expliquer par une adaptation de la deuxième Loi de Fick, qui décrit le passage d'un ion à travers une couche de diffusion de nature et d'épaisseur donnée. En assumant la présence d'une couche limite de diffusion (CLD) d'épaisseur variable selon le régime d'écoulement à la surface des feuilles de bryophytes, nous pourrions expliquer une éventuelle variation de l'accumulation en fonction de la vitesse du courant. En effet, selon

l'équation 1 décrite au chapitre 2, une modification de l'épaisseur de la CLD entraînerait une modification du flux ionique vers les sites de fixation extracellulaires, entraînant ainsi une accumulation plus importante par les bryophytes en situation de courant plus élevé et ce, pour une même concentration du contaminant dans l'eau. Cette augmentation du flux ionique serait causée par un amincissement de la CLD, dont l'épaisseur serait inversement proportionnelle à la vitesse de courant.

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer la contribution de la vitesse de courant dans l'accumulation des métaux par les bryophytes et plus spécifiquement, d'évaluer l'accumulation du Cd à différentes vitesses de courant, tant en laboratoire qu'en rivière.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé a été prélevé au même endroit et selon la même méthode que celle qui a été utilisée lors de l'expérience décrite au chapitre 1.

### Expérience en laboratoire

Les bryophytes ont été exposées à 8 vitesses de courant, soit : <0.01, 0.05, 0.10, 0.15, 0.25, 0.35, 0.55 et 0.70 m s<sup>-1</sup>. Le courant était généré par deux pompes à haut débit pour un déplacement total d'environ 920 L min<sup>-1</sup>. La concentration de Cd dans l'eau et la température était identique pour chaque traitement, soit respectivement 1 µg l<sup>-1</sup> de Cd et 16°C. L'eau utilisée pour l'expérience était de l'eau de distribution déchlorée sur lit de charbon actif.

L'exposition des mousses s'est faite dans des tuyaux de PVC, coupés sur la longueur pour

en faire des canaux ouverts. Les mousses étaient fixées par leur partie basale au fond de chaque tuyau à l'aide d'un dispositif en acier inoxydable (chapitre 2, figure 1). Des triplicatas de mousses ont été prélevés au début de l'expérience, ainsi qu'après 24, 48, 120, 192, 264 et 336 h. La température, le pH, la conductivité, ainsi que les concentrations de Cd, Ca, Mg, Na et K ont été mesurés de façon journalière dans l'eau. De plus, la concentration de Cd dans l'eau a été suivie dans chaque enceinte expérimentale, pour confirmer que la concentration était la même pour chacun des traitements.

### **Expérience en rivière**

Cette partie de l'étude s'est déroulée dans la région minière de Rouyn-Noranda. Dans cette région, il est possible d'effectuer une expérience dans une rivière aux conditions physico-chimiques naturelles, tout en ayant des concentrations de métaux traces légèrement plus élevées que la normale, facilitant ainsi leur dosage. L'apport de ces métaux dans l'environnement provient en grande partie de la déposition atmosphérique de résidus de la transformation des métaux dans la ville de Rouyn-Noranda. L'expérience a été menée dans un ruisseau situé près de cette ville, le Cours d'eau Stitchman ( $48^{\circ} 13' 11''$ N,  $78^{\circ} 48' 53''$ W). Les mousses ont été placées dans des dispositifs d'exposition tubulaires, placés parallèlement à l'écoulement de l'eau et fixés dans le lit de la rivière. Les quatre dispositifs ont été placés à différentes vitesses de courant, soit : 0.05, 0.10, 0.25 et  $0.50 \text{ m s}^{-1}$  pendant deux semaines. Ces dispositifs (chapitre 2, figure 1) devaient permettre une exposition stable dans le temps en évitant de subir les modifications des zones de turbulence associées aux moindres changements de niveau de l'eau de la rivière. Des triplicatas d'échantillons de mousses ont été prélevés au début de l'expérience, ainsi qu'après 24, 72, 144, 240 et 336

h. Immédiatement après l'échantillonnage, les mousses étaient rincées sous un puissant jet d'eau de la rivière et par la suite, sous un faible jet d'eau déminéralisée.

Les échantillons d'eau ont été prélevés à l'aide de dialyseurs, permettant ainsi d'obtenir, après équilibration, un échantillon représentant parfaitement la fraction dissoute des substances à l'étude. Des échantillons ont été prélevés après 72, 144, 240 et 336 h directement à l'intérieur des dialyseurs. Ces échantillons d'eau ont servi au dosage de Cd, Ca, Mg, Na et K. Les autres paramètres physico-chimiques, tels le pH, la température et la conductivité ont été mesurés au début et après 24, 72, 144, 240 et 336 h.

### **Suivi physico-chimique**

Pour l'expérience en laboratoire, les concentrations de Cd dans les mousses ont été mesurées par absorption atomique sur flamme air-acétylène, tandis que ces mesures étaient effectuées en four au graphite pour les mousses issues de l'expérience en rivière. Les grandes différences de concentrations en Cd pour ces deux expériences sont à la base de ce choix méthodologique. Pour ce qui est du suivi du Cd dans l'eau, ainsi que de la minéralisation, la procédure décrite au chapitre 1 a été appliquée. Pour ce qui est du suivi des cations majeurs, les analyses ont été effectuées par ICP.

### **Contrôle de qualité**

La procédure de contrôle de qualité a été identique à celle décrite au chapitre 1.

### **Analyse des données**

Pour déterminer si le courant a un effet sur l'accumulation du Cd en laboratoire et en rivière, nous avons comparé les données issues de chacun des traitements à l'aide d'une

analyse de covariance (ANCOVA), en plaçant le temps en covariable et en utilisant des données transformées en logarithme dans le but de linéariser la relation Cd-temps. En laboratoire, nous avons comparé les concentrations en Cd dans chacun des traitements à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis (K-W) pour s'assurer de l'homogénéité du système.

## RÉSULTATS

### Expérience en laboratoire

En laboratoire, l'exposition des mousses s'est faite en conditions expérimentales très stables (chapitre 2, tableau 1). Nous n'avons trouvé aucune différence significative entre les concentrations en Cd dans l'eau pour chacun des traitements (K-W,  $p>0.05$ ). Pour la comparaison des concentrations en Cd des mousses selon les traitements, l'analyse de covariance n'a révélé aucune différence significative (ANCOVA,  $p>0.05$ ), révélant ainsi l'absence d'effet de la vitesse de courant sur l'accumulation en laboratoire pour la gamme de vitesses étudiées. La superposition des cinétiques d'accumulation de chacun des traitements (chapitre 2, figure 3) suggère elle aussi l'absence d'un tel effet.

### Expérience en rivière

En conditions naturelles, nous avons aussi observé une relative stabilité des paramètres d'expositions (chapitre 2, tableaux 1 et 2). Là encore, les cinétiques d'accumulation se superposent, suggérant l'absence d'effet provenant de la vitesse de courant. L'analyse de covariance le confirme : le courant n'a pas d'effet sur l'accumulation du Cd par ces mousses aquatiques pour la gamme de vitesses expérimentées (ANCOVA,  $p>0.05$ ).

## DISCUSSION

Comme le suggèrent nos résultats, la vitesse de courant n'aurait qu'un effet très limité, voire inexistant, sur l'accumulation du Cd par la mousse aquatique *Fontinalis dalecarlica*. Tant en laboratoire qu'en rivière, nous n'avons observé aucune relation entre la vitesse de courant et l'accumulation du Cd.

Nos résultats vont à l'encontre d'une partie de la littérature en ce domaine, qui suggérait la présence de l'effet d'un tel paramètre sur l'accumulation des métaux (André et Lascombe 1987, Claveri 1995, Gonçalves *et al.* 1992, Mouvet 1987, Say et Whitton 1983). Il est possible d'expliquer cette différence par le fait que ces auteurs ne considéraient pas ce paramètre de façon isolée ou encore, associaient, jusqu'à confondre, une différence de vitesse de renouvellement du milieu d'une enceinte expérimentale comme une différence de courant (Claveri 1995). Nous avons observé qu'un régime d'écoulement plus lent fait en sorte que la surface des mousses est recouverte d'une mince couche de matières en suspension qui disparaît après lavage. Malgré cette accumulation et la possibilité d'un ralentissement de la diffusion ionique, l'accumulation du Cd par les bryophytes n'est pas affectée, suggérant encore une fois que l'étape limitante de l'accumulation n'en est pas une de surface.

L'absence d'effet de la part de la vitesse de courant nous permet de mieux comprendre le mode d'accumulation du Cd par les bryophytes. En effet, si une modification de la CLD ainsi qu'un colmatage par les matières en suspension n'ont aucun effet sur l'accumulation du Cd, il se pourrait que l'étape limitante dans le processus d'accumulation ne soit pas l'adsorption. Si cette première étape, qui n'est en fait qu'un phénomène de surface, n'est

pas l'élément limitant, il est probable que l'accumulation du Cd par les bryophytes soit plutôt fonction de la deuxième partie de l'accumulation soit, l'absorption. Si l'étape limitante de l'accumulation est effectivement l'absorption, alors une modification par le courant de l'adsorption deviendrait alors imperceptible.