

Université du Québec

Mémoire présenté à:

Université du Québec à Trois-Rivières

comme exigence partielle

de la maîtrise en sciences de l'environnement

par

Ghislain Samson

**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**

Août 1995

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.

REMERCIEMENTS

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mon co-directeur de recherche, le docteur Guy Vaillancourt pour son support moral, sa patience, ses encouragements et ses discussions éclairantes tout au long de ce projet.

Je suis également redevable au docteur LeRoy Pazdernik, co-directeur, pour le temps et les efforts investis dans cette étude. Ses conseils au niveau des analyses ont été d'une aide inestimable tout en jouant un rôle prépondérant dans ma formation scientifique.

J'exprime aussi mes remerciements les plus distingués aux gens qui m'ont aidé à réaliser et à présenter ce projet sous sa forme actuelle:

aux techniciens de l'U.Q.T.R. Jean-Louis Benoit, Louis Lamontagne et Raymond Thibodeau pour l'aide technique et la logistique;

aux étudiants: Stéphane Bellemare, Martin Dessureault, Claudie Gagnon et Louis Tessier pour leurs suggestions critiques et leurs assistances techniques.

Mes remerciements vont également à Lucie Fortin de l'herbier Marie-Victorin (Université de Montréal) et Claude Roy de l'herbier Louis Marie (Université Laval) pour l'aide apportée lors de l'identification des spécimens de la flore muscinale. De même, à Monsieur David Berryman du Ministère de l'Environnement et de la Faune, sans qui je n'aurais pu débiter un tel projet. Ses conseils et son expérience sur les bryophytes furent des plus appréciés.

Enfin, je ne sais comment témoigner ma gratitude envers les membres de ma famille qui, au cours des trois dernières années ont su me supporter avec acharnement afin de mener à bien ces études de deuxième cycle. Sans leur compréhension, il m'aurait été difficile d'accomplir cette tâche.

AVANT-PROPOS

Le présent mémoire de maîtrise a été rédigé sous forme d'articles scientifiques (règlement 16,4 des études avancées de l'UQTR), en suivant les directives aux auteurs de différents journaux (1994-1995). La liste des tableaux et des figures est présente dans ce manuscrit. Constitué essentiellement de cinq articles soumis ou en vue de l'être à des Revues ou Actes de congrès en relation avec le domaine de recherche, le mémoire comporte également, une introduction et une conclusion générale. La forme suivante a été adoptée pour la rédaction de chaque article:

-TITRE

-RÉSUMÉ (français et anglais)

-INTRODUCTION

-MATÉRIEL ET MÉTHODES

-RÉSULTATS

-DISCUSSION

-RÉFÉRENCES

-TABLEAUX et FIGURES

La majorité des textes est rédigée en français selon l'article 16,27 du Règlement des études avancées. Quant au texte anglais, il se conforme aux dispositifs 16,27 à 16,31 tels que définis dans le Règlement des études avancées de l'U.Q.T.R.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
REMERCIEMENTS	i
AVANT-PROPOS	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES TABLEAUX	iv
LISTE DES FIGURES	vi
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
Problématique générale	
Description du projet	
Objectifs généraux	
RAPPEL MÉTHODOLOGIQUE	6
ARTICLES:	
Détermination de la capacité d'accumulation métallique de quelques bryophytes autochtones au Québec. <i>Proceedings of the 21St Annual Aquatic Toxicity Workshop, Samia Ontario, Octobre 1994</i>	17
The kinetics of cadmium bioaccumulation by two aquatic mosses indigenous to Quebec. <i>Proceedings of Waste Management International, Tucson Arizona, Mars 1995</i>	31
Évolution temporelle des métaux biologiquement essentiels de la flore muscinale lors d'une contamination et d'une décontamination. (à soumettre) <i>Environmental pollution</i>	50
Évaluation du pouvoir complexant du EDTA lors d'études <i>in vitro</i> de la bioaccumulation du cadmium sur des bryophytes. (à soumettre) <i>The Canadian Field Naturalist</i>	70
Performance des mousses ensachées comme traceur de la contamination métallique dans le haut estuaire du Saint-Laurent. (à soumettre) <i>Vecteur Environnement</i>	94
CONCLUSION GÉNÉRALE	125
RÉFÉRENCES	128
ANNEXES	135

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1. Mousses utilisées et localisation des sites de prélèvement.
- Tableau 2. Concentrations des métaux dans les mousses d'une rivière non polluée.
- Tableau 3. Concentrations en cobalt et en cuivre dans les mousses.
- Tableau 4. Comparaisons entre la concentration métallique dans les feuilles et la plante entière.
- Tableau 5. Résultats des paramètres cinétiques pour l'accumulation du Cd dans les bryophytes.
- Tableau 6. Résultats de l'ANOVA pour *F. dalecarlica*.
- Tableau 7. Résultats de l'ANOVA pour *P. riparioides*.
- Tableau 8. Matrice de corrélation de Pearson des éléments essentiels pour *F. dalecarlica*.
- Tableau 9. Matrice de corrélation de Pearson des éléments essentiels pour *P. riparioides*.
- Tableau 10. Facteurs de bioconcentration de *F. dalecarlica* pour les aquariums sept (10), huit (25), neuf (50) et dix (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmium).

Tableau 11. Facteurs de bioconcentration de *P. riparioides* pour les aquariums sept, (10), huit (25), neuf (50) et dix ($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmium).

Tableau 12. Fréquence de l'échantillonnage sur le fleuve Saint-Laurent.

Tableau 13. Valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques selon les stations.

Tableau 14 Concentrations moyennes des éléments présents dans l'eau du fleuve pour les différentes stations (20 jours).

Tableau 15 Normes métalliques acceptables pour l'eau brute (prise d'eau domestique) au Canada.

Tableau 16 Concentrations moyennes des éléments présents dans les mousses ensachées pour les stations un à six durant les 20 jours d'exposition.

Tableau 17. Facteurs de bioconcentration (FBC) pour certains métaux selon les stations.

Tableau 18. Facteurs de bioconcentration (FBC) du Zn pour les mousses nouvelles et anciennes.

Tableau 19. Matrices de corrélation de Pearson entre métaux dans *F. dalecarlica* pour les six stations.

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Histogramme des métaux peu abondants.
- Figure 2. Histogramme des métaux abondants.
- Figure 3. Schéma du système expérimental utilisé.
- Figure 4. Concentrations en Cd dans l'eau durant la phase d'intégration.
- Figure 5. Patron d'accumulation du Cd par *F. dalecarlica* avec et sans EDTA.
- Figure 6. Patron d'accumulation du Cd par *P. riparioides* avec et sans EDTA.
- Figure 7. Photographie de *F. dalecarlica* Schimp ex. B.S.G..
- Figure 8. Photographie de *P. riparioides* (Hedw.) Dix.
- Figure 9. Molécule d'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium (EDTA).
- Figure 10. Concentrations en Cd⁺⁺ dans l'eau lors de l'accumulation.
- Figure 11. Concentrations des ions Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺ dans l'aquarium un.

Figure 12. Courbes de titrage à rebours avec EDTA en fonction du temps pour l'aquarium un.

Figure 13. Évolution temporelle du pH dans les divers aquariums.

Figure 14. Représentation schématique des interactions physiques entre une cellule musculaire, le pH et le métal.

Figure 15. Représentation schématique du montage utilisé pour les mousses ensachées.

Figure 16. Méthode de prélèvements des mousses ensachées.

Figure 17. Formules permettant le calcul des facteurs de bioconcentration (FBC).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis quelques décennies, un nombre croissant de substances toxiques est rejeté dans l'environnement principalement dans les secteurs fortement peuplés et hautement industrialisés. Longtemps utilisée comme dépotoir, notre ressource hydrique est davantage taxée par des composantes issues des technologies nouvelles. À cet égard, les substances métalliques toxiques, particulièrement les métaux lourds, constituent une menace réelle parce qu'elles peuvent affecter les écosystèmes diminuant ainsi la productivité et la qualité de vie. En conséquence, l'étude des réactions en milieu aquatique est indispensable et l'application des correctifs et des traitements nécessaires est certes urgent.

Un des principaux inconvénients relié à l'analyse des métaux lourds en milieu aquatique réside dans leurs faibles concentrations; ceux-ci généralement présents en deçà de la limite de détection représentent une menace importante pour l'environnement. De plus, leur présence sous forme colloïdale ou chélatée dans le sédiment ou dans l'eau contribue aux difficultés de l'analyse (Empain, 1976). Il faut envisager l'utilisation d'une autre méthode et l'avenue la plus intéressante se trouve dans les traceurs.

Le concept de détérioration des eaux est assez complexe et s'explique souvent suite à une série de modifications de ses caractéristiques qui, directement ou indirectement, proviennent d'agents extérieurs. Pour contrer ce problème toujours grandissant, il importe d'utiliser des dispositifs qui, tout en demeurant simples au niveau de

l'échantillonnage, permettent d'obtenir le maximum d'informations sur la contamination des sites (André et Lascombe, 1987).

Jusqu'à maintenant, différents bioindicateurs ont été suggérés et il semble que leur efficacité varie selon le capteur choisi. Par exemple, le fait d'utiliser des macro-invertébrés a comme contrainte la présence de mécanismes pouvant bloquer l'accumulation des métaux lourds lorsqu'un certain niveau de contamination est atteint (Mouvet, 1986). Considérant leur mobilité, la difficulté de les échantillonner et leur incapacité à supporter des niveaux élevés de pollution, les poissons adultes ne sont pas considérés comme des indicateurs valables (Bevenue, 1976; Mouvet *et al.*, 1985). Quant à l'emploi des phanérogames aquatiques pour mesurer la contamination, il semble peu probant puisque les concentrations varient en fonction de l'organe utilisé (tige, feuille, fleur,...) (Mouvet, 1986).

Selon Phillips (1980), tout indicateur biologique de bio-accumulation pour être idéal, doit répondre à un certain nombre d'exigences: posséder un bon pouvoir d'accumulation, être ubiquiste et suffisamment abondant, être sédentaire, résister à de très fortes concentrations d'éléments toxiques variés, avoir une taille, un biotope et un comportement qui faciliteront le prélèvement, être présent à un endroit donné pendant plusieurs années afin de suivre l'évolution de la pollution et de la dépollution dans l'échelle du temps, présenter une corrélation simple entre sa concentration en polluants et celle de l'eau environnante (ceci suppose que l'organisme ne peut métaboliser, ni synthétiser l'élément recherché).

Les bryophytes ont reçu une attention sans cesse croissante pour l'analyse des métaux, particulièrement dans les zones minières (Agneta et Burton, 1990). Ces organismes présentent un intérêt certain pour l'estimation des pollutions (Empain, 1973 et 1974; Mouvet, 1987; Berryman, 1990). Les mousses sont des biomoniteurs de substances toxiques dont les tissus peuvent servir à étudier la contamination du milieu par les polluants (Berryman et Richard, 1992). Elles concentrent les métaux à partir de l'eau (par échanges ioniques) d'où la simplicité relative et le coût limité des analyses (Mouvet, 1987).

Considérant que l'accumulation des métaux varie chez différentes espèces de mousses (Gjengedal et Steinnes, 1990) il nous apparaît important d'utiliser deux mousses aquatiques différentes, *Fontinalis dalecarlica* Schimp ex. B.S.G. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix. en s'appuyant sur les faits résumés ci-après: la première représente une mousse pérenne ayant une reproduction largement asexuée (Glime, 1982, données non-publiées). On la retrouve dans des cours d'eau à courant assez élevé; *F. dalecarlica* se reconnaît facilement à sa couleur tournant du vert au brun et finalement noir durant la période hivernale (Fornwall et Glime, 1982) . Son utilisation se justifie principalement par sa biomasse élevée pour les dosages. Ajoutons que celle-ci fut employée par Forsberg *et al.* (1988) pour retracer le cadmium dans l'environnement. L'espèce *P. riparioides*, vit principalement dans les petits cours d'eau et cascades où elle colonise le dessus des roches (Crum et Anderson, 1981). Une abondante littérature la qualifie d'excellente bioaccumulatrice. Elle est indifférente à la nature du substrat, à l'agitation et à la turbidité de l'eau (Foulquier et Hébrard, 1976). En plus de sa large distribution, sa présence dans certains cours d'eau du Québec font d'elle un choix judicieux.

Considéré comme un des métaux lourds les plus toxiques (Taylor, 1983; Désilets et Langlois, 1989), le cadmium a fait l'objet de cette étude. La toxicité qu'engendre le cadmium est telle qu'il fut, au cours des ans, considéré comme potentiellement dangereux pour la majorité des organismes biologiques (Goulet et Laliberté, 1982; Robinson et Ryan; 1986). À l'état naturel, on le trouve sous forme de greenockite (CdS). Bien qu'il soit peu abondant dans la croûte terrestre, on retrouve le cadmium en quantité appréciable dans l'environnement, relargué généralement par l'industrie minière, l'électroplacage, les peintures, les accumulateurs, les matières plastiques et par certaines fonderies. L'emploi de combustibles fossiles et de pesticides contribue également à sa présence dans le milieu.

Considérant le manque d'informations quant à la présence de mousses dans les cours d'eau du Québec et leurs capacités à accumuler les métaux, nous avons fait une prospection du milieu pour trouver différentes espèces de mousses et mesurer leur potentiel accumulateur.

Afin d'évaluer et de comparer le potentiel d'utilisation des mousses aquatiques à titre de traceurs de la contamination barymétrique, nous proposons dans cette étude de vérifier, en laboratoire, la cinétique d'accumulation et d'élimination du cadmium (0, 10, 25 et 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) en présence et en absence d'un agent complexant, soit l'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium (EDTA). Pour réaliser cet objectif, nous avons étudié ces processus sur deux bryophytes: *F. dalecarlica* et *P. riparioides*. Celles-ci provenaient de milieux semblables et furent comparées afin d'évaluer la performance de chacune d'elles à titre de bioindicateur de la pollution des eaux.

L'hypothèse, selon laquelle le genre *Platyhypnidium* serait plus performant que *Fontinalis* a pu être vérifiée même si selon Smith (1986), l'effet "espèce" est assez contradictoire. Par la suite, nous avons déterminé, *in vitro*, l'effet possible du Ca, Mg, K, Na et Zn, éléments essentiels sur le taux d'accumulation du cadmium par les bryophytes. Certains éléments peuvent entraver les processus naturels des végétaux. Enfin, les travaux ont consisté à étudier la performance des traceurs placés dans les eaux contaminées du fleuve Saint-Laurent. Notre étude *in vivo* servait à entériner la méthode des mousses ensachées dans un grand cours d'eau. Ainsi, nous avons suivi pendant 20 jours, l'accumulation des métaux suivants: Al, Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni et Zn.

RAPPEL DES MÉTHODES

À cause de la complexité du matériel et des méthodes utilisés, nous décrivons ci-après, les méthodologies retenues pour réaliser le protocole expérimental.

MATÉRIEL

Les mousses du genre *Fontinalis* ont été récoltées durant la saison estivale 1993 dans la petite rivière Caché située dans la portion sud de la réserve faunique des Laurentides. Le site représente un milieu ouvert bordé principalement par *Alnus rugosa*. La rivière, à débit moyen, est caractérisée par un fond sablonneux parsemé de roches de grosseurs variées offrant ainsi aux mousses, emprise et support. Quant à *Platyhypnidium*, celle-ci provenait d'une petite cascade en bordure de la rivière St-Charles dans la localité de Loretteville. Les roches calcaires caractérisent ce milieu riche en mousses. Toutefois, les mousses ayant servi pour l'expérimentation *in vivo* provenaient d'un petit ruisseau situé dans la portion nord de la réserve Mastigouche à St-Alexis-des-Monts (Québec).

La méthode de cueillette des mousses s'inspire de celle utilisée par Mouvet (1986), la principale condition à respecter étant un nettoyage efficace de celles-ci. Une série de lavages successifs a permis de les débarrasser des invertébrés, de la matière en suspension et d'autres corps étrangers (Mouvet, 1987). Les mousses étaient acheminées au laboratoire pour y être acclimatées à la température de ce dernier soit 18-20°C. Notons qu'une mousse ramassée durant la saison chaude aura moins de difficulté à s'adapter à la température du laboratoire qu'une mousse cueillie en automne (Saitoh *et al.*, 1970; Glime, 1982). De plus, la période d'échantillonnage

devait être courte pour éviter les variations saisonnières (Söderlund *et al.*, 1988).

La conservation des spécimens s'est effectuée à l'aide d'un bassin rectangulaire en fibres de verre (1 x 2.5 mètres). Un système pressurisé permettait la circulation de l'eau. La température de l'eau était contrôlée et maintenue par un dispositif de refroidissement au glycol. Un ajout d'eau se faisait au besoin pour s'assurer de sa qualité et contrer l'évaporation. Des fluorescents rosés à larges spectres lumineux assuraient l'éclairage pour la croissance et le maintien en vie des espèces étudiées.

MÉTHODES

1. Analyse de l'eau

Lors de la cueillette en milieu naturel et pour chacun des prélèvements en laboratoire, différents paramètres physico-chimiques (température, conductivité, oxygène dissous, pH et potentiel d'oxydo-réduction) furent mesurés à l'aide de l'hydrolab de type Surveyor II (modèle SVR 2). Des échantillons d'eau étaient recueillis dans des contenants de polyéthylène ou de verre ayant préalablement été nettoyés avec une solution de 20% v/v Aristar HNO₃ et rincés à l'eau distillée (Caines *et al.*, 1985; Mouvet, 1986). Quelques gouttes (environ 1%) d'acide nitrique ont été ajoutées à l'eau pour éviter l'adsorption des métaux sur les parois du contenant (Mouvet, 1986). Mance (1987) recommande que cet ajout soit fait immédiatement après l'échantillonnage; un délai important causerait des altérations substantielles au niveau de la forme chimique. Par la suite, les échantillons d'eau étaient transportés sur de la glace jusqu'au laboratoire. L'eau fut conservée à 4° C et filtrée sur 0,45 µm avant l'analyse (Mouvet, 1986). On considère que les particules inférieures à ce

diamètre faisaient partie de la phase dissoute.

Durant la campagne de prélèvements sur le fleuve, on retirait un sachet de chaque implant. De plus, un échantillon d'eau était pris pour l'analyse des métaux. Les différentes conditions hydrauliques du couloir fluvial (température, pH, conductivité et oxygène dissous) ont été mesurées à l'aide d'appareils multi-fonctionnels (Hanna instruments Model HI 9025 et HI 9033). Quant à l'oxygène dissous, ses données furent générées à partir d'un appareil YSI (Model 58).

2. Concentrations employées

Pour l'étude *in vitro*, les concentrations en cadmium ont été fixées à 0,10, 25 et 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Des standards certifiés de cadmium (CdCl_2) furent employés (Fisher Co.). EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique de disodium) a été choisi pour ses capacités de complexation et sa facilité d'utilisation. En effet, Mouvet (1987) suggère une concentration en EDTA égale à 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pour simuler le plus fidèlement possible le pouvoir de complexation du milieu naturel.

3. Biomasse utilisée

Chaque système a subi une saturation en métaux selon la concentration choisie afin qu'il y ait adsorption sur les parois et stabilité du milieu (Thain, 1984). Cette situation prévalait pour une période d'environ dix jours. Par la suite, l'eau était renouvelée, contaminée de nouveau et la biomasse de mousses nécessaire à la durée de

l'expérimentation, ajoutée. Pour les neuf premiers aquariums, on introduisit 720 grammes de *Fontinalis* et de *Platyhypnidium* dans chacun d'eux alors que pour le dixième, 520 grammes ont suffi; le temps d'exposition étant moindre (240 heures).

4. Cinétique

4.1 Phase d'accumulation

Le mécanisme d'absorption des métaux lourds chez les bryophytes est assez complexe et résulte de processus physiques, chimiques et biochimiques. Or, cette étape a permis de connaître et de mieux comprendre la façon dont les mousses réagissent suite à une augmentation des concentrations de cadmium dans l'eau.

Un montage expérimental, basé sur celui de Mouvet (1986), a été mis au point de manière à simuler les conditions naturelles du milieu. Le système est simple et privilégie l'écoulement gravitationnel plutôt que mécanique. Un contrôle manuel permettait de maintenir le débit constant dans ce système dynamique. L'addition d'une substance de synthèse était rendue nécessaire dans certains aquariums pour complexer les métaux, en diminuer la disponibilité aux organismes accumulateurs et pouvoir quantifier son effet. EDTA a été préféré aux acides humiques et autres matières en suspension en raison de sa facilité d'utilisation.

À chaque temps de retraits soit 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288, 336, 384, 432, 480, 528, 576, 624 et 672 heures, on prélevait dans les différents

aquariums, la biomasse nécessaire aux trois réplicats (neuf grammes humides) et ce pour les deux genres étudiés. Cette cadence a permis de disposer d'un maximum de renseignements pendant la période initiale où l'accumulation est la plus rapide et de suivre l'évolution des éléments à long terme. Pour s'assurer de l'homogénéité des concentrations en cadmium, chacune des enceintes expérimentales de 30 litres contenait les deux genres étudiés. Ainsi, chaque système avait les mêmes caractéristiques permettant d'avoir une plus grande justesse au niveau des concentrations et des résultats obtenus.

Dans cette série d'aquariums, nous avons étudié la cinétique d'accumulation et de relargage du cadmium. L'alimentation en eau des aquariums nécessitait l'utilisation de huit bassins de 220 litres chacun selon les concentrations étudiées. Notons toutefois que les mousses présentes dans l'aquarium dix ont subi l'effet du cadmium pour une période de dix jours seulement.

(Pour montage voir deuxième article, Fig. 1)

Lors des prélèvements, les principaux paramètres physico-chimiques étaient mesurés. De plus, deux témoins (avec et sans agent complexant) ont permis de comparer les résultats. Dans cette première partie expérimentale, nous avons calculé un facteur de bioconcentration (Bryan, 1983; Taylor, 1983):

$$FBC = \frac{[Mousse] - [Témoin]}{[Eau]}$$

où [] = concentration de cadmium dans la mousse ou dans l'eau

Ce dernier rend possible la vérification de la performance des mousses à titre de bioaccumulateur en milieu dynamique. Un tel facteur peut également être employé pour corrélations entre différents métaux, différentes mousses, en milieu naturel et en laboratoire. Des comparaisons de moyennes des concentrations pour les différents temps d'exposition ont été effectuées à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA).

4.2 Phase d'élimination

Une fois la période d'accumulation terminée, les mousses ayant subi l'effet du cadmium pendant 28 jours (672 heures) furent immergées dans une eau exempte de contaminant pour vérifier leur capacité de décontamination en présence et en absence du EDTA, selon le cas. L'ensemble des procédures effectuées précédemment pour la phase d'accumulation fut reprise ici. Cependant, les temps de prélèvements ont été prolongés jusqu'à 960 heures (40 jours).

4.3 Accumulation et élimination pour l'aquarium 10

Les bryophytes de l'aquarium dix ($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ sans EDTA) nous ont permis de suivre l'évolution du cadmium dans ces organismes ayant subi l'accumulation pendant dix jours seulement. Après 240 heures d'intégration, elles ont été nettoyées à l'eau distillée puis, soumises à une phase de décontamination. Les prélèvements furent réalisés aux temps suivants: 0, 1,5, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288, 336, 384, 432, 480, 528, 576, 624, 672, 720, 768, 816, 864, 912, 960 et 1440 (60 jours).

Conditions à respecter

Lors de la conservation des spécimens de même que durant l'expérimentation, certaines précautions sont essentielles:

1-s'assurer d'être en présence d'eau déchlorée; le chlore peut tuer certaines bryophytes (Mouvet, 1986);

2-maintenir l'intensité lumineuse et la photopériode constantes durant une même série d'essais. Si possible, celles-ci sont ajustées aux conditions naturelles qui prévalent au moment où la cueillette des mousses est effectuée de façon à éviter une modification probable de la physiologie de la plante.

3-ajuster la température de l'eau à celle qui prévaut dans la nature.

5.Technique des mousses ensachées

Les principaux avantages de cette méthode résident dans l'uniformité et le temps d'exposition bien défini, la flexibilité du site et la grande disponibilité dans le milieu naturel (Tyler, 1990). Toutefois, selon Berryman et Richard (1992), le Québec rencontre deux problèmes en ce qui concerne l'utilisation des mousses aquatiques, soit:

- la difficulté à trouver des mousses autochtones,
- la grande variabilité des données.

Deux raisons pourraient expliquer la rareté de certains genres de mousses. D'abord, l'abrasion des glaces et, en second lieu, une prospection limitée du milieu. Mouvet (1984) considère que l'absence des mousses aquatiques est souvent reliée à un manque de substrats adéquats, d'où la nécessité d'employer la technique des mousses transférées (Tyler, 1990). Pour certains, dont Mouvet (1986), cette façon de faire n'est pas une alternative mais plutôt un choix qui permet de contrôler des facteurs tels l'hétérogénéité spécifique et la durée d'exposition; d'ailleurs, l'utilisation de cette méthode est aujourd'hui en pleine expansion en Europe.

Les mousses ensachées ont été utilisées pour la première fois par Goodman et Roberts (1971) et l'application de cette technique a constitué l'étape finale du projet. Une fois en possession d'une quantité suffisante de mousses, elles ont été lavées et comprimées pour éliminer l'excès d'eau. Par la suite, elles furent placées à l'intérieur de sacs de papier jusqu'au retour au laboratoire (Mouvet *et al.*, 1986b).

Pour l'ensachage, des sachets contenant les organismes bioaccumulateurs ont été fabriqués à partir de moustiquaire de nylon et un fil à pêche en assurait la fermeture. Des petits cailloux étaient placés à l'intérieur pour les garder immergés. Environ dix grammes de mousses humides étaient nécessaires pour chaque pochette afin d'en extraire un gramme en poids sec pour les trois réplicats. Les dimensions des sachets étaient de 12 x 15 centimètres. Berryman et Richard (1992) recommandent de ne placer que les parties comportant du feuillage vert à l'intérieur des pochettes puisque l'accumulation des métaux est un phénomène de surface (feuilles).

Les mousses allochtones ont subi une immersion d'une durée d'environ trois semaines dans les eaux du St-Laurent afin de quantifier leur capacité de bioaccumulation. Nous espérons ainsi obtenir des valeurs enregistrées qui soient représentatives même si, selon Mouvet (1986), l'accumulation est en général significative dès les premiers jours. Durant cette période, des prospections régulières étaient faites de manière à vérifier l'état du dispositif et de procéder, s'il y avait lieu, au nettoyage du grillage (Mouvet, 1986). Cette précaution devenait importante car elle favorise de meilleurs échanges entre les mousses et l'eau (Mouvet, 1987).

5.1 Phase d'accumulation des métaux *in situ*.

Nous avons utilisé *F. dalecarlica* pour cette portion expérimentale. Les mousses ensachées ont été introduites dans le milieu le 21 juillet 1994. Six stations ont permis la récolte de données sur l'accumulation de divers métaux (Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni et Zn). La période de prélèvements comprenait sept temps incluant le temps zéro. Les intervalles entre les divers prélèvements étaient de deux jours, au départ, puis de quatre jours par la suite. (Voir article sur fleuve Tableau 1. et Figure 2.)

Certains échantillons n'étaient pas ensachés et furent conservés à l'état sec pour une analyse ultérieure, constituant ainsi le témoin capable d'indiquer les concentrations métalliques initiales (Mouvet, 1986).

6. Minéralisation

Jusqu'à présent, plusieurs protocoles expérimentaux sur la digestion des tissus ont été publiés (Mouvet, 1983; Wehr *et al.*, 1983b; Pensel, 1984) et ils sont généralement basés sur une attaque nitrique et/ou perchlorique (Mouvet, 1986).

Chaque échantillon fut méticuleusement lavé à la main dans l'eau déminéralisée; cette façon de faire étant moins dommageable que la méthode sous pression selon Wehr *et al.* (1983). Habituellement, les pertes en métaux dues à un tel lavage sont de l'ordre de 5% (Pickering et Puia, 1969; Mouvet, 1980). Les sous-échantillons ont subi indépendamment l'ensemble de la procédure d'analyses (Mouvet, 1991). Dans un premier temps, la mousse était séchée à l'étuve à 110° C pendant 12 heures. Par la suite, elle fut pesée au milligramme près à l'aide d'une balance de précision. À noter que les échantillons secs peuvent être conservés jusqu'au moment de l'analyse sans précautions particulières si ce n'est de les placer à l'abri de l'humidité et de la poussière, exception faite pour le mercure (Mouvet, 1986). Pour chaque échantillon, 300 milligrammes en poids sec de mousses étaient introduits dans un tube à usage unique auquel on ajoutait de l'acide nitrique HNO₃ (d=1,400) à 70%. L'attaque nitrique ainsi effectuée permettait une libération suffisante des métaux (Wehr, 1983). Les échantillons furent conservés à la température du laboratoire pendant quelques heures et durant laquelle la pré-digestion a débutée. Cette procédure limitait les risques d'éclaboussure lors du chauffage. Les tubes étaient par la suite déposés dans un portoir en aluminium et placés sur une plaque chauffante à 105° C pendant une période de 12 heures ou jusqu'à disparition complète de la fumée; la réaction se complétait avec du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (Berryman, 1991). Une fois terminée, on laissait refroidir de manière à provoquer une condensation des vapeurs acides, le

tout dilué et jaugé à 50 millilitres avec l'eau distillée. Un brassage manuel était rendu obligatoire pour homogénéiser les solutions. Finalement, l'échantillon était réfrigéré à 4° C si l'analyse ne pouvait être effectuée dans un délai raisonnable (Wehr *et al.*, 1983b).

6. Analyse (dosage) du cadmium et autres métaux

Les échantillons de Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Na, Mg, Mn, Ni et Zn ont été analysés par spectro-absorption atomique à l'aide d'un spectrophotomètre atomique (Varian) de type AA1275 avec flamme air-acétylène ou acétylène-oxyde nitreux pour certains éléments. Notons ici que, pour l'ensemble des expérimentations, la plante entière était utilisée puisqu'elle révèle une concentration en métaux dans l'environnement pour une période plus longue que si l'on utilise seulement le deux centimètres apical (Wehr et Whitton, 1983a).

Pour l'ensemble des analyses effectuées, environ 15% des échantillons furent divisés en trois sous-échantillons de manière à vérifier la reproductibilité des valeurs enregistrées. Ceci assure une uniformisation des résultats (Tessier *et al.*, 1992).

La vérification et la quantification de la contamination externe (tubes, produits chimiques, etc...) étaient assurées par l'analyse de blancs pour chaque série de minéralisation (Mouvet, 1986). L'utilisation de standards certifiés pour l'eau (Standard Reference Material 1643c) et les mousses (Certified Reference Material BCR No 61) confirme les résultats obtenus lors des dosages.

Détermination de la capacité d'accumulation de quelques bryophytes autochtones au Québec.

Determination of build-up capacity of some indigenous bryophyta in Quebec.

Ghyslain SAMSON, Caroline SCHILTZ, LeRoy PAZDERNIK et Guy VAILLANCOURT.
Laboratoire de recherche sur les communautés aquatiques. Université du Québec à Trois-Rivières, Département de chimie-biologie, C.P. 500, Trois-Rivières (Québec) G9A 5H7, Canada.

RÉSUMÉ

Récemment, un intérêt est porté sur l'utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs, plus spécifiquement pour les substances métalliques. Cependant, peu d'études ont été réalisées jusqu'à maintenant au Québec. Ce projet vise principalement la caractérisation métallique de certains milieux naturels par leurs bryophytes. Il devient impérieux de connaître le pouvoir d'accumulation des mousses utilisées ainsi que les processus qui y sont rattachés. De plus, ces recherches ont permis de justifier leurs utilisations à titre de bioindicateurs pour le suivi de la qualité de l'environnement. Pour réaliser ces objectifs, divers métaux furent analysés à partir des échantillons récoltés. Les résultats obtenus démontrent une contamination au cobalt ($139 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) pour les mousses en provenance de la rivière Caché (Québec). À Loretteville, *Platyhypnidium riparioides* est 300 fois plus concentrée en cuivre que *Brachytecium rivulare* provenant du même site. Le cuivre semble être un élément facilement accumulable par *P. riparioides*; c'est qu'il y a sélectivité selon les espèces. Du côté de Windsor, *Fontinalis nova-angliae* présente les plus fortes concentrations en nickel. Dans cette étude, le calcium, le magnésium et le cuivre ont été caractérisés par leur faible abondance ($> 1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) alors que le cadmium, le chrome, le cobalt, le manganèse, le fer et le nickel étaient peu abondants. À l'exception du calcium et du magnésium, nos résultats corroborent avec

ceux mentionnés dans la littérature quant au contenu métallique dans les feuilles et les tiges (Wehr et Whitton, 1983 a; Mouvet, 1986; Tyler, 1990).

ABSTRACT

A recent interest has been brought up about bryophyta as bioindicators considering their great capacity for storing pollutants, more specifically metallic substances. However, few studies have been undertaken, until now, in Quebec. The aim of this project is the weighing up of the metallic ion content of bryophyta from different regions of the Province of Quebec. Eventhough the majority of the chemical elements are present in the environment, some are in a much larger quantity. Moreover, the bioaccumulation capacity seems to differ depending on the specie, the studied plant part and the metal analysed. To realize this objective, -calcium, magnesium, copper, cadmium, manganese, iron, nickel, cobalt, and chromium- were analysed. Considering that the bryophyta are structured with a very simple vascular system and their leaves only have a single thickness cell and that they don't have roots, the accumulation process is especially centered on ionic exchanges (adsorption); cells having a negative charge when metals are positively charged. Our results show that mosses coming from the Caché River (Quebec) are highly cobalt contaminated. Concerning copper, this element is present in high concentrations at St-Alexis des Monts, Loretteville and Quebec. *Fontinalis dalecarlica* Schimp. ex B.S.G. and *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix. seem to accumulate it more easily than other species; that is because of a selectivity depending on the species. For example in Loretteville, *P. riparioides* is 300 times more copper contaminated than *Brachytecium rivulare* coming from the same site. Except for calcium and magnesium, our results correspond with those mentionned in the litterature if we compare the stems' and leaves' concentrations (Wehr and Whitton, 1983 a; Mouvet, 1986; Tyler, 1990).

INTRODUCTION

Avant l'arrivée de l'ère industrielle, l'homme ne s'était jamais vraiment préoccupé de l'environnement avec lequel il cohabitait. Aujourd'hui, le milieu naturel se retrouve bouleversé par des modifications de ses substances chimiques et minérales. Or, pour suivre ces transformations, on doit faire appel à des organismes de l'environnement qui procurent des informations par leurs réponses aux facteurs environnementaux (Agneta et Burton, 1990).

Depuis les vingt dernières années, les bryophytes sont étudiées comme biomoniteurs de la pollution des eaux. Celles-ci ont été jusqu'à présent utilisées par la communauté européenne pour le suivi de la contamination métallique. Les recherches ont porté surtout sur la sélection de traceurs performants. Toutefois, des chercheurs comme Mouvet (1986) ont essayé de cibler les interactions biologiques, chimiques et physiques des plantes vis-à-vis leur environnement. Aussi, ils ont cherché à comprendre la physiologie des mousses à savoir si l'accumulation des métaux était différente selon la portion de la plante étudiée.

Au Québec, peu d'études ont été réalisées jusqu'à maintenant et il semble important de connaître les mécanismes régissant l'accumulation des éléments par les organismes sentinelles. Pour nous, les divers problèmes surgissant lors d'études semblables sont reliés au manque de données concernant l'identification des espèces et la localisation géographique des habitats potentiels.

Considérant la simplicité morphologique des mousses (une cellule d'épaisseur, l'absence de racines) et le système vasculaire peu développé (parfois même absent), les substances dissoutes vont pénétrer par de simples échanges ioniques d'où l'intérêt de comparer les feuilles et les tiges. Généralement, on considère que le principal mode d'accumulation des mousses est l'adsorption de surface; les feuilles étant chargées négativement vont capter plus facilement les cations (Tyler, 1990).

Le but recherché ici est de pouvoir caractériser métalliquement certains cours d'eau

du Québec et d'y comparer le pouvoir d'accumulation de différentes bryophytes présentes. Aussi, notre second objectif est de partitionner morphologiquement les bryophytes et d'en évaluer les concentrations des éléments présents à l'intérieur.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Lieu de récolte

Les échantillons de mousses furent ramassés à l'été 1993 dans des petits cours d'eau de la province de Québec. En tout, cinq sites différents ont permis le prélèvement des échantillons: St-Alexis-des-Monts (Réserve Mastigouche), Québec (Réserve des Laurentides), Roberval (Val-Jalbert), Windsor et Loretteville. Les genres *Brachythecium*, *Mnium*, *Platyhypnidium* et *Fontinalis* ont été étudiés; notons toutefois que *Fontinalis* était représenté par les espèces *dalecarlica* et *nova-angliae*.

Tableau 1: Mousses utilisées et localisation des sites de prélèvement.

Minéralisation

Au total, cinq réplicats ont été utilisés pour chaque valeur moyenne enregistrée; un réplicat nécessitait entre 0,1 et 0,3 gramme de mousses sèches. La digestion des échantillons se faisait à chaud avec l'acide nitrique concentré [HNO₃]. Une addition de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) était effectuée pendant la digestion pour faciliter l'oxydation des matières organiques (Berryman, 1991). La digestion se poursuivait jusqu'à disparition complète des vapeurs de NO₂. Le jaugeage des éprouvettes s'est fait à 30 millilitres avec de l'eau distillée-déminéralisée. Par la suite, le minéralisat était brassé manuellement et déposé au réfrigérateur à 4° C pour favoriser la recondensation des vapeurs.

Métaux étudiés

Les métaux dosés furent le calcium, le magnésium, le cuivre, le cadmium, le manganèse, le fer, le nickel, le cobalt et le chrome. Le dosage était fait à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique sur flamme air/acétylène ou acétylène/oxyde nitreux selon le métal analysé.

RÉSULTATS

Figure 1.: Histogramme des métaux peu abondants.

Généralement, le fer et le manganèse se retrouvent sous la forme d'oxydes fixés sur les parois des feuilles. Ici, les quantités trouvées sont respectables ($< 10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Quant au nickel, on note des concentrations deux fois plus élevées à Windsor ($25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (*F. nova-angliae*) qu'ailleurs au Québec ($5\text{-}13 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). En France, de telles concentrations sont considérées normales. Les concentrations tissulaires en cobalt dans les tiges de *F. dalecarlica* sont élevées à Québec ($139 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) comparativement à celles obtenues à St-Alexis ($77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Figure 2.: Histogramme des métaux abondants.

Pour les métaux abondants, *P. riparioides* présente les valeurs en cuivre les plus élevées ($243\ 331 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Les genres *Mnium*, *Brachythecium* et *F. nova-angliaea* affichent des concentrations inférieures à $250 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Quant au calcium et au magnésium, leurs concentrations moyennes sont respectivement de $2\ 398$ et $1\ 987 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tableau 2: Concentration de métaux dans les mousses provenant d'une rivière non polluée.

Le cobalt n'étant pas un polluant fréquent, sa présence en bonnes proportions dans la rivière Caché ($81 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) suscite diverses interrogations. (Fig. 1, Tab. 3)

Tableau 3: Concentrations en cobalt et en cuivre dans les mousses.

Par ailleurs, *F. dalecarlica* semble particulièrement efficace pour l'accumulation du cobalt en comparaison avec les autres espèces. De très grandes quantités de cuivre (50 à 100 fois plus concentrées) sont retrouvées pour certaines espèces; différentes hypothèses sont soulevées pour l'interprétation de ces résultats.

Tableau 4: Comparaisons entre la concentration de métaux contenus dans les feuilles et dans la plante entière.

À l'exception du chrome, les concentrations en métaux sont plus élevées dans les tiges et dans la plante entière que dans les feuilles (Tab. 4).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Chez les mousses semi-aquatiques (*Brachythecium*) les concentrations en manganèse sont de l'ordre de $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et indiquent que celui-ci provient surtout de la fraction eau puisque ses concentrations sont faibles comparativement à celles trouvées dans les autres mousses. Dans cette étude, les mousses aquatiques présentent généralement les concentrations métalliques les plus élevées.

¹Données de référence tirées de:
Société hydrotechnique de France, septembre 1986.
"Impact de l'activité humaine sur les eaux continentales."

Les concentrations en cobalt dans les échantillons provenant de la rivière Caché (Québec) sont relativement élevées ($139 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Considérant que cette rivière est située dans une réserve, il devient difficile de conclure qu'il s'agit vraiment de cobalt présent naturellement. Des études ultérieures devraient permettre de mieux statuer sur cette source de contamination.

À la lumière des résultats obtenus, les concentrations élevées en cuivre ($> 7\,000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) dans certains échantillons pourraient provenir d'une contamination en laboratoire. L'explication soulevée indique que cette contamination serait attribuable aux méthodes de conservation des spécimens en laboratoire. En effet, un des systèmes de refroidissement au glycol comportait une tuyauterie de cuivre et aurait eu pour effet de contaminer les mousses en présence. Des analyses sont présentement en cours afin de déterminer s'il s'agit bien d'une contamination *in vitro*.

À l'exception du calcium et du magnésium, nous avons obtenu des résultats semblables à ceux présentés dans la littérature (Wehr et Whitton, 1983 a; Mouvet, 1986; Tyler, 1990), soit une concentration plus élevée dans la portion tige; celle-ci est plus âgée et le temps nécessaire à l'accumulation est plus grand. Dans la rivière St-François (Windsor) les concentrations de nickel ($23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) plus élevées laissent présager une contamination industrielle dans ce secteur. Aussi, il est possible de croire que *F. nova-angliae* pourrait accumuler ce métal avec une plus grande facilité.

Outre le calcium et le magnésium, *Brachythecium* provenant de deux stations différentes est très légèrement contaminée par l'ensemble des métaux étudiés. Or, cette mousse ne serait pas intéressante pour le suivi métallique de la qualité des eaux dû à son faible pouvoir d'accumulation relié à son émergence.

RÉFÉRENCES

- 1-Agneta, M. et S. Burton. 1990. Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 104: 267-280.
- 2-Berryman, D. 1991. Mise à l'essai et comparaison de cinq traceurs de substances toxiques dans le Saint-Maurice. 74 pp.
- 3-Mouvet, C. 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques. Synthèse méthodologique. 110 pp.
- 4-Mouvet, C. , P. Cordebar et B. Gallisot. 1986. Impact de l'activité humaine sur les eaux continentales. Évaluation de rejets de micropolluants minéraux et organiques par dosages dans les mousses aquatiques. Société hydrotechnique de France, Paris (France): 1-8.
- 5-Ramade, F. 1992. Précis d'écotoxicologie. Masson, Paris (France). 300 pp.
- 6-Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy metals: a litterature review. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 104: 231-253.
- 7-Wehr, J.D. et B.A. Whitton. 1983 a. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses .2: *Rhynchostegium riparioides*. *Hydrobiologia* 100: 261-284.

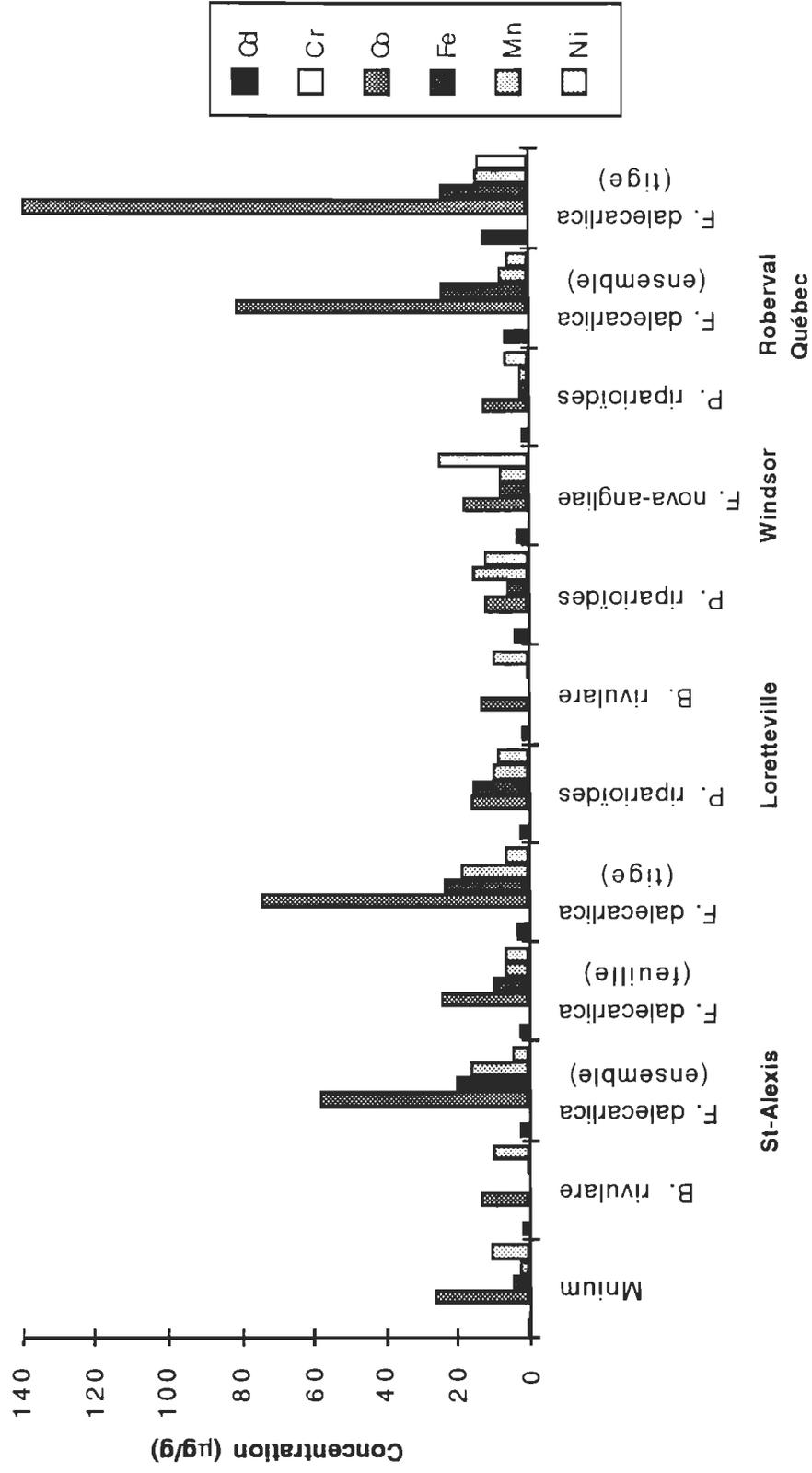


Figure 1.: Histogramme des métaux peu abondants

Figure 2.: Histogramme des métaux abondants

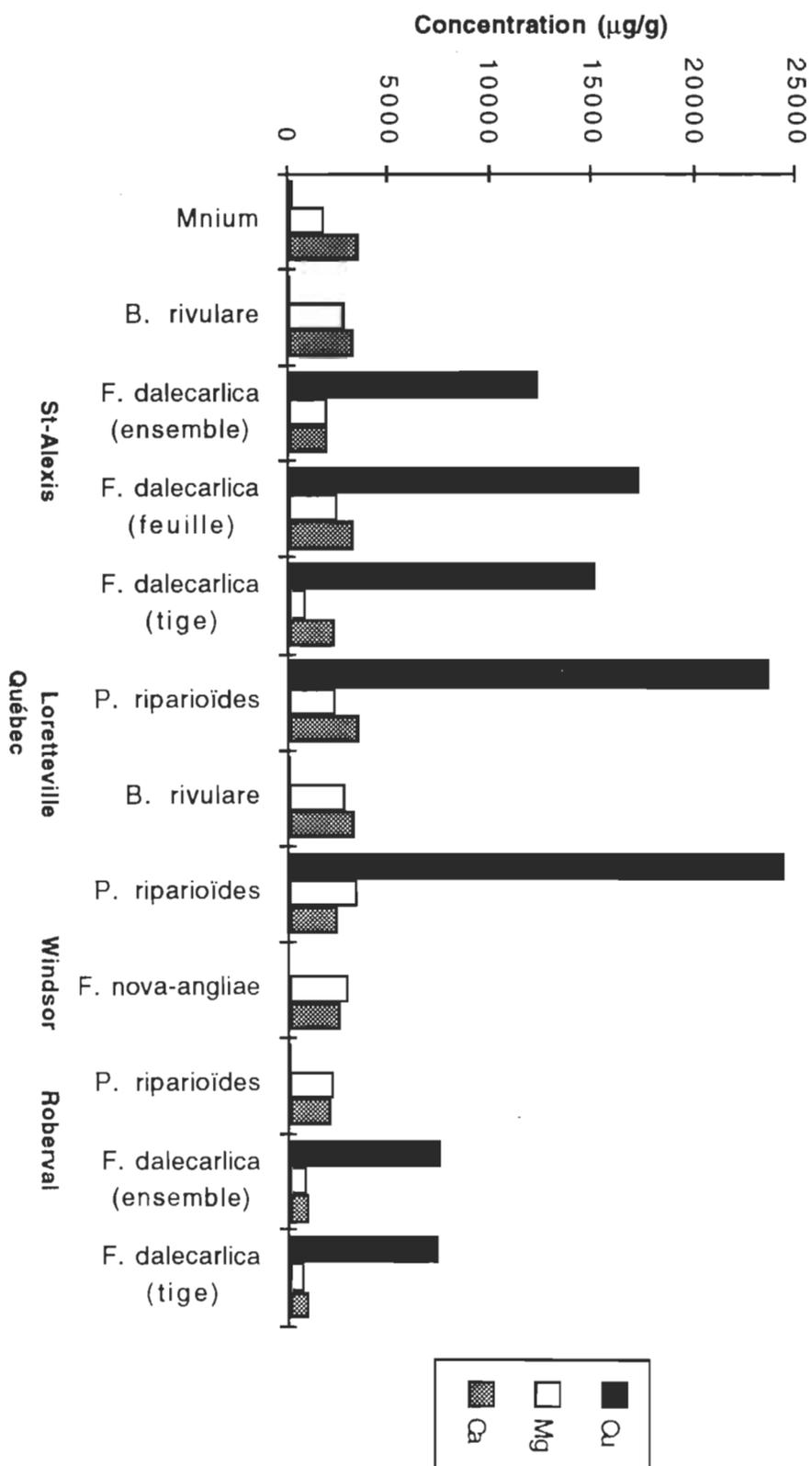


Tableau 1.: Mousses utilisées et localisation des sites de prélèvement.

Genre	Espèce	Site	Type
Brachytecium	rivulare	Loretteville	semi-aquatique
Brachytecium	rivulare	St-Alexis	semi-aquatique
Fontinalis	nova-angliae	Windsor	aquatique
Fontinalis	dalecarlica	St-Alexis	aquatique
Fontinalis	dalecarlica	Québec	aquatique
Mnium		St-Alexis	aquatique
Platyhypnidium	riparioides	Roberval	aquatique
Platyhypnidium	riparioides	Loretteville	aquatique
Platyhypnidium	riparioides	St-Alexis	aquatique

Tableau 2.: Concentration de métaux dans les mousses provenant d'une rivière non polluée.

Métal	Concentration $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
Manganèse	0.6
Cadmium	1
Chrome	7
Cuivre	19
Nickel	20
Fer	3
Cobalt	N.d.*

Données de référence standard pour comparaison de cours d'eau européens.

*N.d.: non-disponible

Tableau 3.: Concentrations en cobalt (peu abondant) et en cuivre (abondant) dans les mousses étudiées.

Genre et espèce	Lieu de récolte	[Co] μg·g⁻¹	[Cu] μg·g⁻¹
Fontinalis nova-angliae	Winsor	18	833
Platyhypnidium riparioides	Roberval	13	150
Mnium	St-Alexis	27	219
Brachytecium rivulare	St-Alexis	14	44
Brachytecium rivulare	Loretteville	13	70
Fontinalis dalecarlica	Québec	81	7478
Fontinalis dalecarlica	St-Alexis	58	12261
Platyhypnidium riparioides	Loretteville	12	24331
Platyhypnidium riparioides	St-Alexis	16	23589

Tableau 4.: Comparaison entre la concentration de métaux contenus dans les feuilles et dans la plante entière.

Métal	Concentration
Magnésium	feuilles > plante
Calcium	feuilles > plante
Chrome	feuilles = plante
Manganèse	feuilles < plante
Fer	feuilles < plante
Cobalt	feuilles < plante
Nickel	feuilles > plante
Cuivre	feuilles > plante
Cadmium	feuilles < plante

THE KINETICS OF CADMIUM BIOACCUMULATION BY TWO AQUATIC MOSSES INDIGENOUS TO QUEBEC.

Ghyslain Samson, Guy Vaillancourt and LeRoy Pazdernik, Université du Québec à Trois-Rivières, Canada.

ABSTRACT

One of the main problems encountered when analysing heavy metals is their very low concentrations in the aquatic environment. In such cases it is often necessary to use bioaccumulators in order to monitor the evolution of these pollutants over space and time. The aquatic mosses selected are considered good biomonitors which can provide information on the status of the environment. In the past, a number of methods have been developed to enhance our understanding of these biological interactions; but the major impediment has always been the difficulty of maintaining the aqueous concentration constant at the desired values. The experimental system developed for the present study is a simple one: it opts for gravitational rather than a mechanical one. A manual control ensures a constant rate of input feed water in this dynamic system. Experiments were carried out at concentrations of 0, 10, 25 and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ both with and without "EDTA" (ethylenediaminetetraacetic acid) as a chelating agent. The goal pursued was to assess the performance of two aquatic mosses -*Fontinalis dalecarlica* Schimp ex. B.S.G. and *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix.- during the build-up of cadmium over a 28-day period. Preliminary results indicate a high level of bioaccumulation on the first day. In the absence of the chelating agent, accumulated cadmium varied between 150 and 300 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ according to

the genus of *bryophyta*. On the basis of our results, it would seem that the mosses suffer an internal ionic imbalance if the accumulation period is too long (28 days). The use of EDTA has proven useful, 1) in maintaining a constant level of pollutant concentration, 2) in lowering the bioavailability of the metal under study and 3) in simulating more closely the natural conditions of the environment.

RÉSUMÉ

Un des principaux inconvénients rencontré lors de l'analyse des métaux lourds résulte de faibles concentrations présentes dans le milieu aquatique. Dans ces cas, l'utilisation de bioindicateurs est souvent nécessaire pour suivre l'évolution spatio-temporelle des polluants. Dans le passé, plusieurs méthodes ont été développées pour mieux comprendre ces interactions biologiques; toutefois, maintenir la concentration voulue sans variations importantes dans les études en laboratoire a toujours constitué une difficulté majeure. Le système expérimental mis au point dans cette recherche est simple; il privilégie l'écoulement gravitationnel plutôt que mécanique. Un contrôle manuel permet de maintenir le débit constant dans ce système dynamique. L'expérimentation a été effectuée aux concentrations de 0, 10, 25 et 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ avec et sans agent complexant "EDTA" (acide éthylène diamine tétraacétique). L'objectif visé dans ce travail est d'évaluer la performance de deux mousses aquatiques *Fontinalis dalecarlica* Schimp. ex B.S.G. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix. lors de l'accumulation du cadmium pendant 28 jours. Les résultats préliminaires indiquent une bioaccumulation élevée pendant les premiers jours. En

absence de l'agent complexant, les concentrations en cadmium varient entre 150 et 300 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ selon l'espèce. À la suite des résultats obtenus, il semble que les mousses subissent un déséquilibre ioniques internes lorsque la période d'accumulation est trop longue (28 jours). L'utilisation d'EDTA est rendue nécessaire pour 1) maintenir constante les concentrations du polluant, 2) diminuer la biodisponibilité du métal étudié, 3) se rapprocher des conditions naturelles du milieu.

INTRODUCTION

Our aquatic environment is becoming more and more stressed by the many pollutants generated by modern technology. According to Hogan and Whotton(1984) the toxic metallic substances, especially cadmium, is a potential menace for the survival of the ecosystem.

One of the main problems associated with the analysis of heavy metals is their low concentration in the aquatic milieu. Direct analysis of these metals in water is often inconclusive because their concentrations are close to the normal detection limits. In order to counter this difficulty, pertinent tracers can be used. To date a variety of bioindicators have been used and depending on the pollutant, the efficiency will vary according to the type and complexity of the biocaptor chosen.

Bryophyta have received much attention lately for metallic analysis (Agneta and Burton, 1990). The mosses are hardy and produce many leaves which favor their use

for the monitoring of contaminants in aquatic areas (Berryman and Richards, 1992). They rapidly extract most metals by simple ionic exchange from water (Mouvet, 1987).

The objectives of this laboratory study are 1) to evaluate the performance of two aquatic mosses indigenous to Quebec as potential biological indicators of cadmium, 2) to compare the accumulation kinetics of this pollutant in the presence and absence of EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), 3) to verify the efficiency of a semi-open dynamic system with gravitational input flow, and 4) to apply a mathematical model in order to extract the uptake constant (K_1), the depuration constant (K_2) and the bioconcentration factor (BCF).

MATERIAL AND METHODS

Sampling

The moss species genus *Fontinalis* was collected in the summer of 1993 from the Caché River, a small river in the southern part of the Laurentide Reserve. This moss lives totally submerged and is attached to the bottom rocks by their rhizoids (a type of small hook on the end of a semi-root). As for *Platyhypnidium*, this one was found in a small water cascade close to Loretteville. Limestone rocks dominated this habitat rich with mosses of this genus.

Once the mosses were located, they were collected by cutting the top two thirds of the plant rather than tearing them from their anchorage so as to preserve the survival of

this species. A series of successive washings helped remove the unwanted debris (invertebrates, sand, etc.). Then the samples were placed on ice and transported to the laboratory for the acclimatization period. It is well known that mosses harvested during the summer season will have less difficulty adapting to laboratory temperatures (18-20°C) than those collected in the fall (Saitoh *et al.*, 1970; Glime, 1982).

The conservation of the muscinal biomass necessary for the experimental stage was done in rectangular basins made of fiber glass (1 x 2.5 meters). The temperature was controlled by a glycol filled serpentine which cooled the water in an adjacent container. This temperature adjusted water was circulated by the continuous pumping action of pressurised air in the return pipe. A "Grow Lite" fluorescent furnished sufficient light to maintain the aquatic mosses in good health .

For the laboratory study, the cadmium concentrations had been fixed at 0, 10, 25, and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Certified standard solutions of CdCl_2 was used (Fisher Co). For the aquaria with EDTA, the concentration was 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ based on Mouvet studies (1987). The ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) was used to simulate nature in preference to other organic materials or humic acid because of its well-known stability constants.

Experimental design

An experimental set-up attempting to simulate natural conditions was developed. The system is simple and cheap. It uses gravitational flow rather than mechanical pumping.

Fig.1 The design of the experimental set-up used.

A serie of ten aquaria, each supplied by 220 liter reservoir, is shown in Fig. 1. Each aquaria contained 720 grams of each bryophyta initially. At each sampling time, that is 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288, 336, 384, 432, 480, 528, 576, 624, et 672 hours, 9 grams of each moss were retrieved per aquarium, the biomass necessary for three replicates. This sampling schedule generated a maximum of information during the rapid accumulation stage and also allowed the plant to respond over a longer period of time. In order to assure a uniform exposure to the aqueous cadmium, each aquarium of 30 liters contained both moss species. The physico-chemical parameters (temperature, conductivity, dissolved oxygen, pH, and oxydo-reduction potential) were measured with a Hydro-Lab Surveyor II (SVR 2 model).

Chemical Analysis

Each subsample was oven-dried at 110°C for 12 hours. After weighing, the samples were subjected to concentrated nitric acid (HNO_3) attack for 7-8 hours until the elimination of the brown fumes; the reaction was driven to completion with 30% hydrogen peroxide (H_2O_2) (Berryman, 1991). When the reaction was finished, the reaction tubes were cooled and maintained at 4°C. The digestions were diluted to exactly 50 mL with distilled water. They were then manually stirred to assure a completely homogeneous solution. Before proceeding to the spectroscopic analyses, it was very important to allow the solutions time to attain room temperature, otherwise a physical interference was evident in the subsequent analysis. The digested mosses were analysed by atomic absorption spectrophotometry (Varian model AA1275) with

air/acetylene flame. Certified standards for water (Standard Reference Material 1643 C) and mosses (Certified Reference Material BCR No 61) were used in the quality control scheme.

Statistical analyses

The accumulation of metal in the byrophyta is made in two stages; a first fast stage characterized by a passive ion exchange process lasting only a few hours. The second stage requires many days and slowly reaches a plateau value of accumulated cadmium. This slow step is considered an active one where the metal penetrates to the cell interior while in the first stage, the metal is found primarily in the cell walls (Pickering and Puia, 1969; Breuer and Melzer, 1990). Since the mosses appear to accumulate in an exponential fashion, the two compartment model of van Hattum *et al.*, (1989) was applied in an attempt to interpret our kinetic accumulation data:

$$(1) \quad C_t = \frac{K_1 C_w}{K_2} [1 - \exp (- K_2 t)]$$

Since the steady state conditions are:

$$(2) \quad C_{ss} = \frac{K_1 C_w}{K_2}$$

eqn (1) becomes:

$$(3) \quad C_t = C_{ss} [1 - \exp (- K_2 t)]$$

where C_t = concentration in the mosses at time t ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight)

C_{SS} = concentration in the mosses at steady-state conditions ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight)

C_w = concentration in the water ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

K_1 = rate constant for uptake from the water (hour^{-1})

K_2 = rate constant for elimination from the mosses (hour^{-1})

In addition, a bioconcentration factor (BCF) can be calculated from the estimated rate constant values K_1 and K_2 (van Hattum *et al.*, 1989; Tessier *et al.*, 1994) where:

$$(4) \quad \text{BCF} = \frac{K_1}{K_2}$$

RESULTS

The original concentrations of cadmium introduced into the water in presence of the chelating agent varied very little (Fig.2). Indeed after 96 hours, the concentration at $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ fluctuated around $41 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and after that the values stabilized. The relative variations were the same for the $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration (sample and replica) and corresponded to the same time period. No important variation was recorded at the $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ level and the values of the control also remained constant. In absence of EDTA, the cadmium concentrations fall radically within the first few hours. At $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (both test and replica) the values dropped to $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ within 48 hours and varied between 15 and $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ during the rest of the accumulation stage. Similar radical decreases of 15 and $8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ were noted for 25 and $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. The control aquaria maintained stable reference values through the experimentation.

Fig. 2 The cadmium concentration in the water during the accumulation stage.

Examining the process of cadmium accumulation of *F. dalecarlica* (Fig. 3) in the three environments studied (50, 25 and 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), the mosses in presence of EDTA shows an initial bioaccumulation of cadmium followed by a slow negative shift to an equilibrium concentrations of 20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). In absence of EDTA, the accumulation values are much higher; the pattern is identical for the three concentrations studied: relatively fast for the first 192 hours, followed by a slower accumulation in a discontinued manner. The highest values attained after 672 hours exposure are 350, 250 and 125 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of cadmium when the initial concentrations were 50, 25 and 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. The cadmium in the controls remain constant.

Fig. 3 Accumulation pattern of cadmium by *F. dalecarlica* at four concentrations in the presence and absence of EDTA complexing agent.

The accumulation of cadmium by *P. riparioides* (Fig. 4) indicates that in presence of the chelating agent, accumulation is small regardless of the aqueous cadmium concentration. Indeed after 192 hours of exposition the values drop from 50 to 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and from 25 to 10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ during the same period (25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) (test and replicate) after which the accumulated concentration stabilized. The bioaccumulation at 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ is negligible. In presence of EDTA a fast bioaccumulation is evident up to 192 hours. This pattern is similar for all three concentrations of aqueous cadmium. Within the 192 hours surge, the cadmium is rapidly accumulated to attain values of 175, 125 et 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for 50, 25 and 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. After this, the

accumulation is slow with an irregular pattern which continues until the values of 275, 175 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ are reached after 672 hours of accumulation. The values of the controls remain small constant.

Fig. 4 Accumulation pattern of cadmium by *P. riparioides* at four concentrations in the presence and absence of EDTA complexing agent.

The kinetic parameters of cadmium accumulation by mosses with and without a chelating agent are shown in Table 1. The actual concentrations measured in water are much lower than the original values; that is 28.8, 10.1, and 3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ instead of 50, 25 and 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. These lower values certainly had an impact on the equilibrium concentrations at steady-state conditions (C_{ss}). *F. dalecarlica* had accumulation values between 120 and 320 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ while *P. riparioides* was situated between 97 and 204 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The C_{ss} values of the replicates show good repeatability of our system. The values of the elimination constant (K_2) are very small for *F. dalecarlica* and are situated between 0.005 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 0.010 (25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). The calculated accumulation constants (K_1) are evaluated between 194 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 55 (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) for *F. dalecarlica* while for *P. riparioides*, they attained values between 266 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 54 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). The highest coefficient of correlation (R^2) (0.914 et 0.860) were associated with the initial concentrations of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and the lowest (0.718 and 0.733) with 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for both genera. *F. dalecarlica* exhibited the larger bioconcentration factor values (BCF) varying from 38 800 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) to 15 400 (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) while that of *P. riparioides* passed from 33 220 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) to 6 750 (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Table 1. Results of kinetic parameters for the cadmium accumulation in bryophyta.

DISCUSSION

The use of an experimental system simple and reliable has permitted the study of the bioaccumulation process over a long period of time and to constat that the bryophyta used are good indicators which respond rapidly and perform well for the detection of cadmium.

The variations of cadmium concentration in water with and without EDTA are different. Indeed, the cadmium concentrations remained relatively stable in the aquaria where a chelating agent was used while in the solutions without EDTA, the variations were fairly large. The same phenomena was observed during the analysis of cadmium in the mosses concerning the presence and absence of EDTA. Cadmium accumulation by the bryophyta is more effective without the complexing agent. Here EDTA seriously lowers the biodisponibility of the cadmium cation to the mosses (Mouvet, 1986; 1987).

To compare the accumulation results of mosses, it seems that *F. dalecarlica* was a better bioaccumulator than *P. riparioides*. Indeed, this is confirmed by the higher values for the equilibrium concentration at steady-state conditions (C_{ss}), the lower values for the epuration constant (K_2), the larger values for the accumulation constant (K_1) and a overall larger bioconcentration factor (BCF) for *F. dalecarlica*. Both mosses in the presence of $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ had smaller elimination constant values (K_2) than when exposed to $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, this suggest the possibility of some physiological stress at higher

concentrations of metal pollutant. The accumulation kinetics of cadmium in mosses in presence of EDTA indicate that here the accumulation is negligible, consequently these data do not permit the modelization of this experimental part.

The results obtained from this study confirm the special capacity of mosses to accumulate well the cadmium ion. Our observations are corroborated by Penuelas, 1984a; Berryman, 1991 and Mersch *et al.*, 1993 but differ with the data of Mouvet (1987) who preferred *P. riparioides* over the other species.

In addition, we have conducted our experiments for a period of time twice as long as that cited in the literature thus allowing our data to attain the steady-state plateau followed by an irregular pattern of accumulation.

Our experiments have shown that because of the passive nature of metallic ionic exchange reaction with the plant cell walls, the largest part of the accumulation is accomplished rapidly in the first few hours to attain a level where the accumulation stabilizes. The major part of accumulated metal in mosses can be explained by the abundance of leaves containing negatively charged sites such as uronic, glucuronic and other carboxylic acids (Mersch *et al.*, 1993). The rapid rate of accumulation constitutes a large advantage for these aquatic mosses. Consequently, they represent a good choice to use in environmental assessment of natural running water especially during an accidental discharge or spill of toxic substances.

REFERENCES

M. Agneta and S. Burton. " Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats." *Bot. J. Linn. Soc.* 104 : 267-280 (1990).

D. Berryman. "Mise à l'essai et comparaison de cinq traceurs de substances toxiques sur le Saint-Maurice." Ministère de l'environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, Envirodoq: 910345; collection QEN/QE 72/1, 74 pp. (1991).

D. Berryman and Y. Richard. "Compte-rendu d'une mission scientifique en France et en Belgique sur les indicateurs biologiques de la qualité des cours d'eau." Ministère de l'environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, QE 92-06 Envirodoq : EN 920055, 49 pp + 4 annexes (1992).

K. Breuer and A. Melzer. "Heavy metal accumulation-lead and cadmium- and ion exchange in three species of Sphagnaceae". *Oecologia*, 82: 461-467 (1990).

J.M. Glime. "Responses of *Fontinalis hypnoides* to seasonal temperature variations." *J. Hattoriti. Bot. Lab.* 53 : 181-193 (1982).

G.D. Hogan and D.L. Whotton. "Pollutant distribution and effects in forest adjacent to smelters." *J. Environ. Qual.* 13 (3) : 372-382 (1984).

J. Mersch, E Morhain and C. Mouvet. "Laboratory accumulation and depuration of copper and cadmium in the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* and the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*." *Chemosphere* Vol 27, No 8 : 1475-1485 (1993).

C. Mouvet. "Métaux lourds et mousses aquatiques. "Synthèse méthodologique". Agence de l'eau Rhin-Meuse, 110 pp (1986).

C. Mouvet. "Accumulation et relargage du plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre par des mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Ministère de l'environnement, Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse, 112 pp (1987).

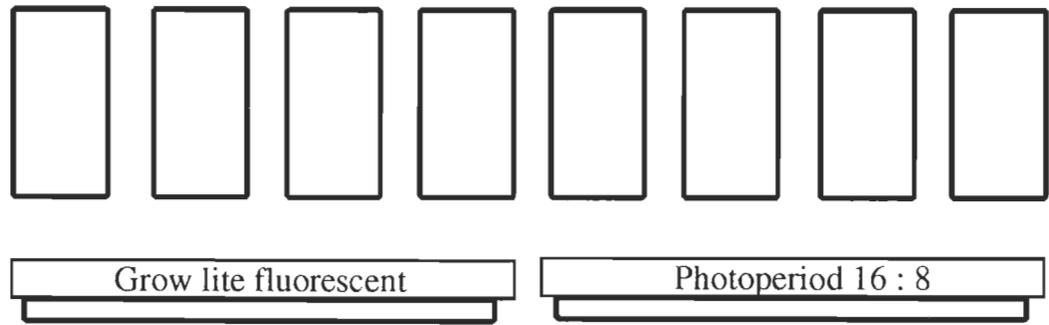
J. Penuelas. "Pigments of aquatic mosses of the river Mugu Northeastern Spain and their response to water pollution". *Linbergia* 10 (2) : 127-132 (1984a).

D.C. Pickering and I.L. Puia. "Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*". *Physiol.Plant.*, vol 22 : 653-661 (1969).

M. Saitoh, K. Narita and S. Isikawa. Photosynthetic nature of some aquatic plants in relation to temperature. *Bot. Mag. Tokyo* 83: 10-12 (1970).

L. Tessier, G. Vaillancourt and L. Pazdernik. "Comparative study of the cadmium and mercury kinetics between the short-lived gastropod *Viviparus georgianus* (Lea) and the pelecypod *Elliptio complanata* (Lightfoot), under laboratory conditions. *Environ. Pollut.*85 : 271-282 (1994).

B. van Hattum, P de Voogt, L. vanden Bosch, N.M. van Staaen, E.N.G. Joesse and H. Govers. Bioaccumulation of cadmium by the fresh-water isopod *Ascellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.*.62: 129-151 (1989).



Aquaria with Fontinalis and Platyhypnidium

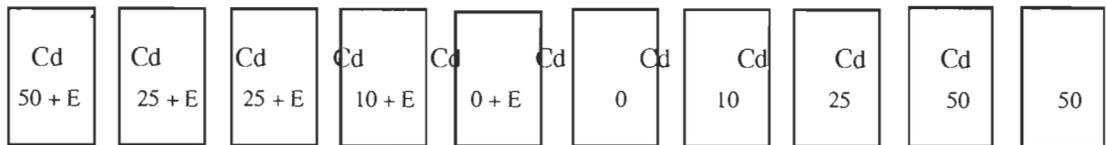


Fig.1 The design of the experimental set-up used.

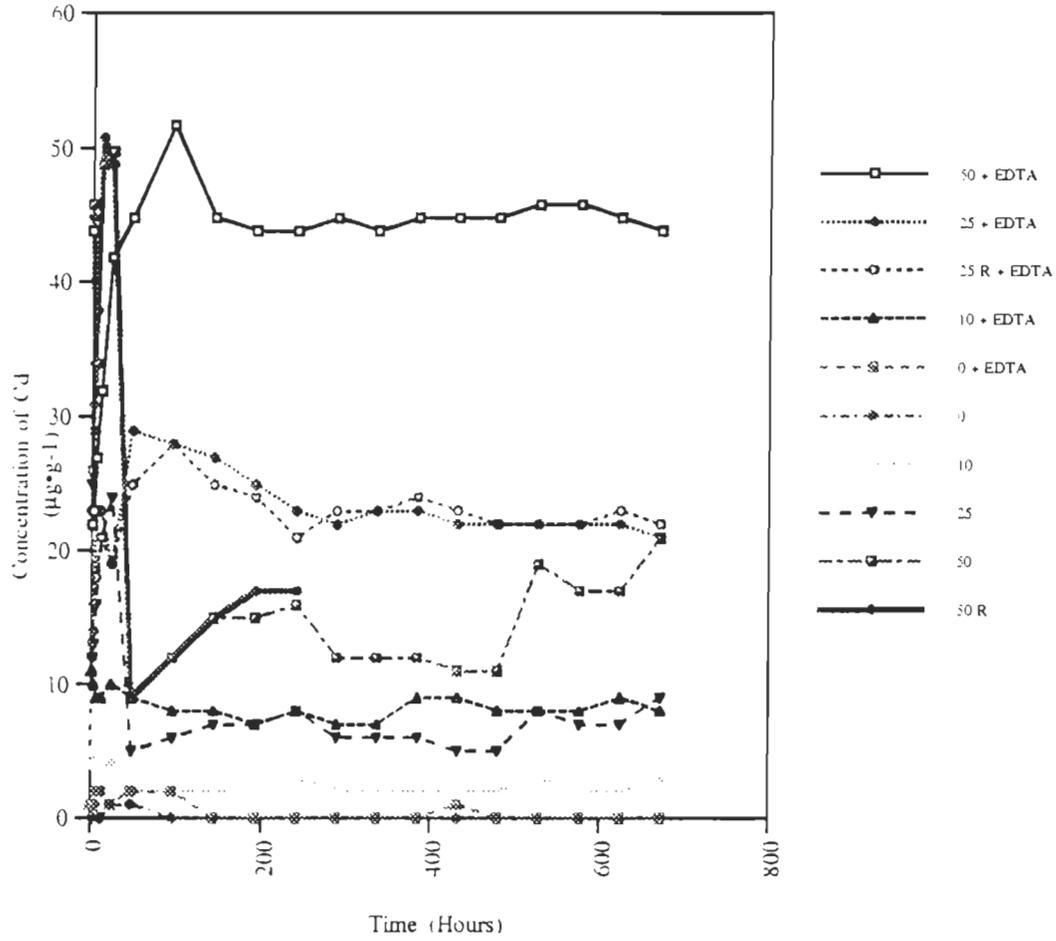


Fig.2 The concentration of cadmium in the water during the accumulation phase ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

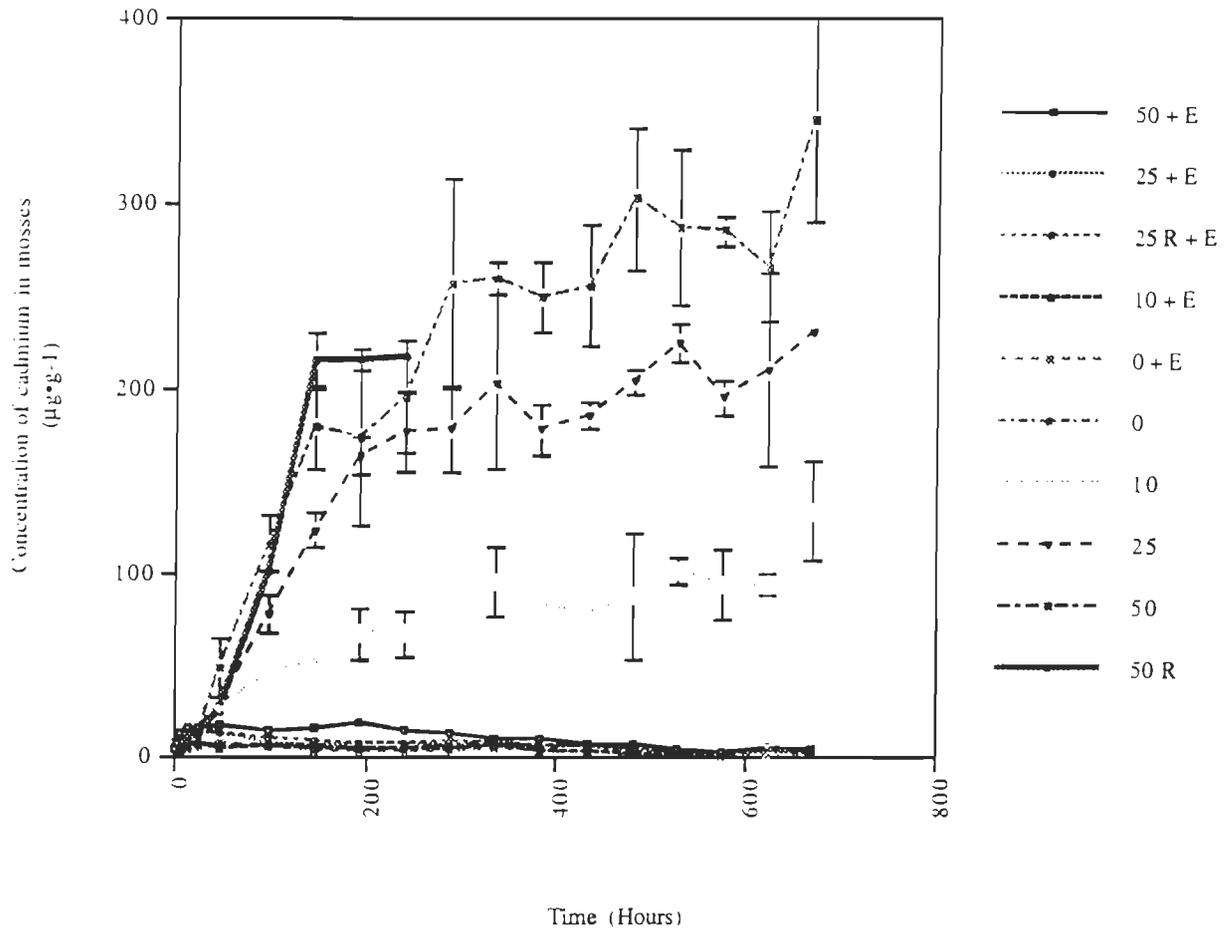


Fig. 3 Accumulation pattern of cadmium by *Fontinalis dalecarlica* at four concentrations in the presence and absence of EDTA complexing agent.

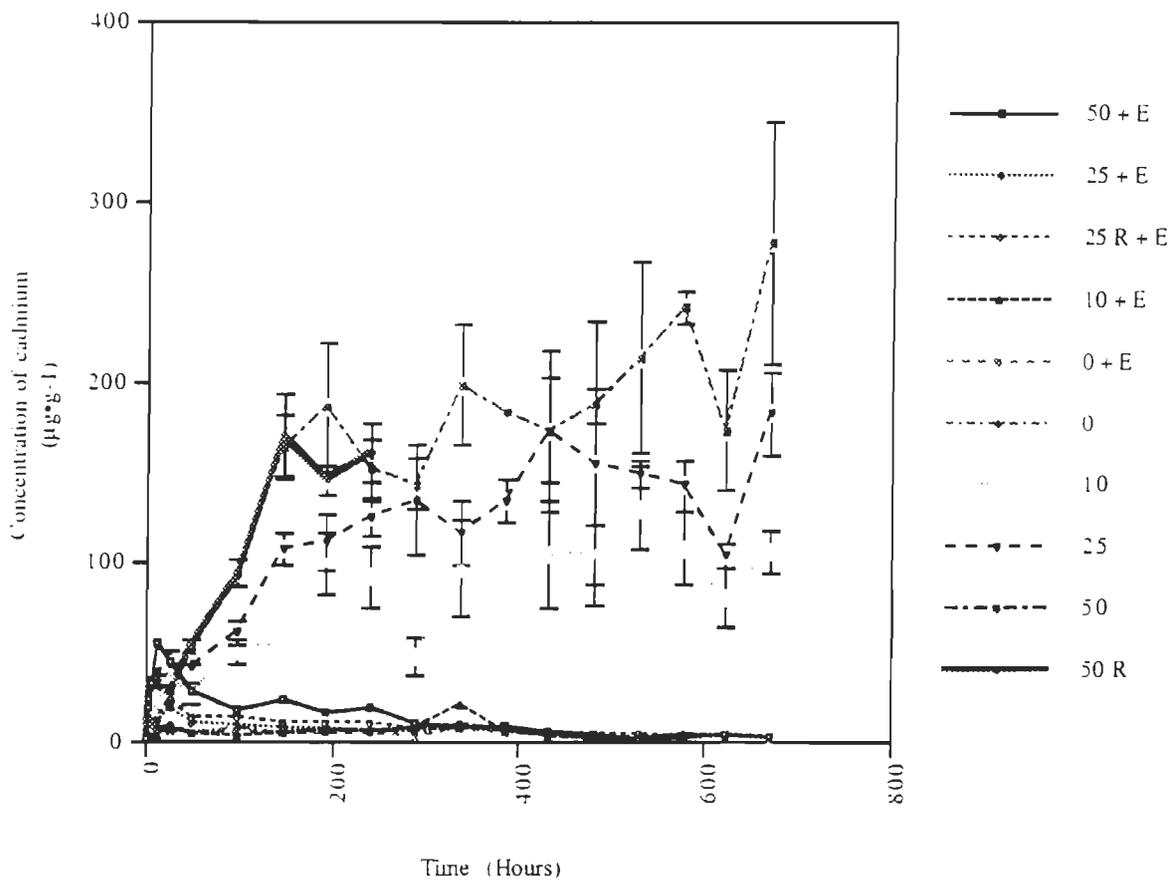


Fig. 4 Accumulation pattern of cadmium by *Platyhypnidium riparioides* at four concentrations in the presence and absence of EDTA complexing agent.

Table 1. Results of kinetic parameters for cadmium accumulation.

Species	[Cd] initial $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	[Cd] average $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	C _{ss} $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	K ₂	R ²	F	p	K ₁	BCF
Fontinalis	10	3	120	0.005	0.718	38.83	< 0.0001	194	38800
"	25	10.1	180	0.010	0.885	61.33	< 0.0001	193	19300
"	50	21.6	320	0.004	0.935	50.59	< 0.0001	62	15400
"	50	28.8	317	0.005	0.914	757.20	< 0.0001	55	11000
Platyhypnidium	10	3	98	0.008	0.733	20.98	< 0.0001	266	33200
"	25	10.1	144	0.010	0.739	14.56	< 0.0001	143	14300
"	50	21.6	204	0.009	0.812	28.63	< 0.0001	84	9380
"	50	28.8	189	0.008	0.860	116.83	< 0.0001	54	6750

**ÉVOLUTION TEMPORELLE DES MÉTAUX BIOLOGIQUEMENT
ESSENTIELS DE LA FLORE MUSCINALE LORS D'UNE CONTAMINATION
ET D'UNE DÉCONTAMINATION *IN VITRO*.**

G. SAMSON, G. VAILLANCOURT, L. PAZDERNIK. Université du Québec à Trois-Rivières, Département de chimie-biologie, C.P. 500, Trois-Rivières (Québec) G9A 5H7.

RÉSUMÉ

Dans cette portion d'étude, l'objectif est de suivre l'évolution de certains cations chez des muscinées. Le dosage des métaux essentiels (calcium, magnésium, potassium, sodium et zinc) a été effectué afin d'évaluer leur comportement face à l'introduction du cadmium dans le milieu. Ces mesures ont permis de vérifier l'effet synergique ou antagoniste possible entre ces éléments biologiquement essentiels et le contaminant. Pour mieux suivre l'évolution des cations à l'intérieur des bryophytes, nous avons utilisé les genres *Fontinalis dalecarlica* et *Platyhypnidium riparioides* principalement à cause de leur morphologie différente. Il est intéressant de noter que *P. riparioides* est reconnaissable par sa flamme rouge lors des dosages en SAA, indiquant la présence de calcium. Globalement, les résultats obtenus des dosages métalliques suggèrent des échanges cationiques. Le magnésium démontre une légère baisse (3,5 à 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) alors que le calcium est relativement stable (2 et 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) pour *F. dalecarlica* et *P. riparioides*. La présence d'un agent complexant ne semble pas influencer les concentrations des éléments essentiels. Pour le zinc, les concentrations sont similaires pour les deux espèces (0,2 à 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

ABSTRACT

In this section of our study, the goal was to monitor the synergy between certain cations in plants. The essential metals (calcium, magnesium, potassium, sodium and zinc) was analysed in the environment. These measurements allowed us to verify, where applicable, the ensuing level of competition between these biologically essential elements and the contaminant. In order to better monitor changes these cations within the *Bryophyta*, we used *F. dalecarlica* and *P. riparioides* genus, these being freshwater mosses, each with its own morphology. Its is interesting to notice that *P. riparioides* is detectable because the flame is red during atomic absorption spectroscopy analysed, an indication characteristic of an increased concentration of calcium. Globally, the results obtained by metallic dosages suggest ionics exchanges. The magnesium demonstrate a small drop (3,5 à 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) then the calcium is stable (2 et 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) for *F. dalecarlica* et *P. riparioides*. The presence of an complex agent seem not influence the essential elements. Zinc concentrations are similar for those species.

INTRODUCTION

Plusieurs recherches ont été entreprises à ce jour pour trouver un indicateur idéal pouvant servir à divers niveaux dans l'évaluation environnementale. Que ce soit une algue, une bryophyte, une macrophyte, un crustacé ou un poisson, l'objectif visé

consiste à connaître l'efficacité de l'indicateur. La flore muscinale est de plus en plus utilisée dans le domaine des biocapteurs et c'est pour cette raison qu'il importe de suivre et de comprendre les différentes interactions entre les paramètres physiques et biologiques ainsi que le polluant mis en cause. L'excellence du pouvoir accumulateur des muscinées relève de l'épaisseur des feuilles. En effet, chaque feuille ne possède qu'une cellule d'épaisseur d'où la simplicité des échanges ioniques. Le dosage des métaux provient des éléments fixés sur la surface de la plante (adsorption) ou des métaux y ayant pénétrés (absorption). Les cellules qui constituent les parois cellulaires portent une charge ionique négative et beaucoup de cations métalliques s'y fixent.

Le processus d'accumulation chez les bryophytes est constitué de trois étapes principalement, qui selon le cas, sont influencées par l'intensité lumineuse, les concentrations du polluant, le temps de contact et la température (Pickering et Puia, 1969; Tyler, 1990). Au début, il s'agit d'une accumulation passive et après quelques jours elle devient plutôt active. La paroi cellulaire agit à titre de barrière de diffusion et est très perméable aux échanges ioniques (annexe a).

Certains éléments métalliques tels le Cu, Zn, Co, Fe, Ni, Mn, Cr, V, Mo, Se et Sn, présents à l'état de trace sont essentiels pour les organismes (Sigg, Stumm et Behra, 1992). Ils sont nécessaires en quantités minimales. Toutefois, l'augmentation de leur concentration dans l'environnement peut aboutir à des phénomènes de toxicité. D'autres éléments tels le cadmium et le mercure ne sont pas essentiels et ne produisent que des effets toxiques (Sigg *et al.*, 1992).

Comme les deux types de mousses étudiées offrent des particularités physiologiques et morphologiques différentes, l'intérêt des comparaisons interspécifiques quant au contenu en éléments essentiels est des plus grand. Dans ce travail, le but visé est d'apporter un complément d'informations sur les processus d'assimilation, de synergisme et d'antagonisme des éléments métalliques du cadmium et des autres éléments: calcium (Ca^{++}), le magnésium (Mg^{++}), le potassium (K^+), le sodium (Na^+) et le zinc (Zn^{++}).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Historique

Figure 1.: Photographie de *Fontinalis dalecarlica* Schimp ex. B.S.G.

Découverte pour la première fois en 1844 par W.P. Schimper en Dalecarlica (Suède), *Fontinalis dalecarlica* est toujours submergée et affectionne les cours d'eau à courant rapide. Les tiges sont d'une longueur de 10 à 40 cm, très subdivisées et branchées alors que ses feuilles sont imbriquées, oblongues-lancéolées. L'apex (pousse de l'année) est généralement d'un vert vif et brillant. De couleur vert-olive, elle se métamorphosera du brun au noir selon les saisons (Crum et Anderson, 1960).

Figure 2.: Photographie de *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix.

D'allure moins robuste, cette mousse est beaucoup plus petite mais la taille de ses

feuilles est légèrement supérieure. Sa couleur tournera du vert-jaune au vert clair selon les conditions lumineuses, la qualité de l'eau, etc. Elle colonise généralement les rochers des cascades et des plans d'eau bien agité. *Platyhypnidium riparioides* est aussi connu sous les noms: *Platyhypnidium rusciforme*, *Rhynchostegium riparioides*, *Eurhynchium rusciforme* et *Eurhynchium riparioides*. Ces mousses sont fixées au substrat (roches, bois, ...) par des pseudo-racines (rhizoïdes).

Cueillette et manutention des mousses

Durant la saison estivale 1993, *F. dalecarlica* fut prélevée dans la rivière Caché située dans la réserve des Laurentides (Québec) alors que *P. riparioides* provenait d'une petite cascade en bordure de la rivière St-Charles dans la localité de Loretteville (Québec). Les roches calcaires caractérisent cet habitat riche en mousses de ce genre. Une série de lavages successifs a permis de les débarrasser des corps étrangers (invertébrés, sable, etc...). Par la suite, les échantillons étaient placés sur de la glace et acheminés au laboratoire pour la période d'acclimatation. On considère qu'une mousse amassée durant la saison chaude aura moins de difficulté à s'adapter à la température du laboratoire (18-20° C) qu'une mousse cueillie en automne, par exemple (Saitoh *et al.*, 1970; Glime, 1982). Notons que l'eau nécessaire à la conservation des organismes fut déchlorée par barbottage.

Conservation des spécimens

La conservation de la biomasse muscinale nécessaire à l'expérimentation s'est fait à l'aide de bassin rectangulaire en fibre de verre (1 x 2,5 mètres). Un système

pressurisé (air) permettait la circulation de l'eau en continu (circuit ouvert). Le contrôle de la température était assuré par un dispositif au glycol. Des fluorescents à croissance maximale auront permis de recréer un environnement naturel essentiel à la survie des organismes. Les bryophytes furent conservées ainsi pendant six mois.

Substances chimiques utilisées

Pour l'étude en laboratoire, les concentrations en cadmium ont été fixées à 0, 10, 25 et 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Des standards certifiés de CdCl_2 ont été employés (Fisher Co). Pour les aquariums contenant l'agent complexant, la concentration était de 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. L'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium (EDTA) a été préféré aux acides humiques et autres matières en suspension en raison de sa facilité d'utilisation (Mouvet, 1987).

Phase d'accumulation

Un montage expérimental reflétant les conditions naturelles du milieu a été mis au point. Simple, le système privilégiait l'écoulement gravitationnel plutôt que mécanique. Dix enceintes expérimentales furent utilisées pour l'accumulation du cadmium avec et sans EDTA. Deux répliqués d'aquariums avec et sans EDTA ont été prévus pour des comparaisons. La durée de l'expérimentation pour le cycle d'intoxication et de détoxification du cadmium a été fixée à 28 jours pour chacune d'elle correspondant à quarante temps de prélèvements au total. À chaque temps de retraits soit 0, 1,5, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288, 336, 384, 432, 480, 528, 576, 624, et 672 heures, nous avons prélevé dans les différents aquariums, la biomasse nécessaire aux trois

réplicats, en l'occurrence dix grammes humides.

Minéralisation

Une fois séché, chaque échantillon (0,3 g) de mousses était placé dans une éprouvette. La minéralisation consistait en une attaque nitrique à chaud, en milieu ouvert. Le chauffage était effectué jusqu'à disparition complète des fumées de NO_2 ; quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène complétaient la digestion (Berryman, 1991). Le contenu des éprouvettes était refroidi à 4°C avant d'être homogénéisé par un brassage manuel et transféré dans des éprouvettes de tailles inférieures pour les dosages.

Dosages

Avant d'effectuer les analyses, il importait de s'assurer que la solution était à la température de la pièce. En effet, un échantillon froid pouvait causer des interférences physiques; celles-ci se dénotaient dans les résultats lors des dosages. Les échantillons de mousses furent analysés par spectro-absorption atomique à l'aide d'un spectrophotomètre atomique (Varian) de type AA1275 sur flamme air/acétylène. Dans l'étude, les métaux considérés comme étant essentiels pour les organismes étudiés sont: Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ et le Zn^{++} .

Analyses statistiques

Une analyse de variance a été effectuée pour déterminer l'influence des concentrations dans l'eau et le temps d'exposition sur la concentration dans la mousse. Les variables indépendantes choisies pour ce test ont été les concentrations aqueuses en cadmium et le temps d'exposition. Les concentrations en Cd dans les tissus de *F. dalecarlica* et *P. riparioides* représentaient la variable dépendante. En fait, la somme des carrés de type II aura permis de décrire le taux de variation de la variable dépendante (Cd dans les mousses) pouvant être attribuable à la variation de chacune des variables indépendantes (Kilgour, 1991; Tessier *et al.*, 1995). Ce type d'analyse informe à savoir si la concentration dans l'eau, le temps d'exposition ou l'interaction des deux paramètres peut expliquer la majorité du taux de variation en métal dans les tissus muscinés.

Puisque l'objectif premier était de déterminer les relations entre les divers cations, des matrices de coefficients de corrélation (Pearson) sont également présentées dans la section résultats. Un coefficient de corrélation de Pearson représente le degré de liaison entre des variables quantitatives et aléatoires (Scherrer, 1984) et s'exprime selon:

$$r = \frac{S_{xy}}{S_x S_y}$$

où r = coefficient de corrélation de Pearson
et S_{xy} , la covariance de x et y .

RÉSULTATS

Les résultats de l'analyse de variance pour les deux genres étudiés sont présentés dans les tableaux un et deux. Pour *F. dalecarlica*, la somme des carrés pour la concentration en cadmium dans l'eau, le temps d'exposition et l'interaction des deux paramètres est respectivement de 5 469, 287 050 et 154 728 alors que pour *P. riparioides*, les valeurs sont de 8 100, 137 684 et 65 951. Tous les paramètres analysés ont un effet significatif ($p < 0,05$) sur le contenu tissulaire en cadmium sauf l'eau ($p > 0,05$) pour *F. dalecarlica*. L'interprétation de l'analyse de variance est renforcée par un R^2 multiple de 0,912 (*F. dalecarlica*) et de 0,878 (*P. riparioides*).

Des matrices de coefficients de corrélation (Pearson) ont également été effectuées pour déterminer l'effet synergique et/ou antagoniste des éléments biologiquement essentiels vis-à-vis l'entrée de Cd avec ou sans EDTA. Étant donné l'ampleur des matrices, nous vous présentons les résultats les plus intéressants.

En présence d'EDTA (aquariums un à cinq), le zinc est corrélé négativement avec le temps et est significatif pour les deux mousses étudiées. Les coefficients de corrélation de Pearson variant entre -0,59 et -0,79. Pour le magnésium, des corrélations avec le paramètre temps furent plus difficiles à établir. En fait, les degrés de liaison sont aussi négatifs pour la majorité des aquariums mais leurs significations étant plus faibles. À l'exception des aquariums un, neuf et dix ($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd), les coefficients de corrélation de Pearson sont hautement significatifs entre le magnésium et le sodium pour *F. dalecarlica* et *P. riparioides*. Par exemple, *F. dalecarlica* montre

un coefficient de Pearson moyen de 0,71 ($p < 0,001$) pour les aquariums deux à sept. Quant au degré de liaison unissant le magnésium et le zinc, il est élevé (0,65) et hautement significatif ($p < 0,001$) pour les mousses en présence d'agent complexant (aquarium un à cinq). Ces observations étant plus évidentes du côté de *P. riparioides* ($r = 0,72$ et $p < 0,001$). Enfin, des relations de liaison sont plus difficiles à établir entre le potassium et le sodium principalement chez *F. dalecarlica* où l'ensemble des aquariums présente une probabilité non-significative ($p > 0,05$) (Tab III et IV). Du côté de l'élimination, les coefficients de corrélation de Pearson sont extrêmement faibles et peu significatifs ($p > 0,05$).

À l'examen des figures (annexe e), les concentrations en calcium sont plus petites chez *F. dalecarlica* ($2,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) que chez *P. riparioides* ($2,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Le magnésium chute de $1,2$ à $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour *F. dalecarlica* alors que chez *P. riparioides* ses concentrations passent de $3,5$ à $2,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ avant la correction du pH. Le potassium est relativement stable avec une moyenne respective de $2,7$ et de $4,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. De son côté, le sodium chute dès les premiers instants de l'expérimentation oscillant entre $0,2$ et $1,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour les deux espèces étudiées. Quant au zinc, ses concentrations sont très instables et fluctuent entre $0,2$ et $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour les deux espèces étudiées.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'ensemble des résultats indique que le contenu tissulaire en cadmium chez *P. riparioides* (287 050) semble être influencé davantage par des variations dans le temps que chez *F. dalecarlica* (137 684). Les résultats de la somme des carrés obtenus à partir de l'ANOVA permettent de justifier cette assertion. On note que dans

les deux cas, le temps d'exposition explique majoritairement les concentrations obtenues en cadmium dans les mousses. En fait, il ressort que la concentration dans l'eau a peu d'effet sur les concentrations dans les bryophytes. Toutefois, l'interaction du temps et de la concentration dans l'eau influe sur les concentrations tissulaires.

Les concentrations en sodium dans les mousses avec et sans EDTA sont semblables (annexe e) et démontrent que le sodium contenu dans la molécule n'influence pas les concentrations dans les organismes (Samson *et al.*, 1994 AATW).

Le calcium est relativement stable pour les deux genres étudiés. Nos résultats montrent des concentrations légèrement supérieures dans le cas de *Platyhypnidium*. Par ailleurs, la couleur de la flamme lors des dosages laissait supposer des quantités beaucoup plus importantes (annexe e).

Suite aux résultats obtenus, il apparaît que le zinc peut subir facilement des échanges ioniques puisque que les concentrations sont très variables pour chacun des temps de prélèvement. Dans l'état actuel de nos travaux, il semble que le zinc puisse jouer un rôle de synergisme (corrélation positive avec le temps) en favorisant l'entrée de cadmium (10 et 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) lorsque l'agent complexant est absent. De plus, il est possible qu'en absence d'EDTA, le zinc ne soit pas complexé, permettant ainsi sa pénétration dans la mousse. Par ailleurs, des études réalisées en août dernier permettent d'appuyer cette hypothèse. Nos résultats ont démontré que les mousses avaient un grand pouvoir d'accumulation du zinc à partir de l'eau de distribution (Samson *et al.*, 1995 ACFAS).

Notons enfin que les concentrations tissulaires en magnésium ont diminué pour l'ensemble des mousses provenant possiblement d'une dégradation naturelle des plantes associée à la chlorophylle (photosynthèse) ou d'un effet antagoniste; réponse à l'entrée du cadmium. Même si l'état de santé des mousses s'était dégradé, il appert que la capacité de fixation du cadmium n'en aurait pas été affecté puisqu'il s'agit d'un processus presque exclusivement passif (barrière de diffusion, dans la membrane cellulaire) (Tyler, 1990).

Globalement, des corrélations entre métaux essentiels sont plus faciles à établir en présence d'un agent complexant car la mousse n'est pas influencée par un déséquilibre ionique provoqué par une entrée massive du polluant.

Pour la phase post-exposition, des corrélations furent difficiles à établir et suggèrent peu d'interactions possibles entre les divers éléments. Les résultats obtenus démontrent les difficultés rencontrées afin d'analyser tous les mécanismes physiologiques contrôlant l'entrée et la sortie des éléments dans les cellules végétales. Conséquemment, notre étude aura permis de démontrer la complexité des mécanismes cellulaires régissant les échanges ioniques.

RÉFÉRENCES

Berryman, D. 1991. Mise à l'essai et comparaison de cinq traceurs de substances toxiques dans le Saint-Maurice. 74 pp.

Crum, H. A. et L. E. Anderson. 1960. Mosses of the Eastern North America. Columbia University Press, New-York. Vol 2. 703 pp.

Glime, J.M. 1982. Responses of *Fontinalis hypnoides* to seasonal temperature variations." *J. Hattoriti. Bot. Lab.* 53 : 181-193.

Kilgour, B.W. 1991. Cadmium uptake from cadmium-Spiked sediments by four freshwater invertebrates. *Bull. Environ, Contam. Toxicol.*, 47

Mouvet, Christophe. (1987) Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome, et cuivre par des mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Rapport de recherche, Université de Metz. Agence de bassin Rhône-Méditerranée-Corse. 122 pp.

Pickering, D.C. et I.L. Puia, 1969. Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiol. plant.*, 22: 653-661.

Saitoh, M., K. Narita et S. Isikawa.1970. Photosynthetic nature of some aquatic plants in relation to temperature. *Bot. Mag. Tokyo* 83: 10-12.

Samson, G., G. Vaillancourt et L. Pazdernik. Évolution temporelle des métaux biologiquement essentiels de la flore muscinale lors d'étude en laboratoire. 21st Annual Aquatic Toxicity Workshop, Sarnia (Ontario) 2 au 5 octobre 1994.

Samson, G., G. Vaillancourt et L. Pazdernik. Utilisation de mousses ensachées comme traceur de la contamination métallique dans le haut estuaire du St-Laurent. Congrès de l'Association Canadienne Française pour l'Avancement des Sciences. Université du Québec à Chicoutimi, Mai 1995.

Scherrer B. 1984. Biostatistique. Gaétan Morin éditeur. Boucherville. Québec. 850pp.

Sigg, L., W. Stumm et P. Behra. 1992. Chimie des milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. Masson, Paris France. 391 pp..

Tessier, L., Vaillancourt, G., et Pazdernik, L. 1995. Laboratory study of Cd and Hg uptake by two freshwater molluscs in relation to concentration, age and exposure time. *Water Air and Soil Pollut.* (en impression)

Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy metals: a literature review. *Bot. J. Lin. Society*, 104: 231-253.

Espèces étudiées



Figure 1.: Photographie de *Fontinalis dalecarlica* Schimp ex. B.S.G.

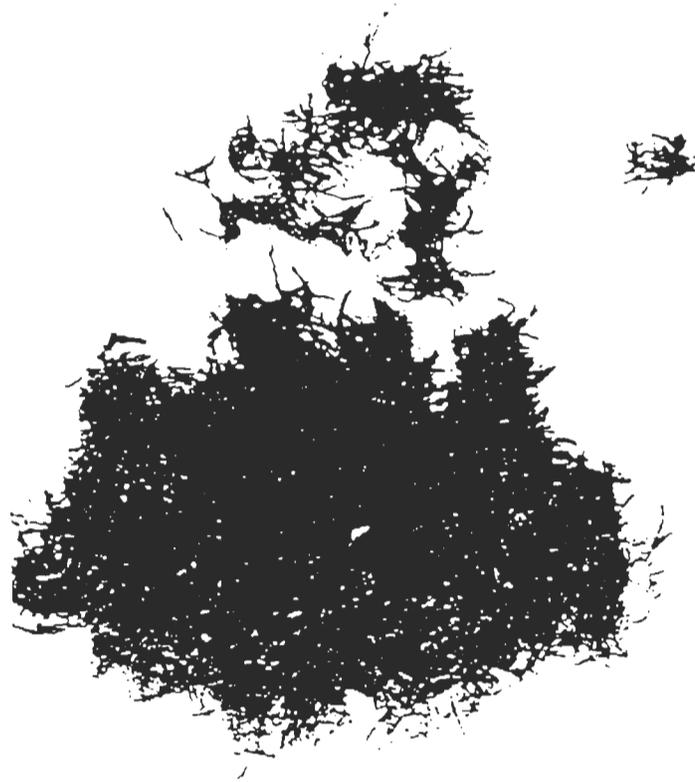


Figure 2.: Photographie de *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix.

Tableau 1.: Résultats de l'ANOVA montrant les relations entre la concentration dans la mousse, l'eau et le temps d'exposition pour *F. dalecarlica* dans les aquariums six, sept, huit et neuf.

Source	Somme des carrés	DL	Variance Carrés-moyen	F-Ratio	p
Eau	5 469,43	3	1 823,14	2,01	0,12
Temps	287 050,16	1	287 050,16	316,44	<0,001
Eau *Temps	154 728,16	3	51 576,05	58,86	<0,001
Erreur	68 940,95	76	907,12	***	***

$R^2 = 0,912$

N = 84

*** = ne s'applique pas

Tableau 2.: Résultats de l'ANOVA montrant les relations entre la concentration dans la mousse, l'eau et le temps d'exposition pour *P. riparioides* dans les aquariums six, sept, huit et neuf.

Source	Somme des carrés	DL	Carré-moyen	F-Ratio	p
Eau	8 100,43	3	2 700,15	4,06	0,01
Temps	137 684,56	1	137 684,56	206,92	<0,001
Eau *Temps	65 951,63	3	21 983,88	33,04	<0,001
Erreur	50 570,94	76	665,41	***	***

$R^2 = 0,878$

N = 84

Tableau 3.: Matrice de corrélation (Pearson) des éléments essentiels pour *F. dalecarlica*.

Aquanum	temps-Zn		temps-Mg		Mg-Na		Mg-Zn		K-Na	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
1	-0,71	<0,001	-0,35	N.S.	0,44	0,05	0,57	<0,001	-0,09	N.S.
2	-0,70	<0,001	-0,48	0,03	0,75	<0,001	0,74	<0,001	0,36	N.S.
3	-0,78	<0,001	-0,33	N.S.	0,59	<0,001	0,54	0,01	-0,08	N.S.
4	-0,78	<0,001	-0,48	0,03	0,76	<0,001	0,69	<0,001	0,04	N.S.
5	-0,79	<0,001	-0,65	<0,001	0,71	<0,001	0,69	<0,001	0,29	N.S.
6	0,17	N.S.	-0,55	0,01	0,71	<0,001	-0,03	N.S.	0,03	N.S.
7	0,40	N.S.	-0,55	0,01	0,76	<0,001	-0,16	N.S.	-0,05	N.S.
8	0,48	0,03	-0,19	N.S.	0,34	N.S.	0,19	N.S.	0,20	N.S.
9	0,54	0,01	0,05	N.S.	0,42	N.S.	0,45	0,04	0,45	0,04
10	-0,05	N.S.	-0,58	0,05	0,38	N.S.	0,53	N.S.	0,22	N.S.

$p > 0,05$ N.S. (non-significatif)

$p < 0,05$ significatif

$p < 0,01$ hautement significatif

$p < 0,001$ très hautement significatif

Tableau 4.: Matrice de corrélation (Pearson) des éléments essentiels pour *P. riparioides*.

Aquarium	temps-Zn		temps-Mg		Mg-Na		Mg-Zn		K-Na	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
1	-0,66	<0,001	-0,66	<0,001	0,54	0,01	0,72	<0,001	0,33	N.S.
2	-0,59	0,01	-0,64	<0,001	0,79	<0,001	0,82	<0,001	0,51	0,02
3	-0,70	<0,001	-0,47	0,04	0,61	<0,001	0,64	<0,001	0,14	N.S.
4	-0,63	<0,001	-0,62	<0,001	0,68	<0,001	0,71	<0,001	0,55	0,01
5	-0,75	<0,001	-0,53	0,02	0,71	<0,001	0,71	<0,001	0,50	0,02
6	0,53	0,02	-0,68	<0,001	0,80	<0,001	-0,41	N.S.	0,71	<0,001
7	0,74	<0,001	-0,63	<0,001	0,65	<0,001	-0,55	0,01	0,65	<0,001
8	0,01	N.S.	-0,40	N.S.	0,71	<0,001	0,64	<0,001	0,53	0,02
9	-0,02	N.S.	-0,23	N.S.	0,44	N.S.	0,60	0,01	0,56	0,01
10	-0,29	N.S.	-0,79	<0,001	0,48	N.S.	0,55	N.S.	0,60	0,05

$p > 0,05$ N.S. (non-significatif)

$p < 0,05$ significatif

$p < 0,01$ hautement significatif

$p < 0,001$ très hautement significatif

L'agent complexant EDTA est utilisé pour simuler, le plus fidèlement possible, les interactions chimiques dans l'environnement.

**ÉVALUATION DU POUVOIR COMPLEXANT DU EDTA LORS D'ÉTUDES
IN VITRO DE LA BIOACCUMULATION DU CADMIUM SUR DES
BRYOPHYTES.**

**Ghyslain SAMSON, Martin DESSUREAULT, LeRoy PAZDERNIK et Guy
VAILLANCOURT.**

Université du Québec à Trois-Rivières, Département de chimie-biologie, Laboratoire
de Faune aquatique. C.P. 500, Trois-Rivières (Québec), Canada G9A 5H7.

RÉSUMÉ

L'expérience menée est basée sur l'étude d'un agent complexant affectant l'accumulation et le relargage du cadmium par des mousses aquatiques. En raison de sa ressemblance avec les agents chélateurs naturels, l'EDTA entrave plusieurs processus majeurs et simule bien les différentes conditions de l'environnement; l'intégration de substances toxiques en est par conséquent limité. Une telle substance, qui ralentit l'accumulation, permet de mieux suivre le cheminement de toxiques dans des organismes vivants. Par comparaison de deux méthodes, une chimique (titrage) et l'autre instrumentale (spectro-absorption atomique), il nous a été possible de vérifier les teneurs en EDTA ajouté ($3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); les deux techniques offrant des patrons semblables. Nos résultats démontrent qu'en absence d'agent synthétique l'accumulation du cadmium est supérieure et que des facteurs de bioconcentrations peuvent être obtenus à partir d'un modèle informatisé. Les données calculées sont corroborées avec celles obtenues par approximations informatisées. Un pH acide aurait un rôle analogue à l'agent complexant étudié.

ABSTRACT

This experience is based on chelating agent study who affect build-up and depuration of cadmium by aquatic mosses. EDTA effects are similar to natural agents, its use is interesting because it simulates a variety of environmental conditions. A synthetic agent-EDTA-permit to follow the toxicants advancing in life organisms. By comparison of two methods; one chemical and the other instrumental, it's possible to verify the EDTA concentrations. Therefore, our results demonstrated that without synthetic agent the cadmium accumulation is higher and it's possible to obtain that by modelling computer. Our calculated data are corroborated with data from computer. An acid pH has been an analog effect than the study complex agent.

INTRODUCTION

L'industrialisation et l'intensification des activités humaines sont à l'origine de l'accroissement de la dispersion de polluants dans les milieux naturels. Il est maintenant bien connu, les mousses aquatiques représentent une catégorie de bioaccumulateurs très performants. Chez elles, l'accumulation est fonction du temps d'exposition. Les mesures effectuées dans ces végétaux témoignent également de la rapidité avec laquelle elles accumulent. Diverses hypothèses ont été jusqu'à maintenant soulevées pour expliquer la résistance des mousses à la contamination. Selon Tyler (1990), les métaux demeurent dans la paroi cellulaire d'où leur grande tolérance.

Les mousses sont des biomoniteurs de substances toxiques dont les tissus peuvent servir à étudier la contamination du milieu par les polluants (Berryman et Richard, 1992). Elles concentrent les métaux à partir de l'eau (par échanges ioniques) d'où la simplicité relative et le coût limité des analyses (Mouvet, 1987), elles possèdent des facteurs d'accumulation parmi les plus élevés de tous les compartiments de l'écosystème aquatique (Empain *et al.*, 1980; Wehr et Whitton, 1983a), elles se développent durant toute l'année et leurs peuplements sont stables dans le temps et l'espace (Wehr et Whitton, 1983b; Mouvet, 1986), elles accumulent en quelques heures ou jours, un grand nombre de polluants et se décontaminent après un certain temps (de l'ordre de la semaine ou du mois) permettant ainsi la détection de pollutions accidentelles) (Mouvet, 1983; Pensel, 1984; Mouvet, 1986). Parce qu'elles ont des feuilles qui sont extrêmement petites, les mousses ont un rapport surface-volume élevé faisant d'elles d'excellentes bio-échangeuses d'ions avec l'eau (Erdman et Modreski, 1984).

D'abord, il faut voir la mousse comme un organisme très simpliste. En effet, les feuilles n'ont qu'une couche de cellules (Smith, 1978; Thomas, 1979); le nombre élevé de petites feuilles favorise une plus grande surface de contact. Aussi, la présence d'acides carboxyliques, polyuroniques et glucoroniques fait en sorte que ses parois présentent des sites négatifs (Breuer and Melzer, 1990; Tyler, 1990; Mouvet *et al.* 1993). Puisque les métaux sont généralement chargés positivement, les sites électronégatifs de la mousse expliquent l'attraction, les échanges cationiques et parfois même la pénétration de métaux à l'intérieur de la cellule.

Il existe sur le marché divers ligands synthétiques tels: citrate de sodium,

tripolyphosphate de sodium, nitrilophosphate de sodium (NTA), acide éthylène diamine tétraacétique de disodium (EDTA) pour des usages industriels, le traitement des eaux, la composition de détergents et la préparation de certains types de nourriture. Les agents chélateurs sont dans certains cas, des stimulateurs de la croissance alguale (Gardiner, 1976).

De faibles quantités d'EDTA ont été longtemps employées dans les préparations de détergents de toutes sortes. La toxicité des métaux traces chez les poissons et les algues (Gardiner, 1976) peut être diminuée de beaucoup en présence d'un tel agent complexant. EDTA fut aussi utilisé pour compenser la faible capacité de complexation de l'eau de distribution, se rapprocher des conditions naturelles des eaux de surface et diminuer l'accumulation chez les organismes testés (Gardiner, 1976; Wehr *et al.*, 1987; Claveri *et al.*, 1994)

Des études en laboratoire sont souvent souhaitables car les conditions expérimentales sont plus faciles à contrôler que celles présentes dans la nature. Ayant comme objectif de simuler le plus fidèlement possible les caractéristiques de l'environnement naturel, nous avons utilisé un agent chélateur pour diminuer la biodisponibilité du cadmium. De plus, comme nous utilisons de l'eau de distribution pour nos recherches, l'augmentation du pouvoir de complexation était un facteur à considérer (Mouvet, 1987). Notre objectif premier était de vérifier l'influence du EDTA sur les concentrations en cadmium dans l'eau et de comparer les deux méthodes de dosages. Aussi, il devenait intéressant d'étudier l'influence d'un pH acide sur le taux d'accumulation du cadmium. Nous avons comparé des FBC (facteurs de bioconcentration) provenant de calculs mathématiques et d'approximations

informatisées à partir de valeurs choisies traitées par le logiciel Systat (version 5.2.1, 1992). Toutefois, de tels calculs ne sont possibles qu'en absence d'un ligand synthétique (aquariums sept, huit, neuf et dix) car l'accumulation y est significative.

MÉTHODOLOGIE

Un montage expérimental, basé sur celui de Mouvet (1986) a été mis au point de manière à pouvoir se rapprocher des conditions naturelles du milieu et d'assurer une régularité des concentrations en métaux. Le système est simple et privilégiait l'écoulement gravitationnel plutôt que mécanique. Un contrôle manuel permettait de maintenir le débit constant dans ce système dynamique. L'addition d'une substance de synthèse comme l'EDTA ($3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) était rendue nécessaire dans certains aquariums pour complexer les métaux et en maintenir constant les concentrations dans l'eau. L'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) a été préféré aux acides humiques et autres matières en suspension en raison de sa facilité d'utilisation.

Le prélèvement d'échantillons a été fait aux temps: 0, 1,5, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288, 336, 384, 432, 480, 528, 576, 624 et 672 heures. On prélevait dans les différents aquariums, la biomasse nécessaire aux trois réplicats (dix grammes humides) et ce pour les deux genres étudiés. Cette cadence aura permis de disposer d'un maximum de renseignements pendant la période initiale où l'accumulation est la plus rapide et de suivre l'évolution à long terme. Pour s'assurer de l'homogénéité des concentrations en cadmium, chacune des enceintes expérimentales de 30 litres contenait les deux espèces étudiées. Ainsi, chaque système avait les mêmes caractéristiques permettant d'avoir une plus grande justesse au niveau des

concentrations et des résultats obtenus. En tout, dix enceintes ont servis à la réalisation de l'étude; les aquariums un à cinq contenant de l'eau, du cadmium et du EDTA.

Dans cette série d'aquariums, nous avons étudié la cinétique d'accumulation et de relargage du cadmium avec et sans agent complexant. L'alimentation en eau des aquariums nécessitait l'utilisation de huit bassins selon les concentrations étudiées. Notons toutefois que les mousses présentes dans l'aquarium dix ont été soumises à l'accumulation du cadmium pour une période de dix jours seulement. Lors du remplissage des enceintes expérimentales, le cadmium et le ligand synthétique étaient ajoutés. La préparation de la solution aqueuse d'EDTA nécessitait l'usage d'un agitateur magnétique et d'une plaque chauffante pour favoriser la dissolution du sel.

Pourquoi utiliser un agent complexant?

Pour mener à terme nos recherches, nous avons opté pour l'emploi de l'EDTA dû à sa reconnaissance scientifique, sa simplicité et son coût peu élevé. La molécule d'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium ($\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) est relativement simple et comporte quatre sites négatifs:

Figure 1.: Molécule d'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium (EDTA)

Afin de simuler les mêmes effets que dans le milieu naturel, les études *in vitro* exigent l'emploi d'un ligand complexant lorsqu'on utilise l'eau de distribution. La quantité préétablie en EDTA utilisé pour les mousses aquatiques fut celle suggérée par Mouvet (1987). En effet, diverses concentrations ont été essayées lors d'études cinétiques et il semble que celle permettant de se rapprocher le plus près du pouvoir complexant de l'environnement aquatique est de $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Ainsi, en utilisant une telle quantité on impose un léger excès, ce qui assure qu'il y ait complexation de tout le cadmium présent dans la solution.

Dosages

Les dosages par spectroscopie des échantillons de mousses ou de l'eau nous permettent de connaître les concentrations totales en calcium. Quant à la méthode chimique, elle prévoit un titrage des ions calciques libres dans l'eau (pH=10). En soustrayant les valeurs obtenus par titrage du calcium dans l'eau de celles fournies par spectrométrie (calcium total), on obtient la quantité de calcium complexé. De là, on pouvait en tirer les valeurs de concentrations en EDTA présentes dans le milieu.

Analyses des données

Des FBC ont été calculés en soustrayant la concentration en cadmium contenue dans le témoin de celle présente au temps donné. En faisant le rapport de la concentration dans la mousse et de celle présente dans l'eau on trouvait ce facteur qui représente la capacité à accumuler un métal. Antérieurement, des FBC avaient été calculés à partir d'optimisations informatiques prévoyant un patron d'accumulation bi-compartimentés.

Un tel FBC tient compte d'une constante d'accumulation (K_1) et d'élimination (K_2) (van Hattum *et al.*, 1989; Tessier *et al.*, 1994). Ces données furent générées à partir des concentrations métalliques membranaires à l'état d'équilibre.

RÉSULTATS

Exception faite des premières heures de l'expérimentation, les concentrations aqueuses en cadmium sont demeurées stables et près des concentrations initiales pour les aquariums un à quatre. En effet, elles ont été maintenues à 50, 25 et 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ après la correction du pH au temps sept. Toutefois, les aquariums sept à dix n'ont pu conserver une concentration stable en absence d'agent chélateur, le cadmium chutant parfois de plus de 50% (25,2, 10,1 et 3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) (Fig. 2).

Figure 2.: Graphique des concentrations en cadmium dans l'eau lors de l'accumulation pour l'ensemble des enceintes expérimentales.

Figure 3.: Concentrations en ions Ca^{++} et Mg^{++} dans l'aquarium un.

À l'examen du processus d'accumulation, les données obtenues des deux méthodes suivent le même patron. En conséquence nous nous limiterons à présenter les résultats de l'aquarium un (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmium). Par ailleurs, les concentrations en calcium et en magnésium ont fluctué beaucoup dès les premiers instants de l'expérimentation pour se stabiliser après le huitième temps (96 heures). Entre les

temps six et sept, la concentration en calcium en solution est passée de 6,6 à 1,5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Pour le calcium en solution, on dénote une chute importante entre la troisième et la vingt-quatrième heure (temps trois et six). Cette baisse devenant plus importante entre le sixième et le septième temps passant de 6,34 à 1,38 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pour l'aquarium un. Le magnésium présente un patron analogue avec des diminutions de 0,94 à 0,06 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Fig.3).

Figure 4.: Courbe de titration avec EDTA en fonction du temps pour l'aquarium un.

Nous avons illustré à la figure quatre, les concentrations en calcium provenant de dosages à rebours. Les résultats provenant du volume utilisé en EDTA pour le dosage du calcium suivent un modèle semblable aux résultats des dosages en absorption atomique. Entre le sixième et le septième temps, le volume nécessaire pour le titrage est passé de 6,5 à 1,5 millilitres. Après rétablissement du pH, le volume devait se stabiliser autour de 4 mL.

Figure 5.: Évolution temporelle du pH dans les divers aquariums.

De façon générale, le pH des aquariums quatre, cinq, six et sept est relativement stable tout au cours de l'expérimentation. Quant aux aquariums un, deux, trois, huit, neuf et dix, le pH baisse entre le temps cinq et six pour atteindre la neutralité au septième temps suite à une correction à l'aide de phosphate d'ammonium $(\text{NH}_3)_2\text{HPO}_4$. Conséquemment, le pH de l'aquarium un est passé de 3,46 à 3,03 puis

à 6,82 aux temps respectifs de cinq, six et sept. Des études antérieures ont démontré qu'un pH acide diminue l'accumulation du cadmium de plus de 50% (Samson *et al.*, 1994 ACFAS).

Tableau 1.: Facteurs de bioconcentration de *F. dalecarlica* pour les aquariums sept, (10), huit (25), neuf (50) et dix (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmium).

Tableau 2.: Facteurs de bioconcentration de *P. riparioides* pour les aquariums sept, (10), huit (25), neuf (50) et dix (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cadmium).

De façon générale, les facteurs de bioconcentration sont plus élevés pour le genre *Fontinalis*. De plus, les FBC augmentent avec le temps: (FBC-24 = 5 390, FBC-96 = 20 230, FBC-240 = 30 750, FBC-384 = 39 250 et FBC-672 = 42 780) pour *F. dalecarlica* (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd) alors qu'ils n'atteignent que 2 420, 24 180, 29 960, 34 870 et 34 700 pour *P. riparioides*. Par conséquent, la valeur d'un FBC diminue avec une hausse de la concentration en polluant dans l'eau. À titre d'exemples, les FBC après 24 heures d'exposition sont de 5 390 (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 480 (25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) et de 130 (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) pour *F. dalecarlica*. Les FBC évalués à partir de K_1 et K_2 sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par rapport des concentrations tissus/eau (Tab. 1 et 2).

Les FBC calculés et approximés pour *F. dalecarlica* sont respectivement de 42 780 (38 800), 25 080 (19 300) et de 16 210 (15 400) pour les aquariums sept, huit et neuf. Par ailleurs, ils sont de 34 700 (33 200), 20 110 (14 300) et de 13 410 (9 380) pour

l'autre mousse étudiée.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'addition d'une molécule complexante est nécessaire pour éviter les écarts entre les résultats en laboratoire et ceux provenant du milieu naturel. EDTA complexe facilement le cadmium puisque les concentrations en cadmium dans l'eau ont été maintenues près des concentrations initiales de 50, 25 et 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Cependant, on considère que pour s'apparenter aux valeurs de l'environnement, il serait préférable d'utiliser l'acide fulvique ou humique présente naturellement dans l'environnement. Toutefois, la très grande diversité des acides humiques et leur pouvoir complexant mal défini en rendent délicate l'utilisation dans le but recherché ici. Les ligands forment des complexes très stables de sorte que la concentration des ions métalliques libres est bien plus faible que la concentration totale. De nombreux cations et ligands sont présents dans les eaux naturelles. Comme ils sont dépendants les uns des autres par différents équilibres, la variation des concentrations en métaux libres en fonction de leur concentration totale est de ce fait régulée par les concentrations des autres ions métalliques et ligands, tout particulièrement des ions majeurs tel le calcium (Sigg, Stumm et Behra, 1992). La diminution des capacités d'accumulation par les mousses peut être attribuée à la compétition pour les sites d'adsorption entre ces métaux et d'autres cations.

Les deux méthodes utilisées pour déterminer les concentrations en EDTA par dosages indirects sont intéressantes puisque les résultats suivent le même patron.

Ces mesures ont permis d'assurer que l'agent complexant était en excès lorsque la concentration utilisée était de $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Des études préliminaires avaient démontré que dans certains cas, un pH acide pouvait jouer un rôle similaire à celui du EDTA car la présence d'ions H^+ diminuerait le nombre de sites de fixation pour le cadmium. En fait, le pH affecterait la spéciation chimique du métal. Or considérant qu'une cellule de mousse est négative, le schéma ci-dessous représente les interactions possibles entre la mousse (négatif), le pH acide (positif) et le métal, ici le cadmium (positif):

Figure 6.: Représentation schématique des interactions physiques entre une cellule muscinale, les protons (pH) et le métal étudié.

À pH acide, les métaux sont généralement plus solubles dans les milieux aqueux. Toutefois, la présence d'une grande quantité d'ions H^+ pourrait expliquer ces concentrations élevées en calcium et en magnésium aux temps cinq et six. Suite à la correction entre les temps six et sept, la quantité d'ions H^+ étant moindre aurait favorisée une adsorption massive de calcium et de magnésium dans la plante expliquant la chute des concentrations dans l'eau. Après 96 heures d'exposition, la plante aurait procéder au rétablissement de son équilibre ionique par relargage de calcium et magnésium. L'atteinte de l'équilibre peut prendre quelques heures (Pickering et Puia, 1969) ou plusieurs jours (Mouvet *et al.*, 1986); tout dépend des conditions expérimentales (Claveri *et al.*, 1994).

Pour l'ensemble des aquariums, les FBC-672 évalués à l'aide du modèle informatisé sont légèrement inférieurs (38 800 et 33 200) à ceux calculés (42 780 et 34 700) pour *F. dalecarlica* et *P. riparioides*. Ces résultats sont très intéressants pour nous. En fait, ils permettent de vérifier l'efficacité des deux méthodes et de conclure que la mousse a atteint un état d'équilibre après 28 jours (pour le cadmium en absence d'EDTA).

RÉFÉRENCES

Berryman, D., et Y. Richard. 1992. Compte rendu d'une mission scientifique en France et en Belgique sur les indicateurs biologiques de la qualité des cours d'eau. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, (rapport QE 9206), Envirodoq: En 920055: 49 pp.

Breuer, K. et A. Melzer. 1990. Heavy Metal Accumulation (lead and cadmium) and Ion Exchange in three Species of *Sphagnaceae*. *Oecologia.*, 82: 468-473.

Campbell, J.H. et R.D. Evans 1987. Inorganic and organic ligand binding of lead and cadmium resultant implications for bioavailability. *Sci. Total Environ.* 62: 219-227.

Claveri, B., F. Guérold et J.C. Pihan (1993). Acidification des ruisseaux du massif vosgien et contamination métallique (Al, Mn, Pb et Cd): mise en évidence dans l'eau et dans les bryophytes transplantées. *Hydroécol. appli.* 5, vol 1: 11-125

Claveri, B., E. Morhain et C. Mouvet (1994). A methodology for the assessment of accidental copper pollution using the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Chemosphere* 28, no 11: 2001-2010.

Empain, A., C. Mouvet, J.J. Lambinon et R. Kirchmann. 1980. Utilisation des bryophytes aquatiques et subaquatiques comme indicateurs biologiques de la qualité des eaux courantes. *in* "La pollution des eaux continentales". P. Pesson, éditeur, 2^e édition. Gauthier-Villars, Paris (France): 195-223.

Erdman, J.A. et P.J. Modreski 1984. Copper and cobalt in aquatic mosses and stream sediments from the Idaho cobalt belt. *J. Geochem. Explor.*, 20:75-84.

Gardiner, J. 1976. complexation of trace metals by EDTA in natural waters. *Water Research*, 10: 507-514.

Lodenius, M. et S. Auklio. 1989. Effects of acidification on the mobilization of cadmium and mercury from soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 261-267.

Mouvet, C. 1983. 5^e journées scientifiques et techniques. L'eau, la recherche, l'environnement. Sous thème: Les végétaux. Collection Recherche Environnement, 22: 115-119.

Mouvet, C. 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques, synthèse méthodologique. Rapport des Agences de l'Eau Rhône Méditerranée Corse et Rhin Meuse: 110pp.

Mouvet, C., E. Pattée, et P. Cordebar. 1986. Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise de sources de pollution métallique multiforme. *Acta Oecologica Oecologia Applicata.* 7: 77-91.

Mouvet, Christophe. 1987 Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome, et cuivre par des mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Rapport de recherche, Université de Metz. Agence de bassin Rhône-Méditerranée-Corse. 122 pp.

Mouvet, C., E. Morhain, C. Sutter et N. Couturieux. 1993. Aquatic Mosses for the Detection and Follow-up of Accidental Discharges in Surface Water. *Water, Air and Soil Pollut.*, 66: 333-348.

Pensel, T. 1984. Cinétique d'accumulation et de relargage de métaux chez des bryophytes aquatiques en milieu naturel. D.E.A. en écotoxicologie, Université de Metz, France. 70 pp + annexes.

Pickering, D.C. et I.L. Puia. 1969 Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiol. Plant.* vol 22 : 653-661.

Samson, G., G. Vaillancourt et L. Pazdernik. Étude, *in vitro*, sur la cinétique d'accumulation et d'élimination du cadmium par deux bryophytes. Congrès de l'Association Canadienne Française pour l'Avancement des Sciences. Université du Québec à Montréal, Mai 1994.

Sigg, L., W. Stumm et P. Behra. 1992. Chimie des milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. Masson, Paris France. 391 pp.

Smith, A.J.E., 1978. The moss flora of Britain and Ireland. Cambridge University Press, 506 pp.

Smith, S.C., 1986. Base metals and stream sediments from a geochemical reconnaissance survey of Chandalar Quadrangle, Alaska. *J. Geochem. Explor.* 25: 345-365.

Thomas, W., 1979. Monitoring organic and inorganic trace substances by epiphytic mosses. A regional pattern of air pollution. *Trace substances in environmental health*, 13: 285-289.

Tessier, L., Vaillancourt, G., et L. Pazdernik. 1994. Comparative study of cadmium and mercury kinetics between the short-lived gastropod *Viviparus georgianus* (Lea) and the pelecypod *Elliptio complanata* (Lightfoot), under laboratory conditions. *Environ. Polluti.* 85: 271-282.

Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy metals: a literature review. *Bot. J. Lin. Society*, 104: 231-253.

van Hattum, B., P de Voogt, L. vanden Bosch, N.M. van Staalén, E.N.G. Joosse et H. Govers. 1989 Bioaccumulation of cadmium by the fresh-water isopod *Ascellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.*: 62: 129-151.

Wehr, J. D. et B. A. Whitton. 1983b. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 3: Seasonal changes *Hydrobiologia*, 100: 261-284.

Wehr, J.D., M.G. Kelly et B.A. Whitton. 1987. Factors affecting accumulation and loss of zinc by the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides* (Hedw) C. Jens. *Aquati. Bot.* 29: 261-274.

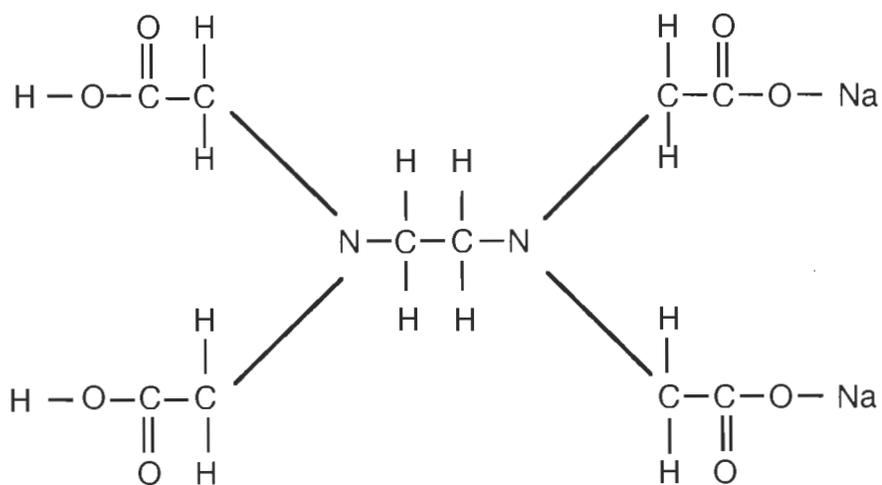


Figure 1.: Molécule d'acide éthylène diamine tétraacétique de disodium.

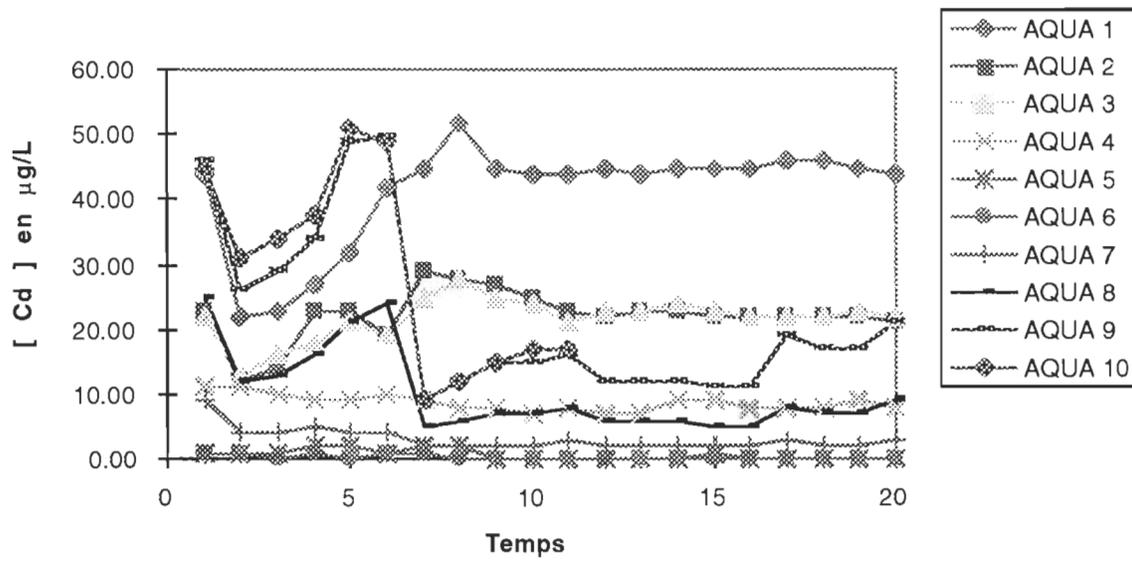


Figure 2.: Concentrations en cadmium dans l'eau lors de l'accumulation pour les dix aquariums.

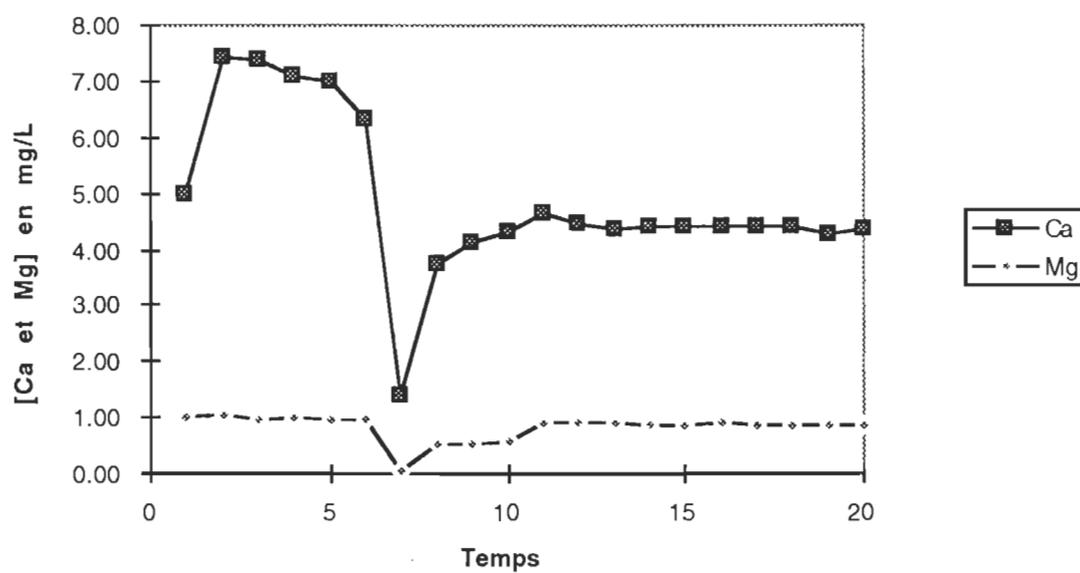


Figure 3.: Concentrations en calcium et en magnésium dans l'eau par dosages en spectro-absorption atomique (aquarium un).

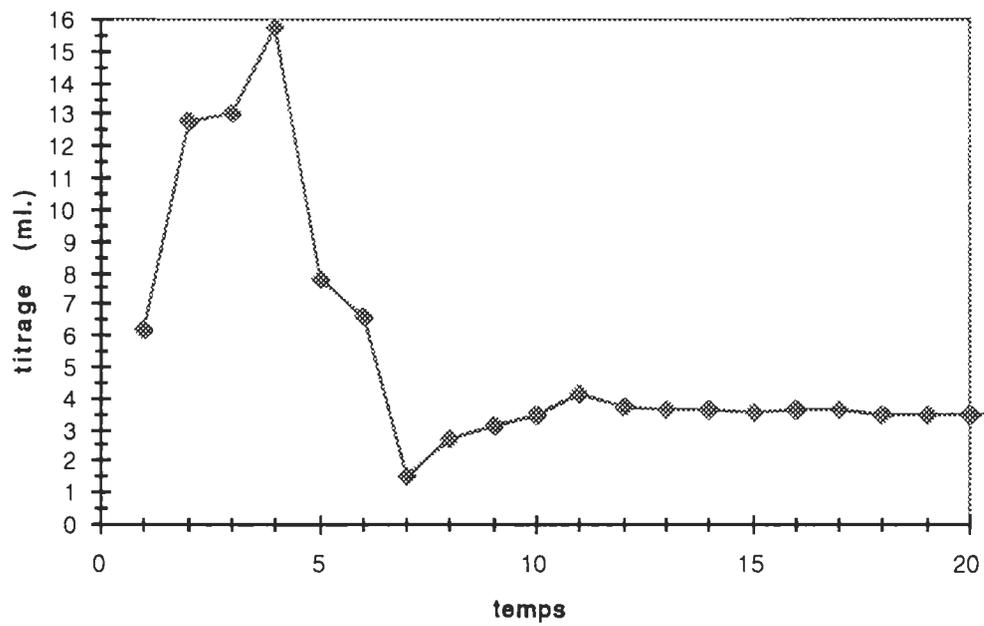


Figure 4.: Évolution temporelle du calcium dans l'eau par dosages avec EDTA utilisant la méthode chimique (aquarium un).

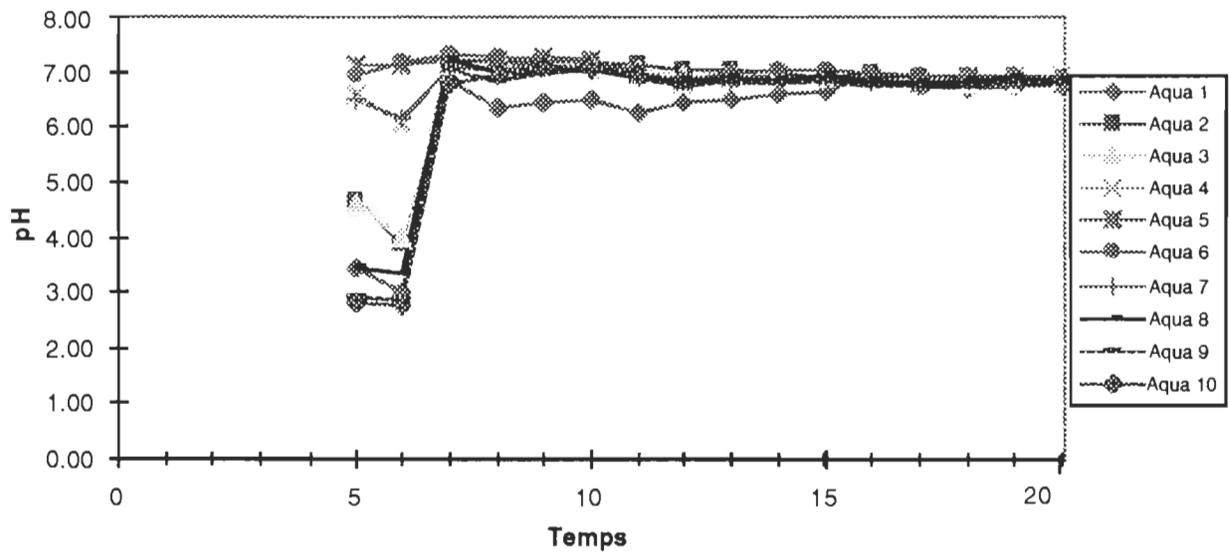


Figure 5.: Graphique du pH en fonction du temps pour l'ensemble des aquariums.

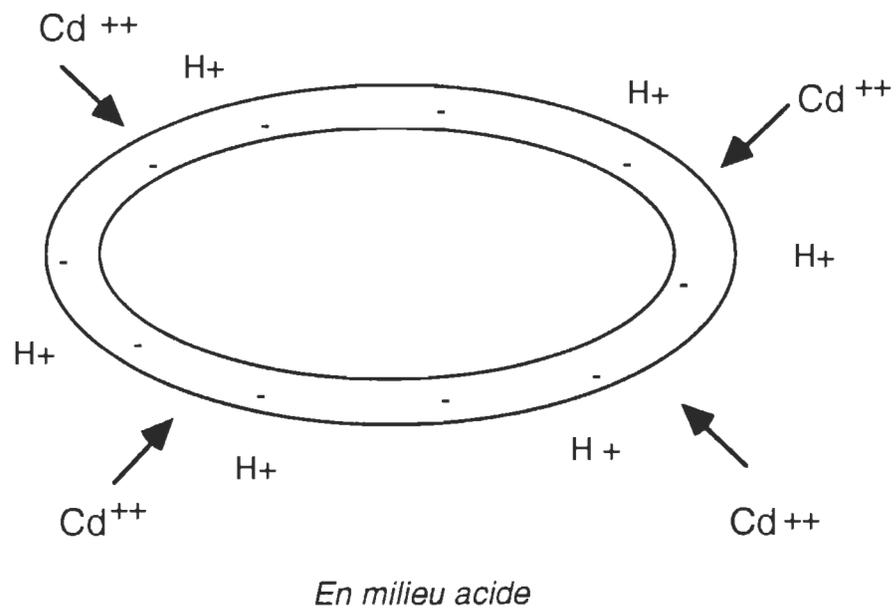


Figure 6.: Représentation schématique des interactions physiques entre une cellule musculaire, le pH et le métal étudié.

Tableau 1.: Facteurs de bioconcentration de *F. dalecarlica* pour les aquariums sept ($10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), huit ($25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), neuf ($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) et dix ($50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd).

	Aqua 7	Aqua 8	Aqua 9	Aqua 10
FBC-24*	5 390	480	130	180
FBC-96	20 230	12 080	9 240	8 020
FBC-240	30 750	21 400	11 920	12 490
FBC-384	39 250	28 690	20 380	Nd***
FBC-672	42 780	25 080	16 210	Nd
	(38 800)**	(19 300)	(15 400)	(11 000)

*Le chiffre suivant le FBC représente le temps d'exposition

**Entre parenthèses: approximation informatisée

***Nd: données non-disponibles

Tableau 2.: Facteurs de bioconcentration de *P. riparioides* pour les aquariums sept (10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), huit (25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), neuf (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) et dix (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd).

	Aqua 7	Aqua 8	Aqua 9	Aqua 10
FBC-24*	2 420	1 180	660	650
FBC-96	24 180	9 820	7 680	7 520
FBC-240	29 960	15 480	9 360	9 380
FBC-384	34 970	22 040	15 100	Nd***
FBC-672	34 700	20 110	13 140	Nd
	(33 200)**	(14 300)	(9 380)	(6 730)

*Le chiffre suivant le FBC représente le temps d'exposition

**Entre parenthèses: approximation informatisée

***Nd: donnés non-disponibles

PERFORMANCE DE MOUSSES ENSACHÉES COMME TRACEUR DE LA CONTAMINATION MÉTALLIQUE DANS LE HAUT ESTUAIRE DU SAINT-LAURENT. Ghyslain SAMSON, Guy VAILLANCOURT et LeRoy PAZDERNIK

Laboratoire de la Faune Aquatique. Département de Chimie-biologie, Université du Québec à Trois-Rivières, C.P. 500, Trois-Rivières (Québec) G9A 5H7.

RÉSUMÉ

La technique des mousses ensachées est utilisée depuis les deux dernières décennies (Martin et Coughtrey, 1982). Les expériences menées dans un environnement industriel (Société du parc industriel de Bécancour) ont permis d'appliquer cette méthode au Québec et de vérifier les conditions d'utilisation d'un tel organisme sentinelle allochtone. Cette étude présente les résultats de l'accumulation de métaux par *Fontinalis dalecarlica* ayant été prélevée à un même site, à différentes périodes de l'année. Les données démontrent une légère contamination en aluminium (2,5 à 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) et en magnésium (1,5 à 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) selon les stations. Quant au cadmium, ses concentrations sont inférieures à la limite de détection. Même si le zinc semble être un élément stable, on dénote une différence de concentrations (0,2 et 0,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) dans les mousses; cet écart serait attribuable à la date de récolte des spécimens. Enfin, on considère que pour un suivi environnemental en milieu aquatique, les résultats obtenus à l'aide de cette méthode sont satisfaisantes.

ABSTRACT

The moss bags technic is know since 1970 (Martin et Coughtrey, 1982). The conducted experiences in industrial environment (Société du parc industriel de Bécancour) has permit to apply this method in Quebec province and to verify their application. This study present results of metals accumulation by *Fontinalis dalecarlica* from the same site at differents times of the year. The data suggest a contamination in aluminum (2,5 à 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and magnesum (1,5 à 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) in relation with station position. The cadmium concentration is lowest than detection limit of the apparetous. We find a difference in zinc concentrations (0,2 and 0,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) between specimens of *Fontinalis*; this range is attribute to date of sampling. We considered that mosses was interesting for monitoring and assessment of an aquatic area.

INTRODUCTION

Le fleuve Saint-Laurent constitue l'une des principales portes d'entrée du continent nord-américain. D'une longueur totale de 3060 kilomètres, le couloir fluvial présente des milieux humides exceptionnels comme aires de reproduction, d'alimentation ou simplement de repos pour la faune en général. L'urbanisation et l'industrialisation menacent l'équilibre naturel et causent un stress considérable à ce système hydrologique. Au Québec, on considère que près des deux tiers de la population résident sur les rives du fleuve et y prélèvent chaque jour, environ six milliards de litres d'eau (Atlas environnemental du Saint-Laurent, 1991).

L'arrivée de l'ère industrielle a fait en sorte que la qualité de nos cours d'eau s'est dégradée. Depuis, on a dû procéder à l'évaluation environnementale des milieux aquatiques. Dans le passé, les données ponctuelles prises sur le terrain étaient satisfaisantes. Toutefois, la révolution industrielle a fait en sorte que de plus en plus de polluants sont identifiés et l'inconvénient majeur réside dans les concentrations qui sont parfois en deçà de la limite de détection d'où l'avantage d'avoir recours aux indicateurs biologiques.

De nos jours, une partie des efforts est centrée sur le développement de traceurs servant à l'identification des toxiques. L'indicateur accumule les polluants organiques et inorganiques de manière à refléter les conditions du milieu. Que ce soit un indicateur biologique, physiologique, biochimique ou autres, le but est toujours le même: concentrer les éléments toxiques pour pouvoir les enregistrer. Des organismes vivants ou bioindicateurs procurent des capacités d'enregistrement qui tiennent compte des réponses actuelles des organismes ou populations aux variables environnementales (Martin et Coughtrey, 1982; Markert, 1991).

Le choix d'un indicateur est une étape importante lors d'un suivi environnemental. Il importe de considérer différents facteurs tels la saison, le type de polluants, le site étudié, etc. L'usage de végétaux est, dans plusieurs cas, préféré au règne animal parce que ses conditions de vie sont plus rudimentaires; l'emploi de mousses aquatiques étant envisageable à cause de leurs simplicités physiologique et morphologique. Pour plusieurs raisons, les mousses aquatiques sont utilisées pour le suivi environnemental (Empain *et al.*, 1980; Mouvet, 1984; Mouvet, Galoux et Bernes, 1985; Penuelas, 1985; Mouvet, Pattée et Cordebar, 1986b; André et Lascombe, 1987; Kelly, Girton et Whitton,

1987; Berryman, 1990; Martinez et Nunez, 1991; Lopez, Vazquez et Carballeira, 1994). Cependant, comme c'est le cas au Québec, les mousses sont rares dans les cours d'eau étudiés. Pour remédier à la situation, il faudra parfois transférer des spécimens pour le suivi de la qualité des eaux (Tyler, 1990).

La technique des mousses ensachées est maintenant bien connue de la communauté scientifique européenne. Les avantages et les inconvénients de cette méthode ont été discutés en détail pour les habitats terrestres par différents auteurs (Martin *et al.*, 1982). En effet, depuis 1970, cette méthodologie est reconnue comme indicateur des conditions de pollution et plusieurs agences environnementales exploitent ses capacités.

Les mousses transférées procurent certains avantages: une station locale particulière peut être choisie indépendamment de la présence ou de l'absence de populations indicatrices, une étude limitée dans le temps permet l'évaluation de la situation récente de contamination, des organismes avec le même historique de vie peuvent être utilisées quand plusieurs sites sont étudiés (Mersch et Pihan, 1993), l'absence d'organismes indicateurs dans le site ne cause pas de problèmes puisque les mousses s'adaptent bien aux conditions du milieu. Des transplants sont utilisés pour l'évaluation de la qualité de l'eau en général (Bensons-Evans et Williams, 1976; Penuelas, 1985; Martinez et Nunez, 1991) et pour le suivi métallique (Mouvet, 1984; Kelly *et al.*, 1987; Sergio *et al.*, 1992; Lopez *et al.*, 1994)

À notre connaissance, il s'agit de la première étude *in vivo* utilisant une population muscinale dans le corridor fluvial. Les buts de nos travaux sont: 1) d'évaluer les

conditions environnementales du fleuve Saint-Laurent en bordure du parc industriel de Bécancour 2) de vérifier l'application et la validation de cette méthodologie 3) de démontrer les différences associées à l'origine des mousses au niveau du processus d'intégration de certains métaux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour l'étude, l'espèce indicatrice fut *Fontinalis dalecarlica* Schimp ex. B.S.G. en raison de sa présence dans certains cours d'eau dulçaquicoles québécois. Sa robustesse couplée à son mode de vie strictement aquatique ont fait d'elle un choix justifié pour l'évaluation de la contamination barymétrique. Aussi, sa forte taille présentait de nombreux avantages lors de manipulations comme la pesée, le nettoyage et les dosages.

Lieu de collecte

F. dalecarlica provenait d'un petit ruisseau de la réserve Mastigouche (St-Alexis-des-Monts, Québec). Deux dates avaient été retenues pour la cueillette des spécimens pouvant conduire à la phase expérimentale soient: le 30 septembre 1993 et le 21 juillet 1994. Une fois amassés, les mousses furent transportées au laboratoire et acclimatées durant une période variant de quelques jours à plusieurs mois avant de les soumettre à l'environnement aqueux du site industriel.

Ensachage

Seulement les tiges présentant un état de santé satisfaisant ont été ensachées. Dix grammes de mousses humides furent placés dans les sachets de nylon (style moustiquaire) de 12 x 15 centimètres. Les côtés étaient maintenus ensemble à l'aide d'un fil de nylon. Des mailles d'une ouverture de deux millimètres furent choisis pour répondre aux exigences d'échanges cationiques avec le milieu. Conséquemment, la petitesse des interstices aura permis de conserver le maximum de tiges à l'intérieur des pochettes.

Méthode utilisée

L'approche expérimentale développée repose sur des études européennes où les mousses aquatiques sont très utilisées pour l'évaluation environnementale des milieux aquatiques. L'expérience s'est déroulée sur une période s'étalant du 23 juillet 1994 au 12 août 1994 et la durée totale d'exposition prévue fut de 20 jours (temps cumulatif). Six stations ont servi de référence.

Présentation du site d'étude; situation des stations

La répartition et le positionnement des stations s'est fait suivant les caractéristiques physico-chimiques de l'eau, particulièrement la conductivité et selon l'emplacement des divers usines (annexe f).

- ①-En amont de la rivière Bécancour;
- ②-Entre le fossé de drainage (aval) et le rejet de Norsk-Hydro (amont);
- ③-En aval du ruisseau "Petit chenal d'en Bas";
- ④-En aval du phare près du ruisseau Tourigny;
- ⑤-Dans le chenal en provenance des terrains de l'aluminerie de Bécancour;
- ⑥-Dans la baie baignant les terrains de l'aluminerie. Le choix de celle-ci s'est fait en fonction de la conductivité car elle présentait des valeurs intermédiaires entre la cinquième station et les autres.

Pour l'implantation des mousses dans le milieu, une bouteille d'eau javellisante a servi de bouée. Ce même contenant était relié à un support (brique) à l'aide d'une corde de nylon. Les sachets, au nombre de sept, furent fixés au câble d'une longueur de deux mètres. Dans certains cas, il aura fallu deux briques comme point d'attache pour éviter la dérive des transplants. Les pochettes étaient submergées dans l'eau à une profondeur oscillant entre 0,5 et 1,0 mètres (Fig. 1). Par conséquent, la présence abondante de macrophytes à ces endroits limitait la disposition des sachets à la partie supérieure du montage. Ainsi, notre système assurait la surveillance de la contamination métallique des eaux superficielles.

Figure 1.: Représentation schématique du montage utilisé pour les mousses ensachées.

Fréquence de prélèvements

Pour chaque temps de prélèvements (Tab. 1), un sachet des divers types de mousses (St-A, Lab et Jrs) était retiré (Fig. 2). Au temps suivant, on ajoutait des mousses nouvelles (St-A) et de laboratoire (Lab) afin d'en tirer des comparaisons. Le but étant d'obtenir un patron de l'évolution temporelle et spatiale de la micropollution métallique de ce secteur.

Figure 2.: Schématisation de la procédure utilisée pour le prélèvement de mousses sur le fleuve Saint-Laurent.

Tableau 1.: Fréquence de l'échantillonnage sur le fleuve Saint-Laurent.

Durant la campagne de prélèvements, un sachet de chaque implant était retiré et on prélevait un échantillon d'eau pour l'analyse des métaux. Les différentes paramètres hydrauliques du fleuve (température, pH, conductivité et oxygène dissous) furent mesurées à l'aide d'appareils multi-fonctionnels (Hanna instruments Model HI 9025 et HI 9033). Quant à l'oxygène dissous, ses données ont été générées à partir d'un instrument YSI (Model 58).

Tableau 2.: Valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques selon les stations un à six.

Minéralisation

Ramené au laboratoire, les mousses étaient retirées des pochettes et lavées abondamment avec de l'eau déminéralisée. Cette étape était très importante pour les débarrasser des petits invertébrés (gammare). Par la suite, elles étaient placées sur un papier absorbant pour un séchage à l'air libre. Chaque sous-échantillon (réplicat) était séché à l'étuve à 110°C pendant 12 heures. Une fois l'étape de séchage complétée, on introduisit l'échantillon dans une éprouvette pré-identifiée. Ils furent soumis à une attaque nitrique pendant 7-8 heures ou jusqu'à disparition complète de la fumée; la réaction était achevée avec du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (Berryman, 1991). On laissait refroidir et on conservait à une température de 4° C dans la chambre froide de manière à provoquer une recondensation des vapeurs acides. Le minéralisat était par la suite dilué et jaugé à 50 millilitres avec de l'eau distillée. Un brassage manuel fut nécessaire pour assurer l'homogénéité des solutions.

Dosages

Les concentrations tissulaires furent déterminées par spectro-absorption atomique à l'aide d'un spectrophotomètre atomique (Varian) de type AA1275 sur flamme air/acétylène ou acétylène/oxyde nitreux selon le métal étudié. La validation des résultats est renforcée par l'utilisation de standards certifiés pour l'eau (Standard Reference Material 1643 C) et les mousses (Certified Reference Material BCR No 61). Les métaux dosés dans cette recherche furent les suivants: Al, Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni et Zn.

Analyses statistiques

Des matrices de coefficients de corrélation (Pearson) sont présentées dans la section résultats. Un coefficient de corrélation de Pearson représente le degré de liaison entre des variables quantitatives et aléatoires (Scherrer, 1984). C'est une mesure intéressante de la relation liant les deux variables mais n'indique pas de fait, une relation de cause à effet. Pour chacune des matrices, les valeurs suivies du symbole * indique un $p < 0,05$ (significatif) alors que ** correspond à un $p < 0,001$ (hautement significatif). Aussi, un facteur de bioconcentration a été calculé. Un FBC se traduit par la capacité à accumuler de ces organismes (Claveri *et al.*, 1993) et peut s'exprimer de deux façons. (voir fig.3 pour formules)

RÉSULTATS

Tableau 3.: Concentrations moyennes des éléments présents dans l'eau du fleuve pour les différentes stations .

Dans l'eau, les concentrations en métaux sont relativement faibles ($< 0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) sauf pour le calcium et le magnésium. En effet, le magnésium affiche une concentration moyenne de $2,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ et est très stable. Toutefois, on note de plus grandes variations spatiales pour le calcium. Ses concentrations fluctuent autour de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pour les stations un à quatre alors qu'aux stations cinq et six, les moyennes sont respectivement de 34 et de $28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Que ce soit dans l'eau ou dans les mousses, les concentrations en cadmium sont trop petites pour être dosées par spectroscopie sur flamme.

Tableau 4.: Normes métalliques acceptables pour l'eau brute (prise d'eau domestique) au Canada.

Dans l'ensemble, les normes suggérées sont respectées à l'exception du manganèse et du nickel où les concentrations dosées sont de 0,08 (E-T=0,01) pour les deux métaux alors que les normes suggèrent des concentrations inférieures à 0,05 et 0,0134 mg•L⁻¹. Notons toutefois que l'aluminium, le cadmium, le chrome et le cuivre n'ont pu être dosés en S.A.A. sur flamme.

Tableau 5.: Concentrations moyennes des éléments présents dans les mousses ensachées des stations un à six durant les 20 jours d'exposition.

Les concentrations en calcium dans les mousses sur une période de 20 jours varient pour l'ensemble des stations. Toutefois, pour les stations quatre, cinq et six les concentrations sont plutôt faible et parfois même négligeable entre le quatrième (13 µg•g⁻¹) et le douzième jour (13,5 µg•g⁻¹) pour atteindre finalement 20 µg•g⁻¹. Les concentrations en magnésium sont nettement plus élevées entre le premier et le dernier jour de l'expérimentation sauf aux stations cinq et six. Conséquemment, les mousses en contiennent 0,7 µg•g⁻¹ au temps zéro et 2,5 µg•g⁻¹ après le vingtième jour. Le cuivre voit chuter ses concentrations dès les premiers instants (1,5 à 0,6 µg•g⁻¹) et ce pour toutes les stations. De son côté, l'aluminium semble être relativement stable (3,3 µg•g⁻¹) dans le site étudié pour l'ensemble des stations à l'exception de la deuxième où les concentrations atteignent 4,2 µg•g⁻¹ à la fin de la phase d'accumulation (20 jours). Quant aux concentrations en zinc et en manganèse, elles demeurent assez stables avec une

moyenne respective de 3,6 et de 4,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Avec des concentrations inférieures à 0,5 et 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, le chrome et le nickel sont des métaux peu bioaccumulés (Tab. 5).

Tableau 6.: Facteurs de bioconcentration pour certains métaux selon les stations.

Pour l'aluminium, le chrome, le cuivre et le cadmium un FBC n'a pu être calculé car les valeurs des concentrations moyennes obtenues dans l'eau étaient trop faibles. Les FBC du zinc sont nettement supérieurs (100 à 1000 fois) à ceux des autres métaux. Un FBC (station un, Mg) augmente avec le temps passant de 0,383 (quatre jours) à 0,717 (vingt jours). Le FBC est dépendant du temps d'exposition et de la concentration dans l'eau. Par exemple, le magnésium affiche après 20 jours, des FBC de 0,717 0,786 0,651 0,723 0,525 et 0,525 pour les stations un à six.

Tableau 7.: Facteurs de bioconcentration du zinc pour les mousses nouvelles et anciennes.

De façon générale, le facteur de bioconcentration pour le zinc des anciennes mousses est dix fois plus élevés (206,2 et 70,0) que celui des mousses nouvelles (25,0 et 6,4) pour des FBC respectifs de deux et de quatre jours (exemple tiré: FBC-2/1 et 4/1 pour la station un où le premier chiffre indique le nombre de jours et le second, le réplicat). Quant au contenu tissulaire en cuivre, ses données sont aussi très intéressantes. Nous nous y attarderons davantage. Pour l'ensemble des stations, les coefficients de corrélation de Pearson entre le cuivre et le paramètre temps varient entre -0,748 et -0,836. Pour la

station un, les coefficients unissant le cuivre au Mg, Zn, Al, Cr, Mn, Ni et au Ca sont respectivement de -0,917, -0,871, -0,595, -0,884, -0,352, -0,449 et -0,912. Dans plusieurs cas, ils sont même significatifs ($p < 0,05$). Quant au chrome, ce métal ne semble pas être lié au temps puisque le r de Pearson ne dépasse pas 0,500 pour l'ensemble des stations.

À l'exception de la station un, les coefficients de corrélation entre le nickel et le calcium sont très élevés ($r = 0,822$); cette linéarité est renforcie par des $p < 0,05$. Pour l'ensemble des stations, le calcium et le magnésium montrent des relations significatives et des coefficients de corrélation très élevés qui sont respectivement de 0,935, 0,957, 0,918, 0,956, 0,930 et 0,886.

Enfin, notons que la station quatre est la seule à avoir présentée des probabilités très hautement significatives ($p < 0,001$). Dans en premier temps, le nickel indique un $r = 0,981$ alors que le degré de liaison avec le calcium est égal à 0,985.

Tableau 8.: Matrices de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve pour six les stations.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le fleuve Saint-Laurent est soumis à de multiples contaminations d'origines industrielle,

commerciale et agricole. La chimie de l'eau dans un environnement naturel dépend de la distribution dynamique des métaux, de la présence d'agents complexants et de l'interaction mutuelle avec l'habitat. Conséquemment, la méthode analytique pour l'eau présente l'inconvénient d'avoir des concentrations en deçà du seuil de détection et qui pourtant peuvent affecter l'environnement. Aussi, les données qui en découlent sont plutôt ponctuelles. Des analyses avec four au graphite sont présentement en cours afin de doser les métaux peu abondants et difficilement dosables en spectroscopie sur flamme. Des métaux analysés dans les eaux estuariennes du fleuve Saint-Laurent par spectroscopie à flamme, certains présentent des concentrations qui dépassent les normes acceptables pour la prise d'eau brute au Canada (Tab. 4).

Même si les concentrations en calcium dans l'eau sont élevées, il n'en demeure pas moins que le FBC est faible alors que pour le zinc on trouve de faibles concentrations dans l'eau et un facteur de bioconcentration très élevé; le zinc serait plus facile à bioaccumuler. Les ions zinc sont requis pour tous les organismes vivants (Pickering et Puia, 1969).

Suite aux résultats obtenus à partir de corrélation de Pearson, il semble que le cuivre présent dans les mousses fut éliminé dans l'eau du fleuve ce qui aurait favorisé l'entrée des autres métaux. Les mousses ont accumulé de façon significative le nickel sauf aux stations un (0,250) et six (0,781). Ce métal pourrait provenir de la rivière Bécancour puisque la station un était positionnée en amont de cette rivière. Une autre façon de démontrer l'impact de la rivière découle du nombre de corrélations significatives. Au total, la station deux en avait 23 alors que la moyenne pour les autres stations était de 13.

Même si les stations quatre, cinq et six aurait pu être davantage influencées par l'aluminium, c'est au niveau des stations un et deux que leurs coefficients sont les plus élevés. Il est plausible de croire que les effluents de l'aluminerie sont rejetés plus loin au large et que l'aluminium n'affecte pas les eaux riveraines de ce secteur.

Les résultats obtenus ont permis de faire ressortir diverses faiblesses dans l'approche méthodologique. À titre d'exemple, il aurait fallu considérer la période d'étiage car dans certains cas, l'eau du fleuve a subi une chute de près d'un mètre et ce en l'espace de quelques jours. Également, il aurait été souhaitable d'installer une station plus au large pour fins de comparaisons. Dans le futur, on pourrait utiliser les bouées existantes servant à la navigation maritime afin de fixer les mousses ensachées et d'évaluer le panache de pollution puisque plusieurs conduits d'effluents industriels sont dirigés vers le corridor central du fleuve.

L'ensemble des résultats que nous venons d'exposer révèle que les mousses ensachées représentent un outil intéressant puisqu'elles constituent un excellent instrument pour la détection de diverses substances organiques et inorganiques. Leurs facilités d'emploi donnent des résultats intéressants pour un suivi de la qualité des eaux et ce malgré les difficultés rencontrées.

RÉFÉRENCES

- André, B., et C. Lascombe. 1987. Comparaison de deux traceurs de la pollution métallique des cours d'eau: les sédiments et les bryophytes. *Sciences de l'eau*, 6 (2): 225-249.
- Bensons-Evans, K et P.F. Williams. 1976 Transplanting aquatic bryophytes to assess river pollution. *J. Bryol.* 9: 81-91.
- 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 QE9005), Envirodoq: En900140 QE/67/1: 77 pp.
- Berryman, D. 1991 Mise à l'essai et comparaison de cinq traceurs de substances toxiques sur le Saint-Maurice. Menviq. Direction de la qualité des cours d'eau. Août, 74 pp.
- Claveri, B., F. Guérold et J.C. Pihan 1993. Acidification des ruisseaux du massif vosgien et contamination métallique (Al, Mn, Pb et Cd): mise en évidence dans l'eau et dans les bryophytes transplantées. *Hydroécol. appli.* 5, vol 1: 11-125
- Empain, A., C. Mouvet, J.J. Lambinon et R. Kirchmann. 1980. Utilisation des bryophytes aquatiques et subaquatiques comme indicateurs biologiques de la qualité des eaux courantes. *in* "La pollution des eaux continentales". P. Pesson, éditeur, 2^e édition. Gauthier-Villars, Paris (France): 195-223.
- Environnement Canada. 1991. Le Saint-Laurent: porte d'entrée d'un continent. Atlas environnemental du Saint-Laurent.

Kelly, M. G., C. Girton et B. A. Whitton. 1987. Use of moss-bags for monitoring heavy metals in rivers. *Water Res.* 21 (11): 1429-1987.

Lopez, J., M. Dolorez and A. Carballeira. 1994. Stress responses and metal exchange kinetics following transplant of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Freshwater Biology*, 32: 185-198.

Markert, B. 1991. Inorganic chemical investigations in the forest biosphere reserve near Kalinin, U.S.R.R. *Vegetatio* 95: 127-135.

Martin, M.H. et P.J. Coughthrey 1982. Biological monitoring of heavy metals pollution. Land and Air. 522pp.

Martinez, J. et E. Nunez 1991. Briofitos acuaticos del rio Iregua (*La Rioja*). Instituto de Estudios Riojanos.

Mersch, J. et J.C. Pihan 1993. Simultaneous Assessment of environmental Impact on condition and trace metal availability in Zebra Mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz river, Luxembourg. Comparaison with the aquatic Moss *Fontinalis antipyretica*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 353-364.

Ministère de l'environnement du Québec. 1990 a. Critères de qualité de l'eau. Service d'évaluation des rejets toxiques et Direction de la qualité des cours d'eau, Ministère de l'environnement du Québec, Québec 423 pp.

Mouvet, C. 1984. Accumulation of chromium and copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex. Hedw. transplanted in a metal contamination river. *Environ. Tech. Let.* 5: 541-548.

Mouvet, C., M. Galoux, A. Bernes. 1985. Monitoring of polychlorinated biphenyls (PBCs) and hexachlorocyclohexanes (HCH) in freshwater using the aquatic moss *Cinclidotus danubicus*. *Sci.Total Environ.* 44: 253-267.

Mouvet, C., E. Pattée, et P. Cordebar. 1986 (b). Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise de sources de pollution métallique multiforme. *Acta Oecologica Applicata*. 7: 77-91.

Penuelas, J. 1985. HCO_3^- as a source for aquatic bryophytes *Fontinalis antipyretica* and *Fissidens grandifrons*. *J. Exp. Bot.* 36: 441-448.

Pickering, D.C. and I.L. Puia. 1969 "Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*". *Physiol. Plant.*, vol 22 : 653-661.

Scherrer B. 1984. Biostatistique. Gaétan Morin éditeur. Boucherville. Québec. 850pp.

Sergio, C., A. Séneca., C. Maguas and C. Branquinho. 1992. Biological responses of *Sphagnum auriculatum* Schimp. to water pollution by heavy metals. *Crypt., Bryol., Lichén.* 13: 155-163.

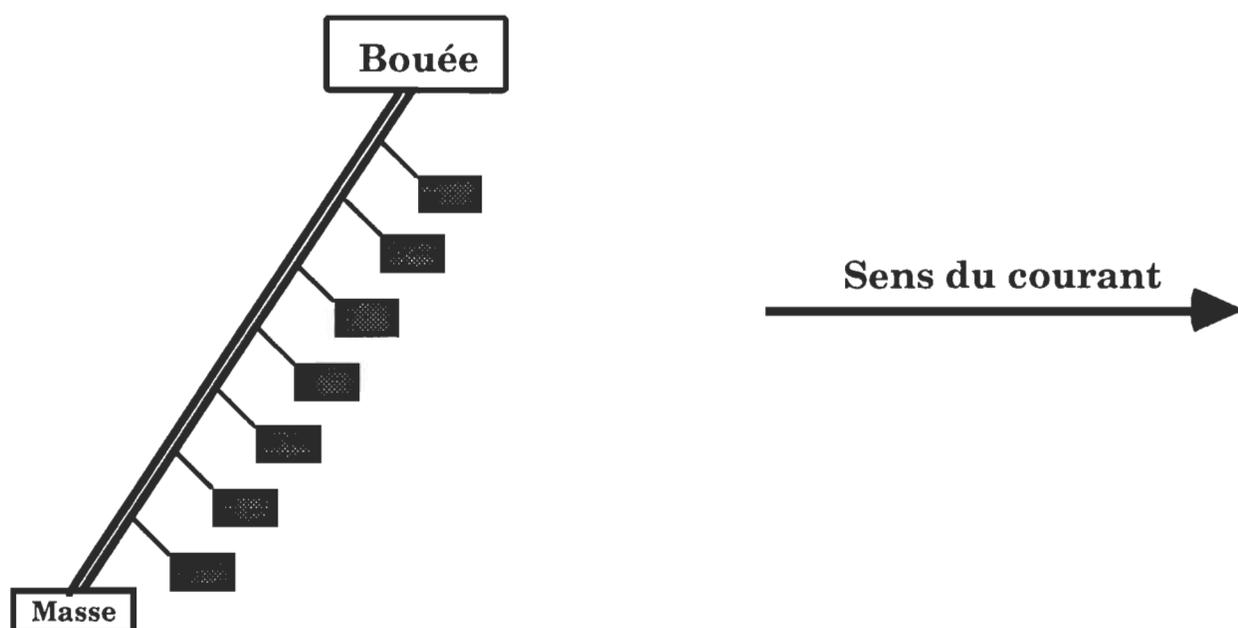


Figure 1.: Schématisation du montage utilisé pour les mousses ensachées dans le fleuve.

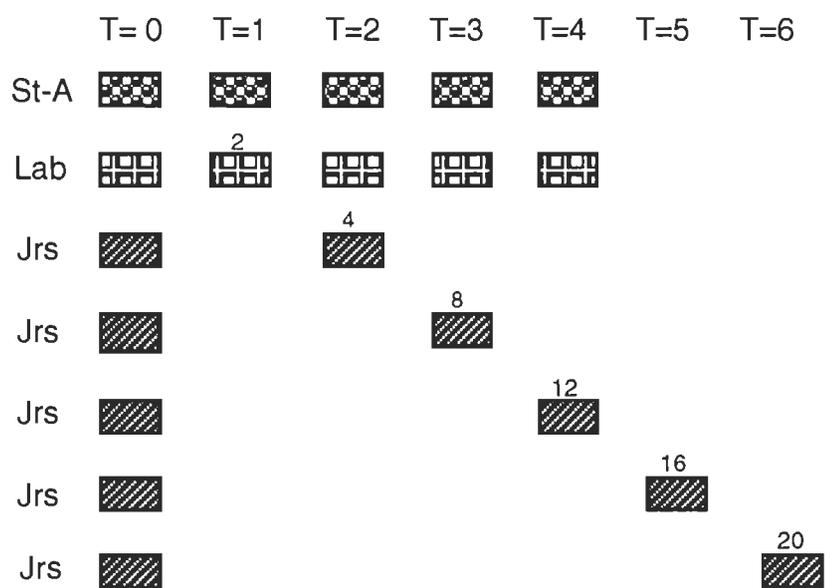


Figure 2. Procédure relative à la méthode de prélèvements

St-Alexis: nouvelles mousses (Récoltées: 94/07/21)

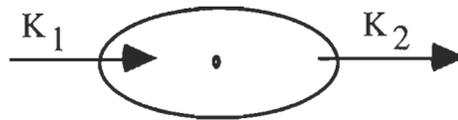
Laboratoire: anciennes mousses (Récoltées: 93/10/30)

Jours: anciennes mousses dans le milieu pendant "X" Jours (Récoltées: 93/10/30)

$$(1) \quad \text{FBC} = \frac{[\text{Mousse}] - [\text{Témoin}]}{[\text{Eau}]}$$

$$(2) \quad \text{FBC}^* = \text{Cée} = \frac{K_1}{K_2} [\text{Eau}]$$

- * Ne tient pas compte du témoin
- * Les constantes sont des approximations informatisées
- * Dérivé de l'équation de van Hattum (1989)



où K_1 est une constante d'accumulation
 et K_2 est une constante d'élimination

Figure 3.: Formules permettant le calcul des facteurs de bioconcentration

Tableau 1. Calendrier de l'échantillonnage.

T = 0	T = 1	T = 2	T = 3	T = 4	T = 5	T = 6
SAMEDI	LUNDI	MERCREDI	DIMANCHE	JEUDI	LUNDI	VENDREDI
23 juillet	25 juillet	27 juillet	31 juillet	4 août	8 août	12 août
2 jours	2 jours	4 jours	4 jours	4 jours	4 jours	

Tableau 2 Valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques selon les stations.

Paramètres physico-chimiques									
Station	Température		pH		Conductivité		Oxygène dissous		
	Moy. (°C)	E-T	Moy.	E-T	Moy. ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	E-T	Moy. ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	E-T	% de saturation
1	24,4	1,4	7,7	0,7	252,6	9,5	9,3	1,1	79
2	24,8	1,5	7,5	1,3	257,1	13,9	10,5	2,6	88
3	25,1	1,3	7,4	1,3	256,7	19,7	9,7	1,2	82
4	25,0	1,3	7,3	1,3	253,7	20,0	9,6	1,5	81
5	30,0	3,2	7,5	1,4	400,4	25,1	7,7	1,8	61
6	26,2	1,1	7,5	1,2	327,1	27,4	10,7	2,0	88

Tableau 3.: Concentrations moyennes des éléments présents dans l'eau du fleuve pour les différentes stations après 20 jours.

Station	Mg	E-T	Mn	E-T	Ni	E-T	Zn	E-T	Ca	E-T
1	2,59	0,02	0,08	0,00	0,08	0,01	0,01	0,01	24,62	2,84
2	2,58	0,02	0,09	0,01	0,08	0,01	0,01	0,01	24,98	2,37
3	2,59	0,03	0,09	0,00	0,08	0,01	0,01	0,01	25,58	3,81
4	2,59	0,02	0,08	0,01	0,08	0,00	0,01	0,01	25,13	3,27
5	2,65	0,02	0,10	0,02	0,08	0,01	0,01	0,01	34,20	5,24
6	2,64	0,03	0,08	0,01	0,08	0,01	0,01	0,01	27,81	2,12

Données obtenues par dosages en S.A.A.

Les concentrations aqueuses sont exprimées en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Ces données sont générées à partir d'une moyenne calculée pour sept temps d'échantillonnage (un échantillon par temps de prélèvements)

Tableau 4.: Normes métalliques acceptables pour l'eau brute (prise d'eau domestique) au Canada.

Métal	Caractéristiques	Concentration (mg•L ⁻¹)	Recommandée par:
Aluminium	Eau brute***	0,200	O.M.S 1984a
Cadmium	"	0,005	S.B.S.C. 1987
Chrome	"	0,050	S.B.S.C. 1987
Cuivre	Eau potable traitée	<1,00**	S.B.S.C. 1987
Magnésium	Eau brute***	50,0*	M.N.H.W. 1978
Manganèse	"	<0,050**	S.B.S.C. 1987
Nickel	"	0,0134	U.S. E.P.A. 1980
Zinc	"	<5,00	S.B.S.C. 1987
Calcium	"	60,0	S.B.S.C. 1987

O.M.S.: Organisation Mondiale de la Santé

S.B.S.C.: Santé et Bien-être social Canada

M.N.H.W.: Ministry of National Health and Welfare

U.S. E.P.A.: United States of Environmental Protection Agency

*Pour qu'une eau soit bonne au goût, il ne faut pas qu'elle contienne plus de 150 mg•L⁻¹ de magnésium. (Santé et Bien-être Social Canada, 1969)

** Critère d'ordre esthétique.

***prise d'eau domestique

Source: Ministère de l'environnement du Québec. 1990 a.

Tableau 5.: Concentrations moyennes des éléments présents dans les mousses du fleuve pour les différentes stations après 20 jours d'immersion.

Station	Mg	E-T	Al	E-T	Cr	E-T	Cu	E-T	Mn	E-T	Ni	E-T	Zn	E-T	Ca	E-T
1	2,26	0,39	3,11	0,52	0,43	0,05	0,06	0,14	3,54	0,44	0,03	0,01	3,86	0,42	15,83	0,42
2	2,26	0,35	3,73	0,51	0,43	0,05	0,60	0,17	3,93	0,58	0,03	0,01	3,55	0,17	14,84	0,17
3	2,30	0,25	3,71	0,25	0,42	0,05	0,47	0,11	4,36	0,47	0,03	0,00	3,63	0,32	15,52	0,32
4	2,20	0,40	3,06	0,15	0,40	0,06	0,59	0,07	3,98	0,59	0,03	0,00	3,54	0,38	15,71	0,38
5	1,93	0,29	3,37	0,28	0,40	0,07	0,55	0,10	3,66	1,08	0,03	0,00	3,41	0,35	15,25	0,35
6	1,84	0,21	3,11	0,32	0,37	0,06	0,60	0,15	3,93	0,28	0,02	0,00	3,70	0,39	15,61	0,39

Les concentrations aqueuses sont exprimées en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

Ces données sont générées à partir d'une moyenne calculée pour sept temps d'échantillonnage (trois échantillons par temps de prélèvements)

Tableau 6.: Facteurs de bioconcentration pour certains métaux selon les stations

Stations	FBC (Jrs)	Mg	Mn	Ni	Zn	Ca
1	FBC-4	0,3832	-5,569	0,0379	110,1	0,2497
1	FBC-20	0,7174	4,556	0,2993	192,4	0,7700
2	FBC-4	0,4424	-0,291	0,1302	45,43	0,2271
2	FBC-20	0,7857	13,69	0,2997	44,84	0,5649
3	FBC-4	0,4657	5,928	0,1359	101,9	0,2088
3	FBC-20	0,6509	12,22	0,2510	135,0	0,5510
4	FBC-4	0,3535	1,140	0,0588	87,62	0,2963
4	FBC-20	0,7288	13,58	0,1972	576,0	0,7385
5	FBC-4	0,3849	4,042	0,0735	131,8	0,2258
5	FBC-20	0,5254	-2,856	0,1844	118,2	0,5493
6	FBC-4	0,4024	4,519	0,0492	228,9	0,3199
6	FBC-20	0,5251	4,350	0,1484	288,1	0,6400

Tableau 7.: Facteurs de bioconcentration du zinc pour les mousses nouvelles et anciennes

Stations	Temps	Mousses St-A.	Mousses Lab.
		(nouvelles)	(anciennes)
		FBC/Zinc	FBC/Zinc
1	FBC-2/1	25,01	206,2
1	FBC-2/2	21,29	239,5
1	FBC-4/1	6,449	69,99
1	FBC-4/2	36,66	186,4
2	FBC-2/1	4,646	43,42
2	FBC-2/2	7,108	69,01
2	FBC-4/1	9,423	43,01
2	FBC-4/2	26,45	158,2
3	FBC-2/1	12,00	97,79
3	FBC-2/2	4,972	198,6
3	FBC-4/1	3,523	76,32
3	FBC-4/2	75,37	280,8
4	FBC-2/1	9,938	44,13
4	FBC-2/2	21,72	205,9
4	FBC-4/1	4,672	199,0
4	FBC-4/2	123,1	656,5
5	FBC-2/1	3,841	31,09
5	FBC-2/2	13,02	220,9
5	FBC-4/1	3,644	140,6
5	FBC-4/2	6,177	421,5
6	FBC-2/1	21,42	40,05
6	FBC-2/2	39,22	401,5
6	FBC-4/1	28,97	254,4
6	FBC-4/2	126,5	241,3

Tableau 8.:Matrices de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve.

Station: 1

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,921*	1,000							
Zn	,739	,749	1,000						
Al	,813*	,670	,828*	1,000					
Cr	,496	,746	,590	,159	1,000				
Cu	-,793	-,917*	-,871*	-,595	-,884*	1,000			
Mn	,614	,337	,672	,835*	-,065	-,352	1,000		
Ni	,250	,416	,366	,169	,417	-,449	-,200	1,000	
Ca	,935*	,923*	,921*	,855*	,620	-,912*	,625	,404	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

Matrice de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve

Station: 2

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,893*	1,000							
Zn	,856*	,795	1,000						
Al	,927*	,905*	,876*	1,000					
Cr	,433	,737	,558	,462	1,000				
Cu	-,836*	-,921*	-,934*	-,863*	-,800	1,000			
Mn	,873*	,702	,689	,896*	,055	-,585	1,000		
Ni	,914*	,945*	,828*	,932*	,576	-,882*	,820*	1,000	
Ca	,957*	,908*	,913*	,869*	,620	-,928*	,719	,908*	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

Matrice de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve

Station: 3

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,793	1,000							
Zn	,558	,648	1,000						
Al	,490	,876*	,502	1,000					
Cr	,476	,854*	,536	,812*	1,000				
Cu	-,748	-,940*	-,833*	-,816*	-,864*	1,000			
Mn	,839*	,682	,872*	,456	,388	-,793	1,000		
Ni	,886*	,901*	,586	,809*	,619	-,844*	,790	1,000	
Ca	,918*	,800	,827*	,506	,575	-,875*	,950*	,822*	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

Matrice de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve

Station: 4

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,926*	1,000							
Zn	,536	,637	1,000						
Al	,571	,571	,662	1,000					
Cr	,345	,591	,780	,751	1,000				
Cu	-,758	-,904*	-,804	-,780	-,867*	1,000			
Mn	,512	,428	,808	,340	,265	-,424	1,000		
Ni	,981**	,936*	,659	,666	,475	-,827*	,586	1,000	
Ca	,956*	,946*	,661	,752	,580	-,886*	,492	,985**	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

Matrice de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve

Station: 5

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,612	1,000							
Zn	,738	,746	1,000						
Al	,119	,740	,287	1,000					
Cr	,303	,846*	,556	,947*	1,000				
Cu	-,776	-,879*	-,886*	-,620	-,806	1,000			
Mn	-,360	,422	-,153	,592	,426	,021	1,000		
Ni	,861*	,878*	,829*	,505	,643	-,916*	,058	1,000	
Ca	,930*	,761	,865*	,260	,493	-,879*	-,221	,861*	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

Matrice de corrélation entre métaux dans *Fontinalis dalecarlica* après immersion de 20 jours dans le fleuve

Station: 6

	Temps	Mg	Zn	Al	Cr	Cu	Mn	Ni	Ca
Temps	1,000								
Mg	,698	1,000							
Zn	,710	,693	1,000						
Al	,623	,309	,643	1,000					
Cr	,316	,832*	,479	,262	1,000				
Cu	-,794	-,911*	-,886*	-,614	-,767	1,000			
Mn	,377	,406	,853*	,763	,451	-,698	1,000		
Ni	,781	,713	,975*	,758	,484	-,902*	,842*	1,000	
Ca	,886*	,844*	,905*	,569	,583	-,957*	,625	,900*	1,000

*p<0,05 (significatif)

**p<0,001 (hautement significatif)

CONCLUSION GÉNÉRALE

De nos travaux, il ressort que les mousses aquatiques sont des organismes aux particularités morphologiques et physiologiques simples. Leur cueillette et leur conservation sont relativement faciles. Notre étude fait paraître les avantages et les inconvénients de tels indicateurs biologiques. Les bryophytes possèdent un pouvoir d'accumulation élevé (6000 fois avec $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd après un mois d'exposition) ainsi qu'une cinétique de bioaccumulation très rapide (Wehr et Whitton, 1983; Mouvet, 1987). L'étude approfondie des résultats d'accumulation a permis de calculer et d'appliquer un modèle bi-phasique de toxicocinétique (van Hattum, 1989; Tessier *et al.*, 1994). Ce modèle prévoit une accumulation en quelques heures et l'atteinte d'un plateau. Jusqu'à présent, peu d'études font état de la possibilité d'établir un tel patron d'accumulation.

Après une durée de relargage égale à celle de l'intégration, les mousses conservent une concentration supérieure à celle observée avant l'accumulation signe que le relargage est plus lent. Elles sont particulièrement intéressantes pour le suivi d'un déversement accidentel dans des habitats aquatiques (effet mémoire). Toutefois, on constate que la période d'accumulation devrait être beaucoup plus courte pour réussir à mieux suivre la phase d'élimination.

Les différences interspécifiques ne semblent pas aussi évidentes que la littérature pouvait le laisser présager. En effet, nos expériences sur la bioaccumulation du cadmium n'ont pas démontré de différences significatives entre les deux genres étudiés. Il est possible que l'état de santé de *P. riparioides* soit à l'origine de ses

performances limitées puisqu'elle est demeurée quelques mois en laboratoire avant le début de l'expérimentation.

À la lumière des résultats obtenus, il appert que l'utilisation d'un système dynamique simple basé sur l'écoulement gravitationnel est intéressant pour les besoins d'une telle étude. Toutefois, notre dispositif expérimental manquait de raffinement. Par conséquent, des modifications ont été apportées et furent testées par notre équipe de recherche et elles ont fourni des résultats qui se sont avérés très intéressants.

L'ajout d'une substance de synthèse telle EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique de disodium) est nécessaire pour se rapprocher des conditions du milieu. L'agent complexant diminue l'accumulation métallique et garde les concentrations aqueuses constantes, les concentrations aqueuses dans les aquariums. Par conséquent, lorsque l'agent complexant est absent, le pouvoir de bioaccumulation de chacune des espèces est de beaucoup supérieur. Dans la nature, les acides humiques et fulviques auraient un effet analogue au EDTA. Il semble que ces acides perturbent les mécanismes moléculaires mis en jeu dans le transport des cations par blocage de quelques sites de passage membranaire.

Nos résultats sur l'interférence du cadmium avec les éléments essentiels ne démontrent pas clairement un effet compétitif ou synergique. Certaines études supposent la présence de protéines telles les phytochélatines (métallothionéines pour la faune) pouvant expliquer la tolérance exceptionnelle des mousses.

Le recours à l'utilisation de mousses aquatiques pour l'évaluation environnementale est passablement nouveau. Très utilisé par la communauté scientifique européenne, cette méthodologie se développe progressivement chez nous. Cependant, la présence limitée et le manque d'informations sur les populations muscinales causent certaines difficultés. Pour contrer l'absence de mousses autochtones dans un cours d'eau, la méthode des mousses ensachées est envisageable et intéressante mais nécessite des améliorations. Les expériences menées dans un environnement industriel ont permis de tester et de vérifier l'application d'un tel instrument. Puisque les eaux du secteur estuarien d'eau douce et du couloir fluvial du Saint-Laurent sont contaminées par une grande diversité de métaux, un facteur d'accumulation (F_a) était difficilement calculable dans un système dynamique aussi complexe. Conséquemment, suite à nos travaux, nous suggérerons diverses recommandations quant à l'utilisation de cette méthodologie dans un tel cours d'eau. Il importe notamment de tenir compte de la période d'étiage, du facteur de dilution, de la présence de macrophytes submergées et de la localisation précise des effluents conduisant les rejets au centre du fleuve.

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

Cette bibliographie découle des références citées dans l'introduction et la conclusion générales, le rappel méthodologique ainsi que les annexes.

American Public Health Association (ALPHA). 1989. Standard Methods for the examination of water and waste water. 19th Edition, ALPHA, Washington, D.C. (annexe c)

Agneta, M. et S. Burton. 1990. Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. Botanical Journal of the Linnean Society (1990), 104: 267-280.

André, B. et C. Lascombe. 1987. Comparaison de deux traceurs de la pollution métallique des cours d'eau: les sédiments et les bryophytes. Sciences de l'eau, 6 (2): 225-249.

Benson-Evans, K. et P.F. Williams. 1976. Transplanting aquatic bryophytes to assess river pollution. Journal of bryology, 9: 81-91.

Berryman, D. 1990. Sélection de nouveaux indicateurs sur la qualité des cours d'eau du Québec. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau: 76 pp.

Berryman, D. 1991. Mise à l'essai et comparaison de cinq traceurs de substances toxiques sur le Saint-Maurice. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau: 74 pp.

Berryman, D., et Y. Richard. 1992. Compte rendu d'une mission scientifique en France et en Belgique sur les indicateurs biologiques de la qualité des cours d'eau. Ministère de l'Environnement du Québec, Direction de la qualité des cours d'eau, (rapport QE 9206), Envirodoq: En 920055: 49 pp.

Bevenue, A. 1976. The bioconcentration aspects of DDT in the environment. *Residue Revue.*, 61: 37-112.

Bryan, G. W. 1983. Brown seaweed *Fucus vesiculosus* and the gastropod *Littorina littoris*, as indicators of trace-metal availability in estuaries. *The Science of the Total Environment*, 28: 91-104.

Caines, L.A., A.W. Watt et D.E. Wells. 1985. The Uptake and Release of Some Trace Metals by Aquatics Bryophytes in Acidified Waters in Scotland. *Environmental Pollution (Series B)*, 10: 1-18.

Crum, H.A. et L.E. Anderson. 1981. *Mosses of the Eastern North America*. Columbia University Press, New-York. Vol 2. 703 pp.

Désilets, L. et C. Langlois. 1989. Variabilité spatiale et saisonnière de la qualité de l'eau du fleuve St-Laurent., *Environnement Canada*: p. 22 à 24.

Empain, A. 1973. La végétation bryophytique aquatique et subaquatique de la Sambre belge, son déterminisme écologique et ses relations avec la pollution des eaux. *Lajeunia, nouvelle série* 69: 58pp.

Empain, A. 1974. Relations quantitatives entre les bryophytes de la Sambre belge et leur fréquence d'émergence: distribution verticale et influence de la pollution. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*. 107: 361-374.

Empain, A. 1976. Estimation de la pollution par les métaux lourds dans la Somme par l'analyse des bryophytes aquatiques. *Bulletin Français de Pisciculture*. 260: 138-142.

Empain, A. 1977. *Écologie des populations bryophytiques de la Meuse, de la Sambre et de la Somme. Relations avec la qualité des eaux, écophysiologie comparée et étude de la contamination par métaux lourds*. Ph.D.Thesis. Univ. Liège 179 pp.

Empain, A. 1978. Relations quantitatives entre les populations de bryophytes aquatiques et la pollution des eaux courantes. Définition d'un indice de qualité des eaux. *Hydrobiologia*. 60 (1): 49-74.

Empain, A., J. Lambinon, C. Mouvet et R. Kirchmann. 1980. Utilisation des bryophytes aquatiques et subaquatiques comme indicateurs biologiques de la qualité des eaux courantes. *in* La pollution des eaux continentales. Ed. P. Pesson Gauthier-Villars, Paris: 195-223.

Erdmand, J.A. et P.J. Modreski. 1984. Copper and cobalt in aquatic mosses and stream sediments from the Idaho cobalt belt. *Journal of Geochemistry. Exploration*, 20 : 75-84.

Fornwall, M.D., et J.M. Glime. 1982. Cold and warm-adapted phases in *Fontinalis dalecarlica* Schimp, as evidence by net assimilatory and respiratory responses to temperature. *Aquatic Botany*. 13: 165-177.

Forsberg, A. S. Söderlund, A. Frank, L.R. Petersson et M. Pedersen. 1988. Studies on metal content in the brown seaweed, *Fucus vesiculosus*, from the Archipelago of Stockholm. *Environmental Pollution*, 49: 245-263.

Foulquier, L. et J.P. Hébrard. 1976. Étude expérimentale de la fixation et de la décontamination du sodium-22 par une mousse dulçaquicole: *Platyhypnidium riparioides* (Hedw). *Dix. Oecologia Plantarum*, 3: 267-276.

Gjengedal, E. et E. Steinnes. 1990. Uptake of metal ions in moss from artificial precipitation. *Environmental Monitoring and Assessment*. ,14: 77-87.

Glime, J. 1982. Response of *Fontinalis hypnoides* to seasonal temperature variations. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*: 181-193.

Goulet, M., et D. Laliberté. 1982. Métaux: contamination du milieu aquatique au Québec méridional. Ministère de l'Environnement, Service de la qualité des eaux, Québec, Envirodoq:ND-83-0017: 105pp.

Mance, G. 1987. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. Pollution monitoring series. Elsevier applied publishers Ltd. 372 pp.

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 no 445, 33: 527-538.

Mouvet, C. 1983. 5^{es} journées scientifiques et techniques. L'eau, la recherche, l'environnement. Sous thème: Les végétaux. Collection Recherche Environnement, 22: 115-119.

Mouvet, C. 1984. Accumulation of chromium and copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex. Hedw. transplanted in a metal contamination river. Environmental Technology Letters, vol.5: 541-548.

Mouvet, C., M. Galoux et A. Bernes. 1985. Monitoring of polychlorinated biphenyls (PBCs) and hexachlorocyclohexanes (HCH) in freshwater using the aquatic moss *Cinclidotus danubicus*. The Science of the Total Environment, 44: 253-267.

Mouvet, C. 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques, synthèse méthodologique. Rapport des Agences de l'Eau Rhône Méditerranée Corse et Rhin Meuse: 110pp.

Mouvet, C., P. Cordebar, et B. Gallissot. 1986 (a). Évaluation de rejets de micropolluants minéraux (métaux lourds) et organiques (organochlorés) par dosages dans les mousses aquatiques. L'impact des activités humaines sur les eaux continentales. Question 111, (rapport no.5): 18 pp.

Mouvet, C., E. Pattée, et P. Cordebar. 1986 (b). Utilisation des mousses aquatiques pour l'identification et la localisation précise de sources de pollution métallique multiforme. *Acta Oecologica Applicata*. 7: 77-91.

Mouvet, C., P. Cordebar, B. Gallissot, et P. Roger. 1986 (c). The use of aquatic mosses to monitor micropollutants such as cadmium and PCBs. Laboratory and field results. 2nd International Conference, Amsterdam, 114-119.

Mouvet, C. 1987. Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre par des mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Laboratoire d'écologie, Université de Metz. 1 Rue des Récollets, Metz: 122 pp.

Mouvet, C. 1991. Métaux lourds et mousses aquatiques, standardisation des aspects analytiques. Service géologique national. France: 67 pp.

Pensel, T. 1984. Cinétique d'accumulation et de relargage de métaux chez des bryophytes aquatiques en milieu naturel. D.E.A. en écotoxicologie, Université de Metz, France. 70 pp + annexes.

Phillips, D.J.H. 1980. Quantitative aquatic biological indicators. Their use to monitor trace metal and organo-chlorine pollution. London. Applied Science Publishers. 488 pp.

Pickering, D. C. et I. L. Puia. 1969. Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiologia Plantarum* 22: 653-661.

Saitoh, M., K. Narita et S. Isikawa. 1970. Photosynthetic nature of some aquatic plants in relation to temperature. *Botanical Magnification Tokyo* 83: 10-12.

Smith, S. C. 1986. Base metals and stream sediments from a geochemical reconnaissance survey of Chandalar Quadrangle, Alaska. *Journal of Geochemical Exploration*. 25: 345-365.

Söderlund, S., A. Forsberg et M. Pedersen. 1988. Concentrations of cadmium and other metals in *Fucus vesiculosus* L. and *Fontinalis dalecarlica* Br. Eur. from the Northern Baltic Sea and the Southern Bothnian Sea. *Environmental Pollution*, 51 :197-212.

Taylor, D. 1983. The significance of the accumulation of cadmium by aquatic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 7: 33-42.

Tessier, L., Vaillancourt, G., et L. Pazdernik. 1992. Comparaison entre la capacité de bioaccumulation du mercure chez le gastéropode de faible longévité *Viviparus georgianus* (Lea) et le pélecypode *Elliptio complanata* (Lightfoot), dans l'estuaire d'eau douce du fleuve Saint-Laurent. *Water pollution Research Journal of Canada*. 27, 4 : 773-785.

Tessier, L., G. Vaillancourt et L. Pazdernik. 1994. Comparative study of the cadmium and mercury kinetics between the short-lived gastropod *Viviparus georgianus* (Lea) and the pelecypod *Elliptio complanata* (Lightfoot), under laboratory conditions. *Environmental Pollution* 85: 271-282.

Thain, J.E. 1984. Effets of mercury on the prosobranch mollusc *Crepidula fornicata* : acute lethal toxicity and effects on growth and reproduction of chronic exposure. *Marine Environmental Research*. 12: 285-309.

Thomas, W., 1979. Monitoring organic and inorganic trace substances by epiphytic mosses. A regional pattern of air pollution. *Trace substances in environmental health*, 13: 285-289.

Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy metals: a literature review. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 104: 231-253.

van Hattum, B., P de Voogt, L. vanden Bosch, N. M. van Staalén, E. N. G. Joesse et H. Govers. 1989 Bioaccumulation of cadmium by the fresh-water isopod *Ascellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environmental Pollution* 62: 129-151.

Wehr, J. D. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic bryophytes in streams and rivers in Northern England. Thèse de Doctorat. (Ph. D.) University of Durham, Durham, England.

Wehr, J. D. et B. A. Witton. 1983a. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2: *Rhynchostegium riparioides*. *Hydrobiologia*, 100: 261-284.

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

Annexe a

Les avantages de cette méthode sont multiples et justifient pleinement leurs emplois.

En effet,

elles possèdent des facteurs d'accumulation parmi les plus élevés de tous les compartiments de l'écosystème aquatique (Empain *et al.*, 1980; Leld *et al.*, 1981; Wehr et Whitton, 1983a);

elles se développent durant toute l'année et leurs peuplements sont stables dans le temps et l'espace (Wehr et Whitton, 1983b; Mouvet, 1986);

elles accumulent en quelques heures ou jours un grand nombre de polluants et se décontaminent après un certain temps (de l'ordre de la semaine ou du mois permettant ainsi la détection de pollutions accidentelles) (Mouvet, 1983; 1984; Pensel, 1984; Mouvet, 1986);

elles n'ont pas de racines, ni de système vasculaire développé, ce qui évite les transferts internes et leur permet de refléter la qualité de l'eau, non celle du substrat (Thomas, 1979; Mouvet, 1986);

le coefficient de variation de dosages effectués au sein d'une même population dépasse rarement les 20% (Empain, 1977; Mouvet, 1986);

elles peuvent subir l'effet de divers types de pollution minérale et organique (Empain, 1977; Wehr, 1983; Mouvet, 1986);

Annexe a

la facilité de leur transfert d'un site à un autre (rivière vers fleuve, par exemple) permet l'étude de cours d'eau aux caractéristiques très diversifiées (Benson-Evans et Williams, 1976; Mouvet, 1984, 1986);

elles peuvent accumuler des particules sous forme dissoute ou non-dissoute et de différentes tailles (Smith, 1986);

parce que leurs feuilles sont extrêmement petites, elles ont un rapport surface-volume élevé faisant d'elles d'excellentes "bio-échangeuses" d'ions avec l'eau (Erdman et Modreski, 1984);

elles sont employées lors d'expériences en laboratoire: leur conservation étant aisée (Mouvet, 1986).

Annexe b

Schéma général de l'accumulation d'un métal ou d'un cation

Le processus d'accumulation d'un métal essentiel tel le zinc se fait en trois étapes (Pickering et Puia, 1969; Tyler, 1990):

1-Étape très courte (minutes)

- pas influencée par la lumière et la température
- accumulation passive
- échanges d'adsorption

2-Phase assez courte (heures)

- faiblement influencée par l'intensité lumineuse + la température + l'agent complexant
- membrane cellulaire (barrière de diffusion)

3-Étape plus longue (jours)

- processus lent
- température, lumière, métaux, durée, concentration
- processus actif (à l'intérieur des cellules)

d'où l'application d'un patron bi-phasique pour évaluer la cinétique d'accumulation chez les populations bryophytiques.

Partant du fait que la cellule a un système multi-composantes en relation avec les substances dissoutes, ces trois processus principaux devraient représentés:

- 1)l'accumulation dans les espaces libres de Donnan;
- 2)la pénétration dans le protoplasme;
- 3)l'accumulation de l'élément dans les vacuoles cellulaires.

Annexe c

Détermination de la dureté de l'eau; vérification des teneurs en EDTA

Méthode tirée et adaptée de l'American Public Health Association, 1989.

A. Réactifs

1- Solution tampon:

Dans un ballon jaugé de 250 mL, dissoudre 16,9 g de NH_4Cl dans 143 mL de NH_4OH concentré. Ajouter 1,25 g de sel de magnésium d'EDTA et compléter à 250 ml avec de l'eau distillée. Disposer dans un contenant en plastique pour une durée maximale de un mois. Boucher hermétiquement pour éviter la perte de gaz NH_3 ou la captation de CO_2 .

2- Indicateur Ériochrome Black T:

Dissoudre 0,5 gramme du sel de sodium 1-(1-hydroxy-2-naphthylazo)-5nitro-2-naphthol-4-sulfonique acide dans 100 g de triéthanolamine. Ajouter 2 gouttes par 50 ml de solution à titrer.

3- Solution titrante d'EDTA environ 0,01 M:

Peser 3,723 g de sel disodé d'EDTA dihydraté. Diluer à 1 Litre avec de l'eau distillée.

NB: Conserver dans une bouteille en plastique.

Annexe c

4- Solution étalon de calcium (CaCO_3)

Peser exactement entre 1,0000 et 1,0010 g de CaCO_3 anhydre (produit standard) et noter cette masse. Transférer dans un erlenmeyer de 500 mL à l'aide d'une entonnoir en utilisant le minimum d'eau distillée. Ajouter du HCl 1:1 (1 partie de HCl pour une partie d'eau distillée) jusqu'à ce que tout le CaCO_3 soit dissout. Ajouter ensuite 200 mL d'eau distillée et faire bouillir quelques minutes. Laisser refroidir et transférer dans un ballon jaugé de 1 Litre. Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

B.Étalonnage de la solution d'EDTA:

Dans un erlenmeyer de 200 ml, verser 10 ml de solution étalon de CaCO_3 , environ 40 mL d'eau distillée. Ajuster le pH à $10 \pm 0,1$ avec quelques gouttes de solution tampon, ajouter ensuite quelques gouttes d'indicateur Ériochrome Black T. Mélanger constamment. Titrer avec la solution d'EDTA, jusqu'à l'obtention de la couleur bleue. Répéter 2 à 3 fois ce titrage.

N.B.: À partir du moment où l'on ajoute le tampon, on n'a que 5 minutes pour effectuer le titrage (pour diminuer la précipitation de CaCO_3).

$$\text{Calcul:} \quad B = \frac{C \times \text{ml de solution étalon de } \text{CaCO}_3}{A \times 1000}$$

où B: mg de CaCO_3 /ml de solution titrante d'EDTA (titre)

C: quantité de CaCO_3 pesé (en mg)

A: ml de solution titrante d'EDTA

Annexe c

C. Dosage des échantillons:

Dans un bécher de 200 mL, ajouter 100 mL de la solution à doser ainsi que quelques gouttes du tampon jusqu'à un pH = $10 \pm 0,1$ et de l'indicateur Ériochrome Black T. Titrer dans une burette avec de la solution EDTA jusqu'à l'obtention d'une couleur bleu franc (aucune teinte de rosé). Mélanger constamment.

(Attendre une trentaine de secondes lorsque la couleur est atteinte afin de vérifier que la couleur ne change pas).

NB: À partir du moment où l'on ajoute le tampon, on n'a que 5 minutes pour effectuer le titrage (pour diminuer la précipitation de CaCO_3). Les matières en suspensions et les colloïdes peuvent interférer avec le point d'interférence.

Calcul:

$$\text{Dureté (mg CaCO}_3\text{/L)} = \frac{A \times B \times 1000}{\text{ml d'échantillon}}$$

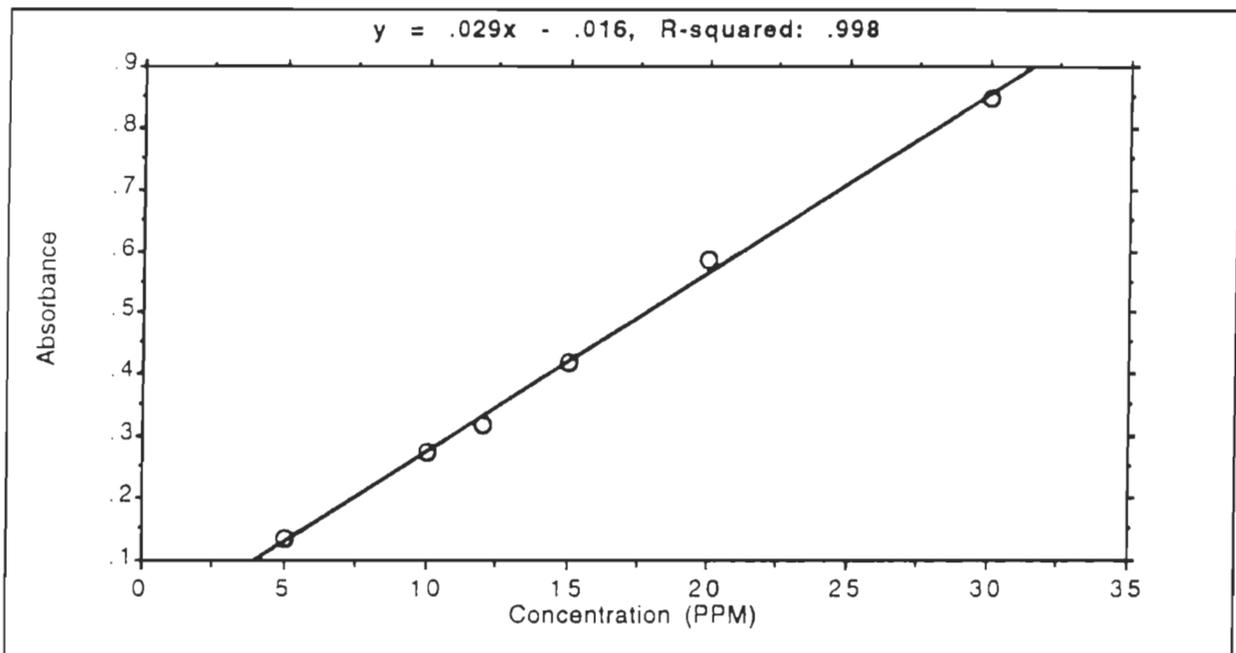
où A: ml de solution titrante d'EDTA

B: mg de CaCO_3 /ml de solution titrante d'EDTA (titre)

Annexe d

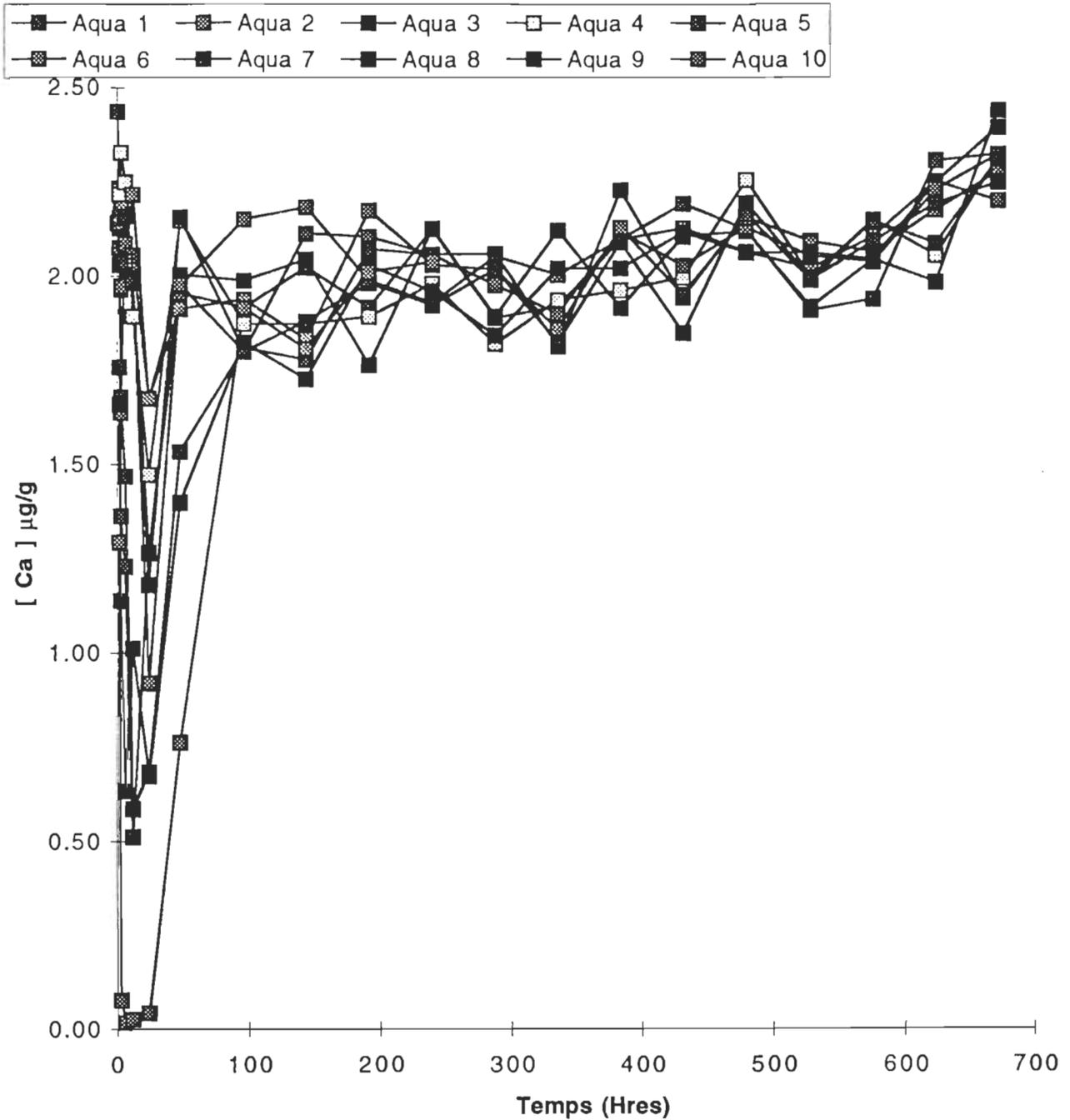
Exemple d'une courbe de calibration pour les dosages métalliques (SAA). À l'aide d'un programme informatisé, il est aisé d'obtenir des valeurs de concentration car l'appareil de spectroscopie nous donne des lectures d'absorbance.

Modèle de courbe étalon pour le dosage du magnésium (mousses)



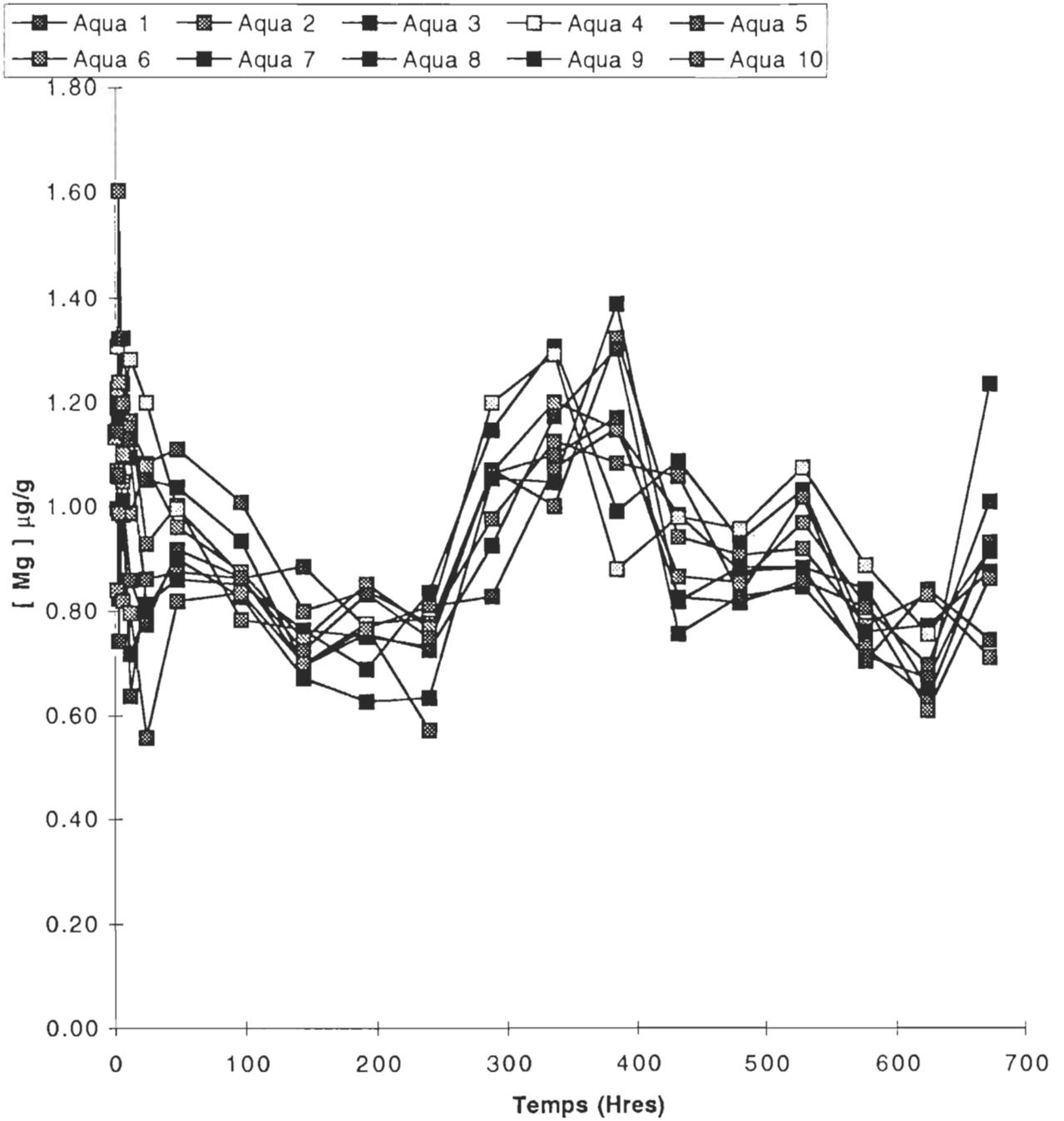
Annexe e

Les graphiques présentés dans cette section se rapportent à l'article sur les éléments biologiquement essentiels. Étant donné l'ampleur des résultats, les écarts-type ne sont pas ajoutés. Toutefois, il serait bon de considérer chaque point comme étant une moyenne de trois mesures.



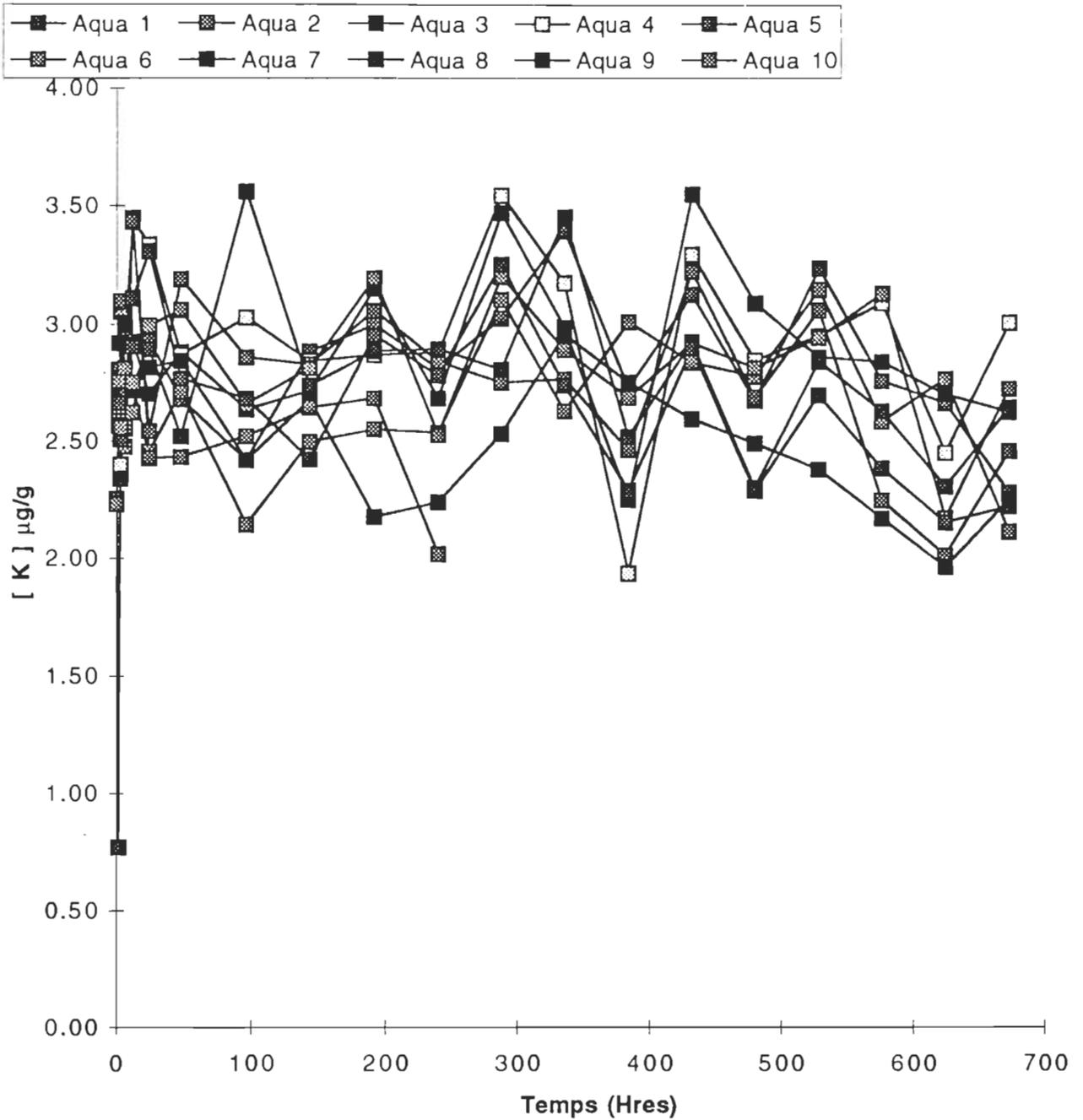
Évolution temporelle du calcium tissulaire chez *F. dalecarlica* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



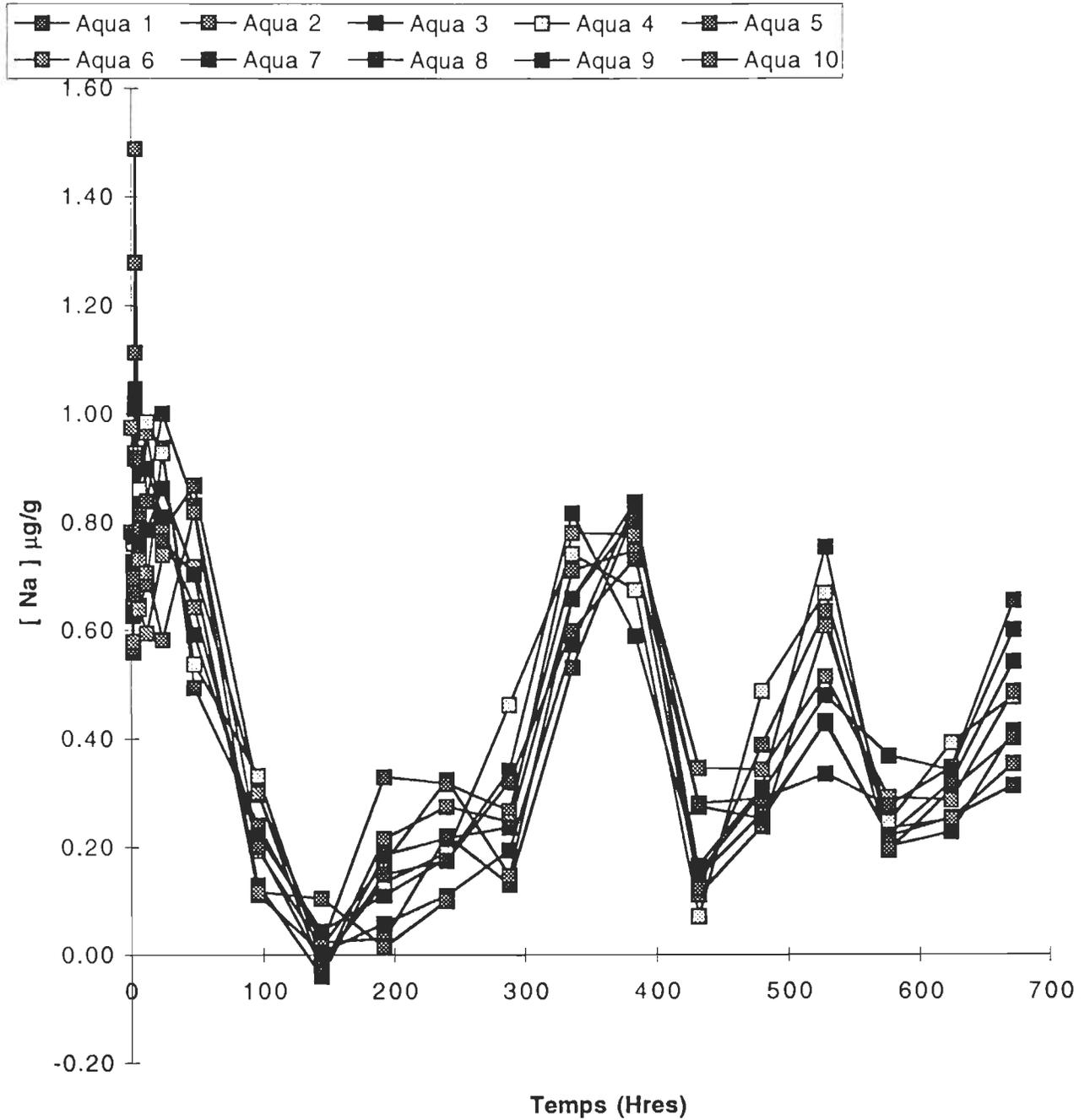
Évolution temporelle du magnésium tissulaire chez *F. dalecarlica* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



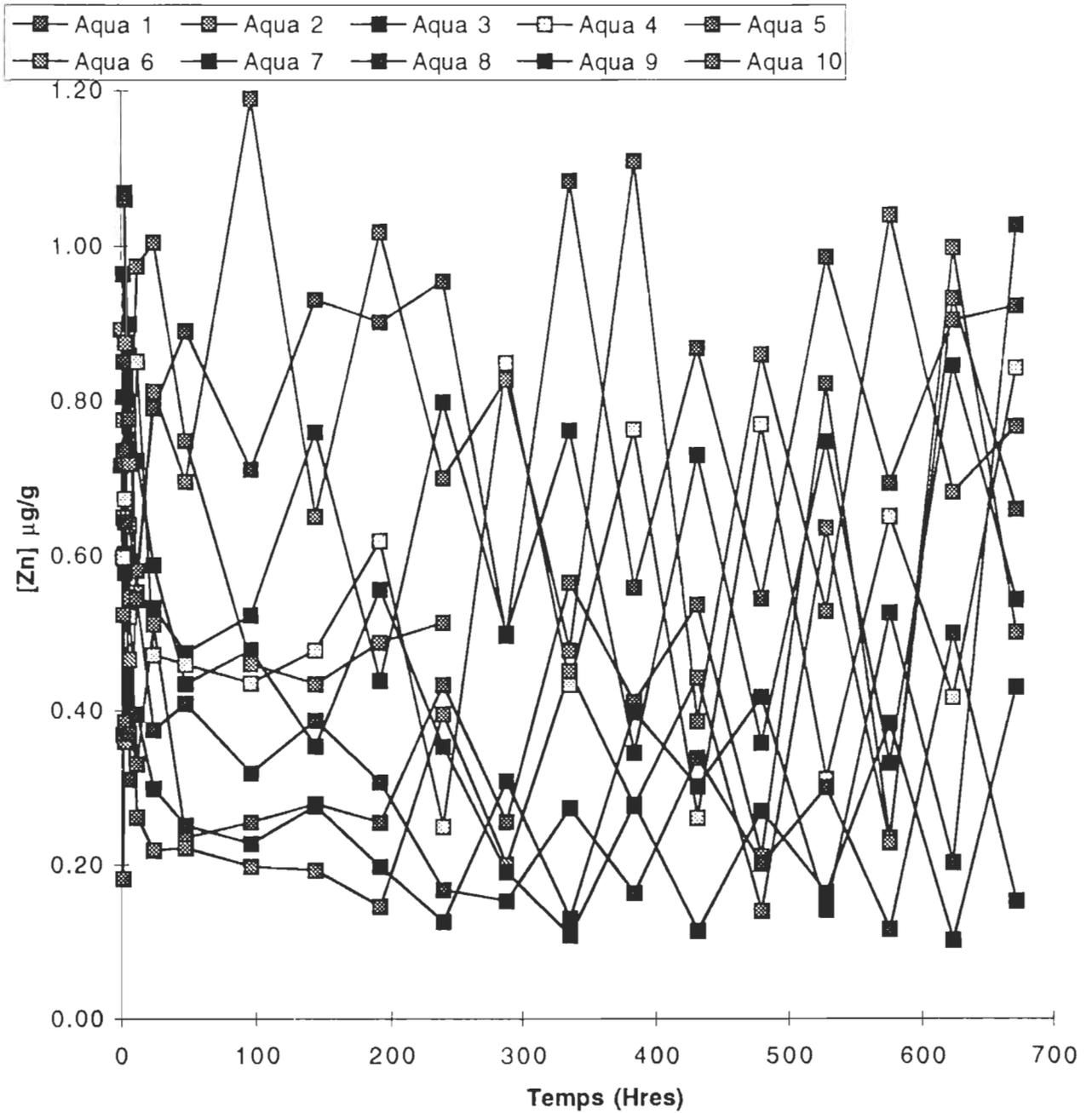
Évolution temporelle du potassium tissulaire chez *F. dalecarlica* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



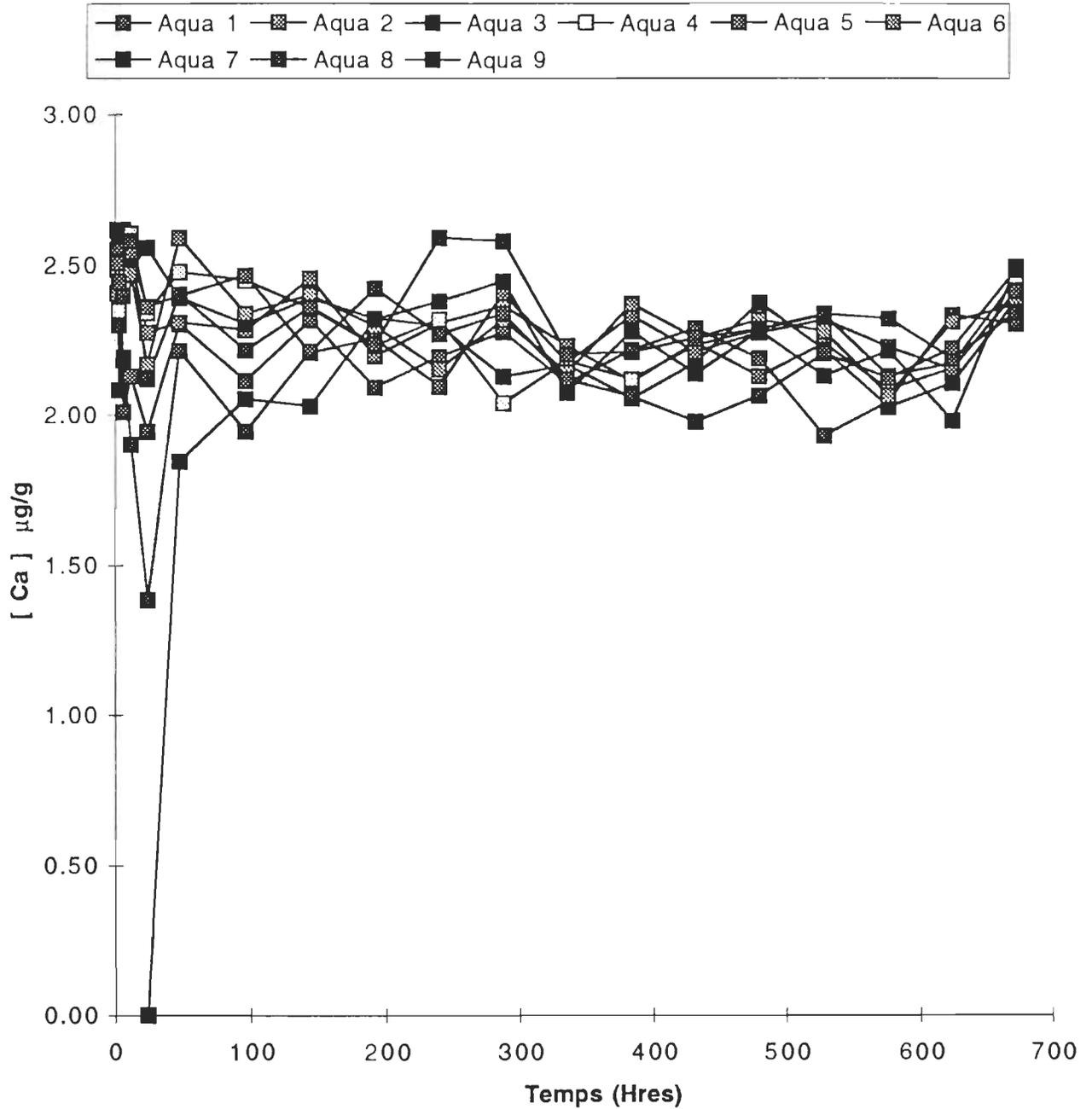
Évolution temporelle du sodium tissulaire chez *F. dalecarlica* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



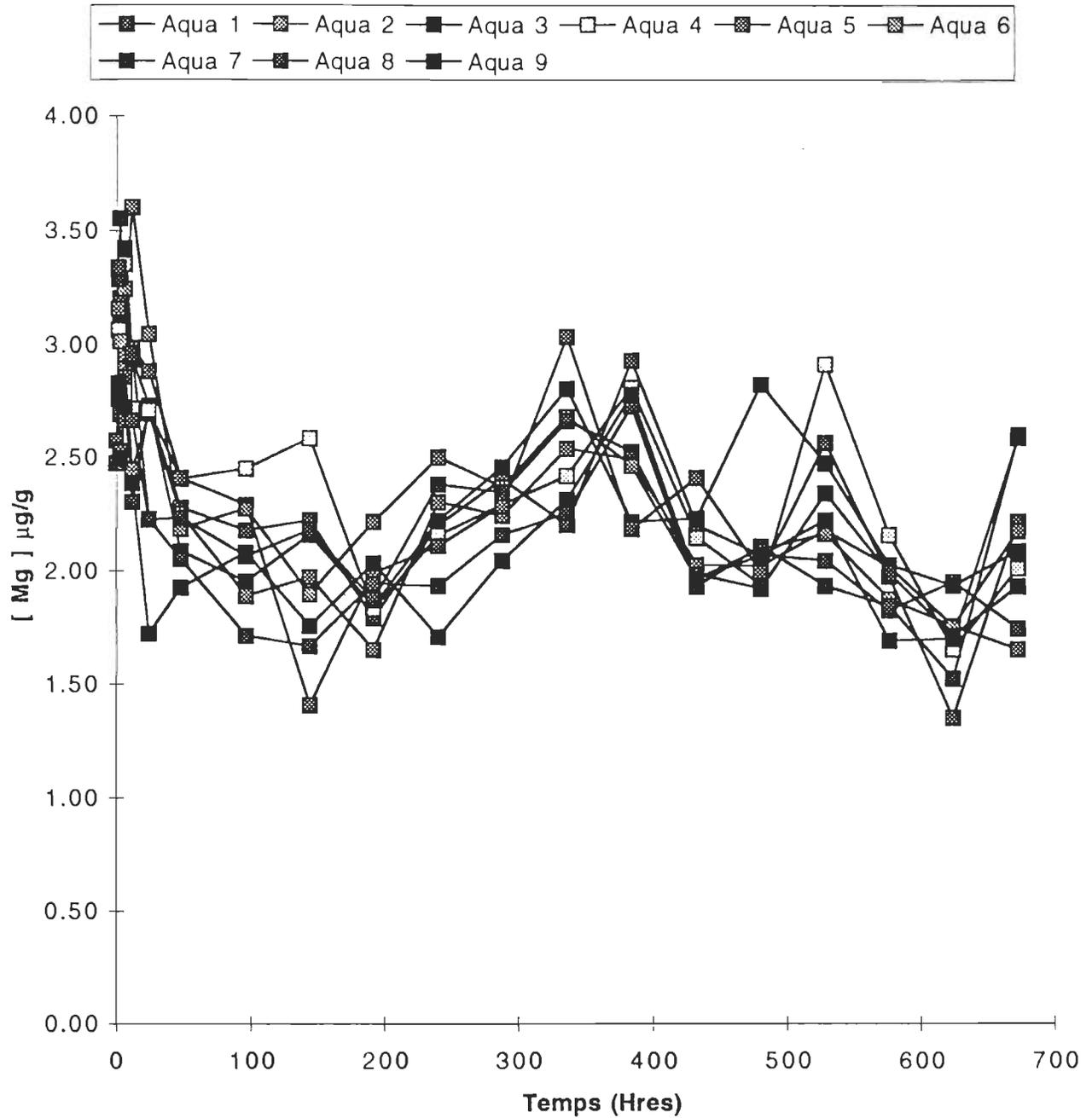
Évolution temporelle du zinc tissulaire chez *F. dalecarlica* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



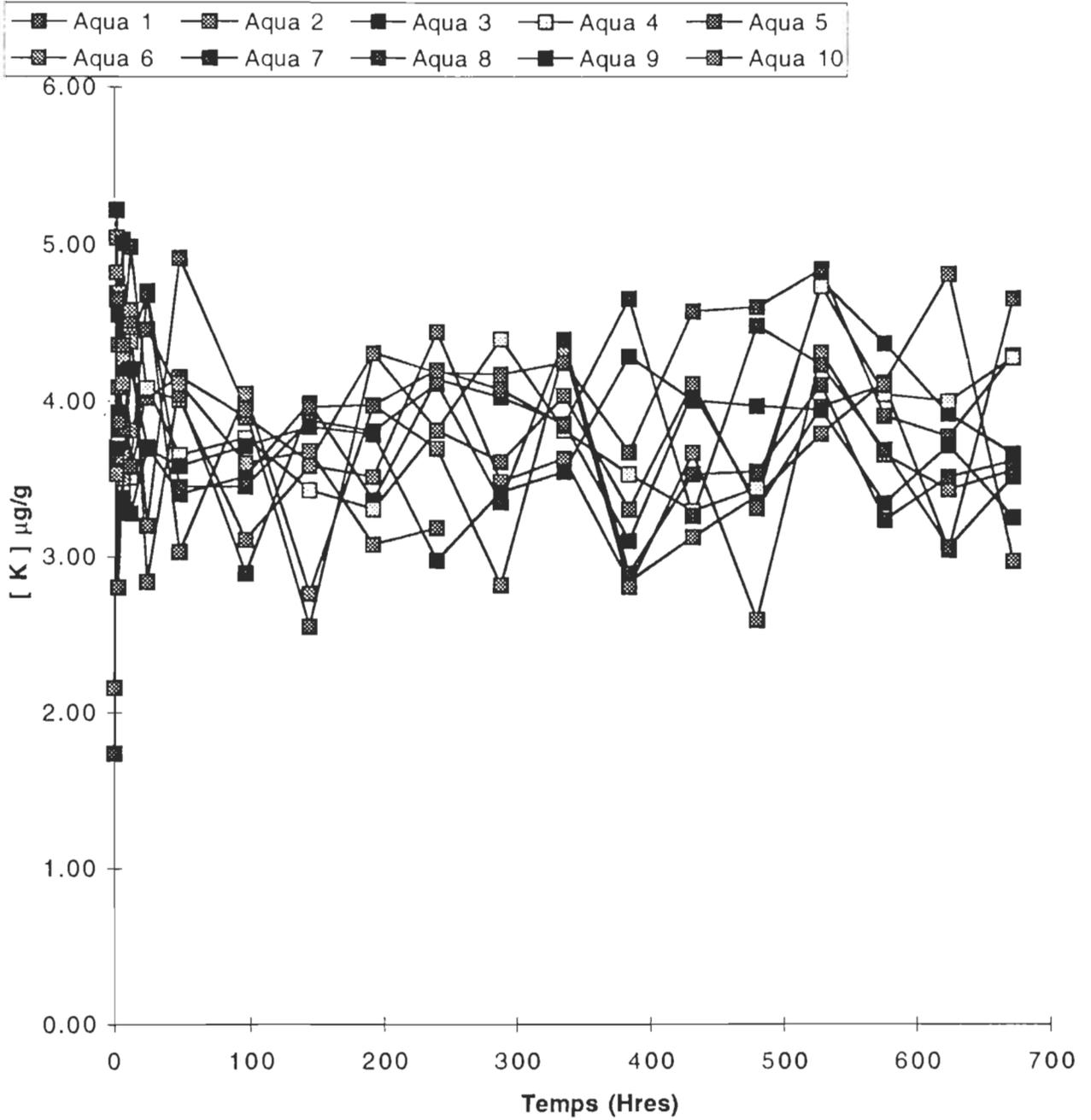
Évolution temporelle du calcium tissulaire chez *P. riparioides* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



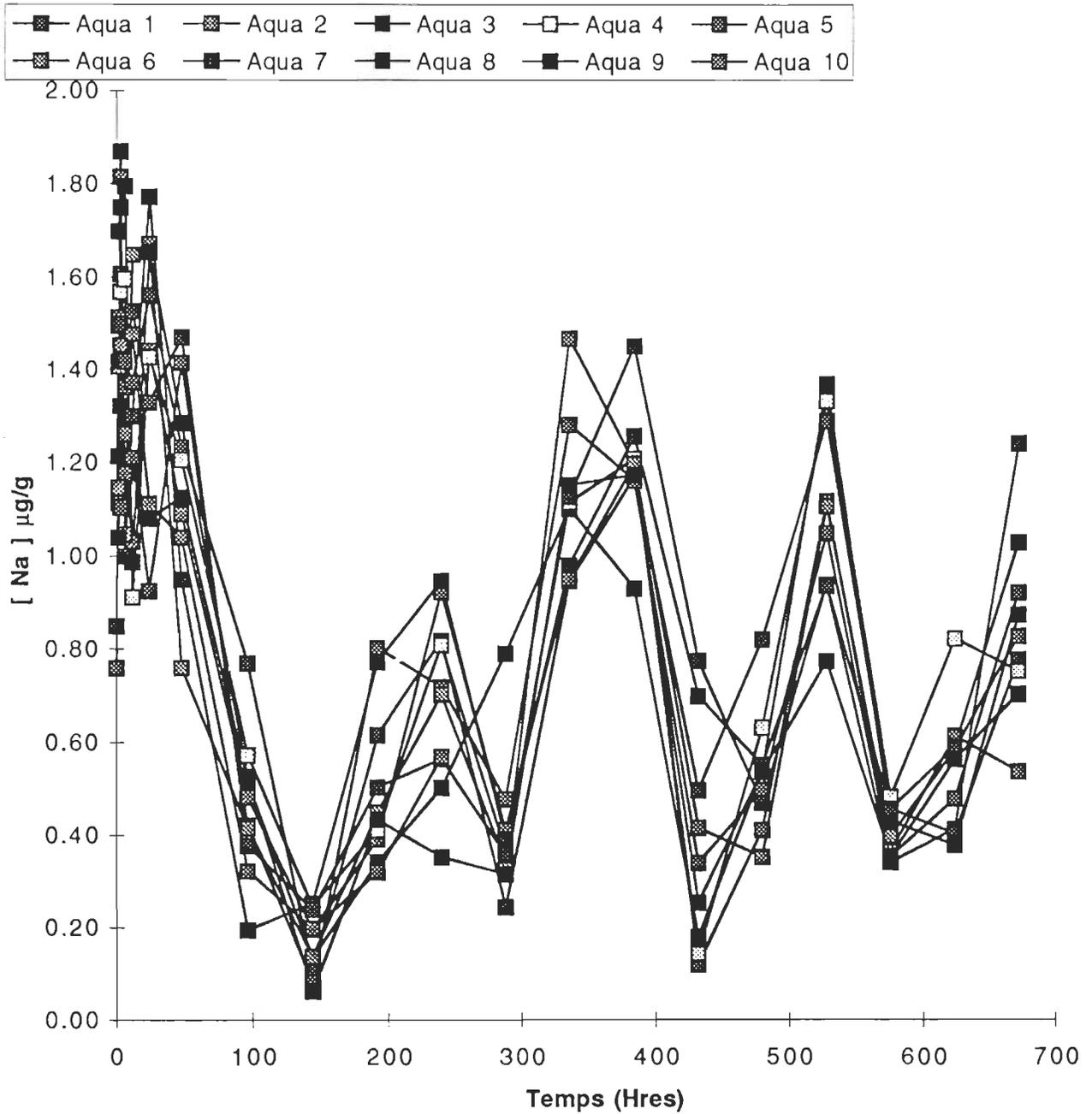
Évolution temporelle du magnésium tissulaire chez *P. riparioides* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



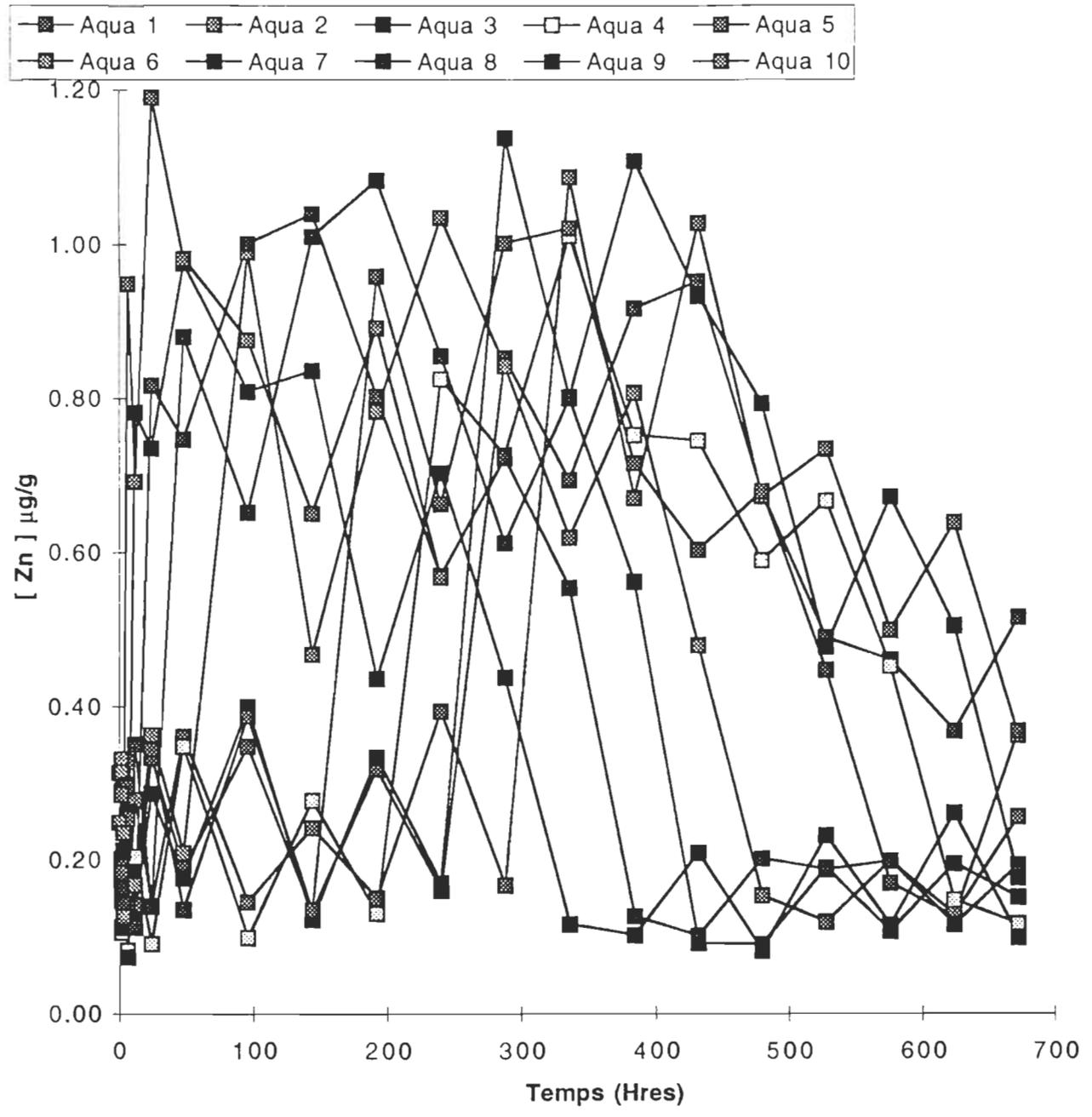
Évolution temporelle du potassium tissulaire chez *P. riparioides* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



Évolution temporelle du sodium tissulaire chez *P. riparioides* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe e



Évolution temporelle du zinc tissulaire chez *P. riparioides* durant la phase d'accumulation (aquariums un à dix) .

Annexe g

Les articles présentés dans ce mémoire sont conformes aux critères éditoriaux des différentes revues ou Actes de congrès. Vous trouverez, dans les annexes qui suivent, une copie des recommandations aux auteurs. en respectant l'ordre de présentation dans le présent mémoire.

1-Détermination de la capacité d'accumulation métallique de quelques bryophytes autochtones au Québec. *Proceeding of 21St Annual Aquatic Toxicity Workshop*, Sarnia Ontario, Octobre 1994

2-The kinetics of cadmium bioaccumulation by two aquatic mosses indigenous to Quebec. *Proceeding of Waste Management International*, Tucson Arizona, Mars 1995

3-Évolution temporelle des métaux biologiquement essentiels de la flore muscinale lors d'étude en laboratoire lors d'une contamination et d'une décontamination *in vitro*. (à soumettre) *Environmental pollution*

4-Évaluation du pouvoir complexant du EDTA lors d'études *in vitro* de la bioaccumulation du cadmium sur des bryophytes. (à soumettre) *The Canadian Field Naturalist*

5-Performance des mousses ensachées comme traceur de la contamination métallique dans le haut estuaire du Saint-Laurent. (à soumettre) *Vecteur Environment*