

Université du Québec
INRS-Eau

T 229

**LES LARVES DE L'INSECTE *CHAOBORUS* COMME INDICATEUR DU
NIVEAU DE CONTAMINATION EN CADMIUM DES LACS:
AMÉLIORATION D'UN MODÈLE DE PRÉDICTION**

Par
Marie-Noële Croteau
(B.Sc. Biologie)

Mémoire présenté
pour l'obtention
du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)

Jury d'évaluation

Examineur externe

Norman Yan
Ministère Ontarien de l'En-
vironnement et de l'Énergie

Examineur interne

Peter G. Campbell
INRS-Eau

Directeur de recherche

Landis Hare
INRS-Eau

Décembre 1997

«THE MURDERED HITCHHIKER-On 19 August 1971, the badly decayed corpse of a young woman was discovered at Inkoo, south Finland, an area subject to mercury pollution. Final instar blowfly larvae collected from the cadaver were allowed to pupate and the concentrations of mercury were determined in the adults which emerged. The flies contained less than $0.15 \mu\text{g g}^{-1}$ (fresh weight) of mercury which indicated that the insects had developed in uncontaminated biological material... It was concluded that the murdered girl had not lived in the mercury-polluted area. Later when the corpse was identified, it was discovered that she had lived as a student in the city of Turku, an area not subject to mercury pollution. This provided the first indication that analysis of this kind may find application in forensic practice...»

Hopkins, 1989

AVANT-PROPOS

Ce mémoire de type «par article» comporte d'abord une synthèse qui fait principalement état de la problématique et de la pertinence de mon sujet de recherche. L'article soumis à la revue *Environmental Science and Technology* constitue le huitième chapitre de ce mémoire.

La contribution des auteurs de l'article au projet de recherche s'établit comme suit:

- | | |
|-----------------------|--|
| Marie-Noëlle Croteau: | <ul style="list-style-type: none">- Réalisation du projet:<ul style="list-style-type: none">- Échantillonnage- Analyses chimiques- Taxonomie- Traitement des données- Rédaction de la synthèse- Rédaction initiale de l'article |
| Landis Hare: | <ul style="list-style-type: none">- Conception du projet- Rédaction finale de l'article |
| André Tessier: | <ul style="list-style-type: none">- Conception du projet- Rédaction de l'article |



REMERCIEMENTS

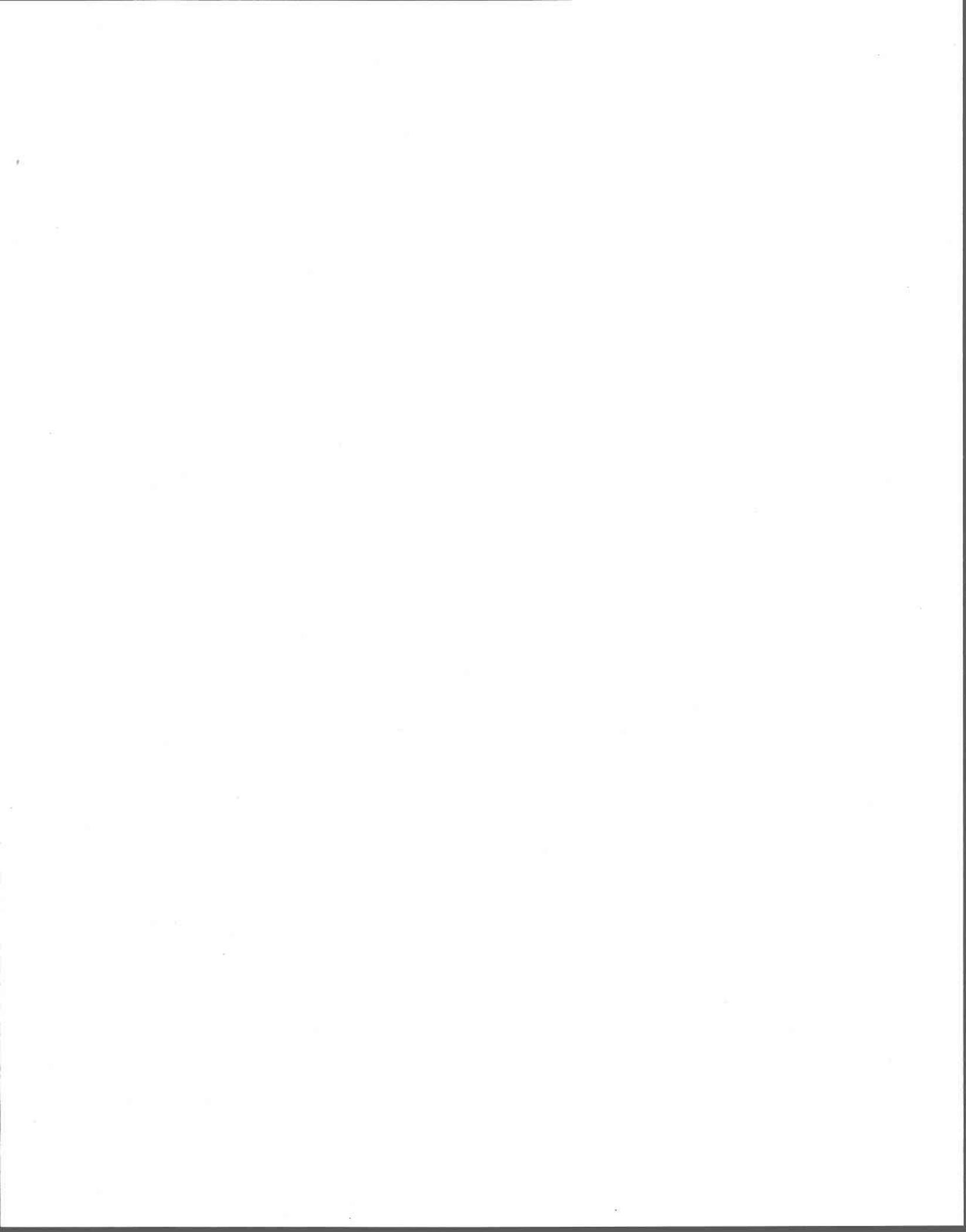
Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, Landis Hare, pour l'opportunité qu'il m'a donnée de travailler sur ce projet dès plus intéressant. La confiance qu'il m'a témoignée tout au cours de la réalisation de ce projet, sa grande disponibilité, de même que ses conseils judicieux méritent à bien des égards ces quelques lignes de remerciement.

J'aimerais également remercier son collègue, André Tessier, pour ses précieux conseils «géochimiques» prodigués tant lors de la planification que lors de la réalisation de mon projet de recherche.

Des remerciements s'adressent également à Julie Bernier pour son aide technique sur le terrain de même qu'aux techniciennes et techniciens du laboratoire de l'INRS-Eau pour leur aide et leurs conseils lors des analyses chimiques. Je pense ici tout particulièrement à Michèle G. Bordeleau, René Rodrigue, Sylvie St-Pierre et Bernard Veilleux. Dans le même ordre d'idée, j'aimerais également remercier Marie-Renée Doyon et Lise Rancourt, toutes deux assistantes de recherche respectivement au sein des équipes recherche de Landis Hare et d'André Tessier.

Je voudrais enfin remercier mes amis, pour leur effet «psychothérapeutique» lors de ces deux années d'études intensives. Je pense notamment à Chantal et Catherine. De plus, je ne saurais passer sous silence l'appui et le soutien indéfectibles de mes parents qui ont su croire en moi depuis déjà 25 ans.

Ce projet de recherche a été rendu possible grâce aux supports financiers du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie du Canada, des Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, du Ministère de l'Éducation du Québec, du Ministère Fédéral des Ressources Humaines et de l'U.S. Environmental Protection Agency.



RÉSUMÉ

L'industrie minière a contribué à disperser dans l'environnement lacustre d'importantes quantités de contaminants inorganiques comme le cuivre, le zinc, le plomb, le nickel et le cadmium. Ces métaux sont reconnus pour occasionner chez les organismes exposés des effets toxiques pouvant nuire tant à leur développement qu'à leur survie. La détermination du niveau de contamination en métaux de ces écosystèmes s'avère donc essentielle afin d'être en mesure de juger du danger qu'encourent les organismes exposés.

Il est possible d'estimer le niveau de contamination des systèmes lacustres en mesurant directement les concentrations de métal dans les organismes. Certains invertébrés sont en effet reconnus pour accumuler et concentrer les polluants. L'accumulation de Cd par les larves de l'insecte *Chaoborus punctipennis* peut d'ailleurs être raisonnablement bien prédite par les concentrations de Cd libre dans le milieu en se basant sur le modèle théorique de l'ion libre et en prenant en considération la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites d'absorption biologique.

L'échantillonnage de neuf lacs fortement acides et hautement contaminés en métaux traces a permis de démontrer que l'accumulation de Cd chez cette larve d'insecte n'est pas influencée par la présence d'autres métaux traces (Cu, Zn) ou de cations majeurs (Ca). Nous avons de plus démontré qu'omettre le travail nécessaire à l'identification à l'espèce des larves du genre *Chaoborus* ne réduisait que faiblement le pouvoir prédictif du modèle.

Bien que les larves de l'insecte *Chaoborus* présentent le potentiel pour «bioindiquer» efficacement les concentrations en Cd dans les systèmes lacustres, ces dernières semblent réguler leurs concentrations en cuivre et en zinc de sorte que *Chaoborus* ne pourrait être un bon biocicateur pour ces métaux essentiels.

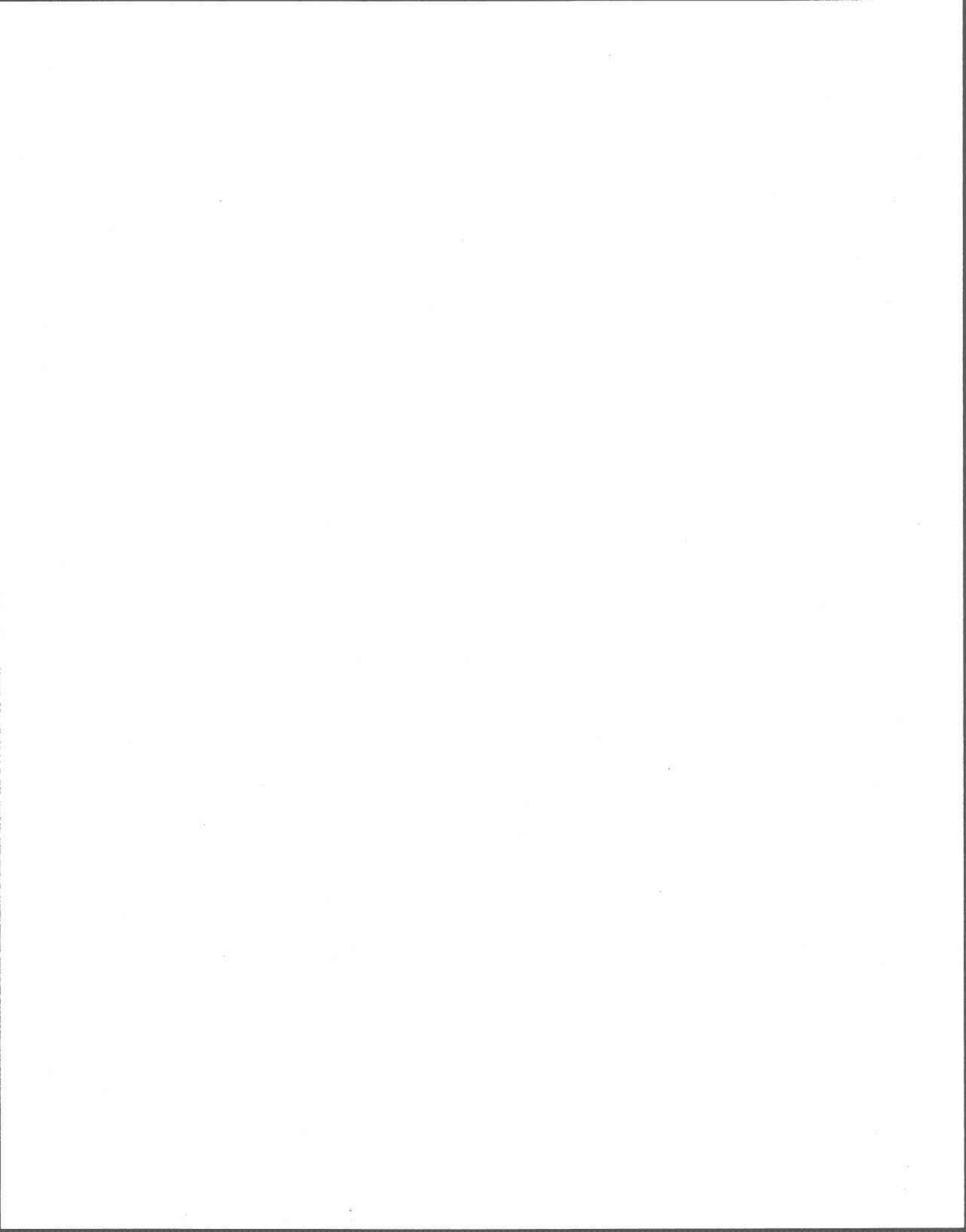
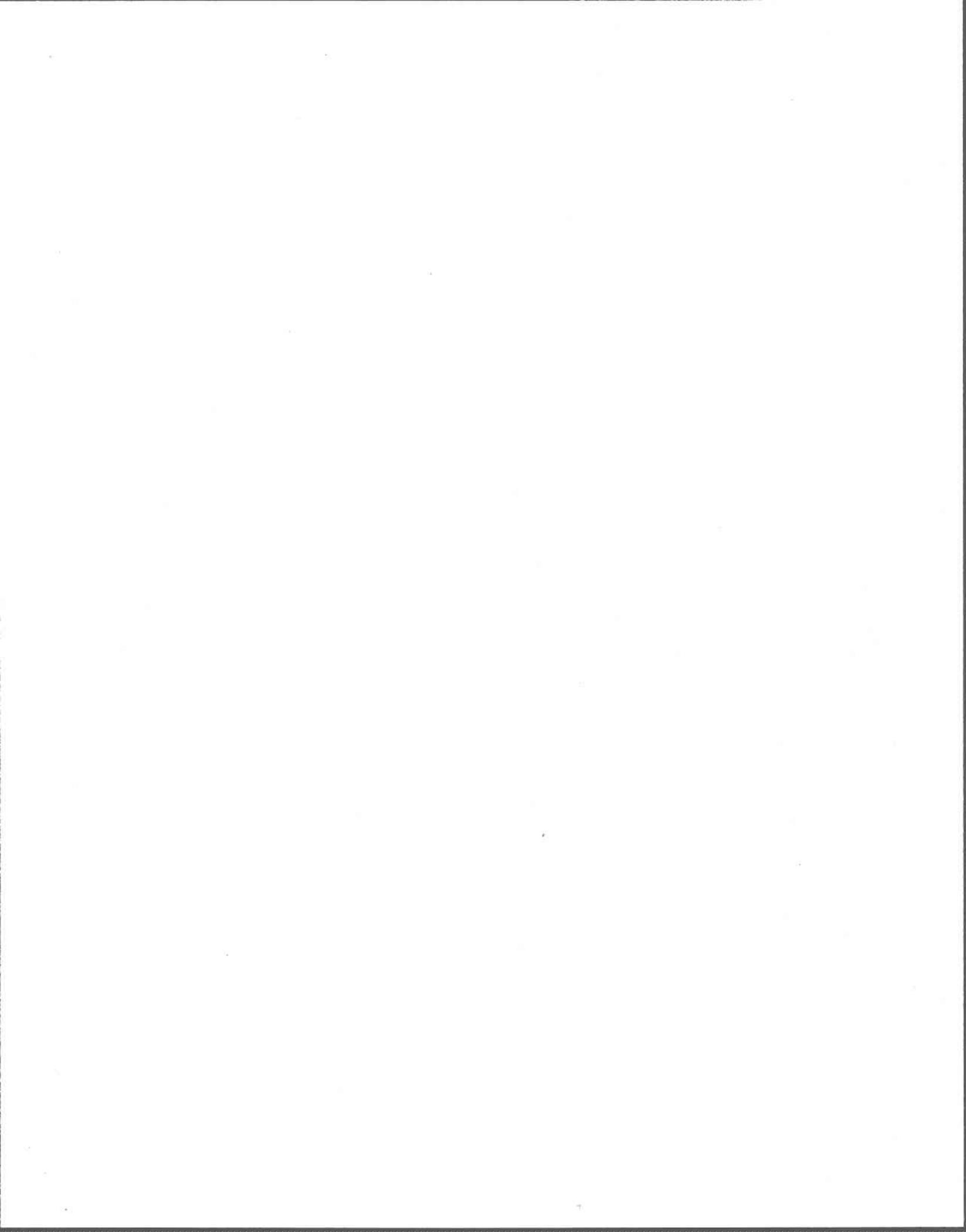


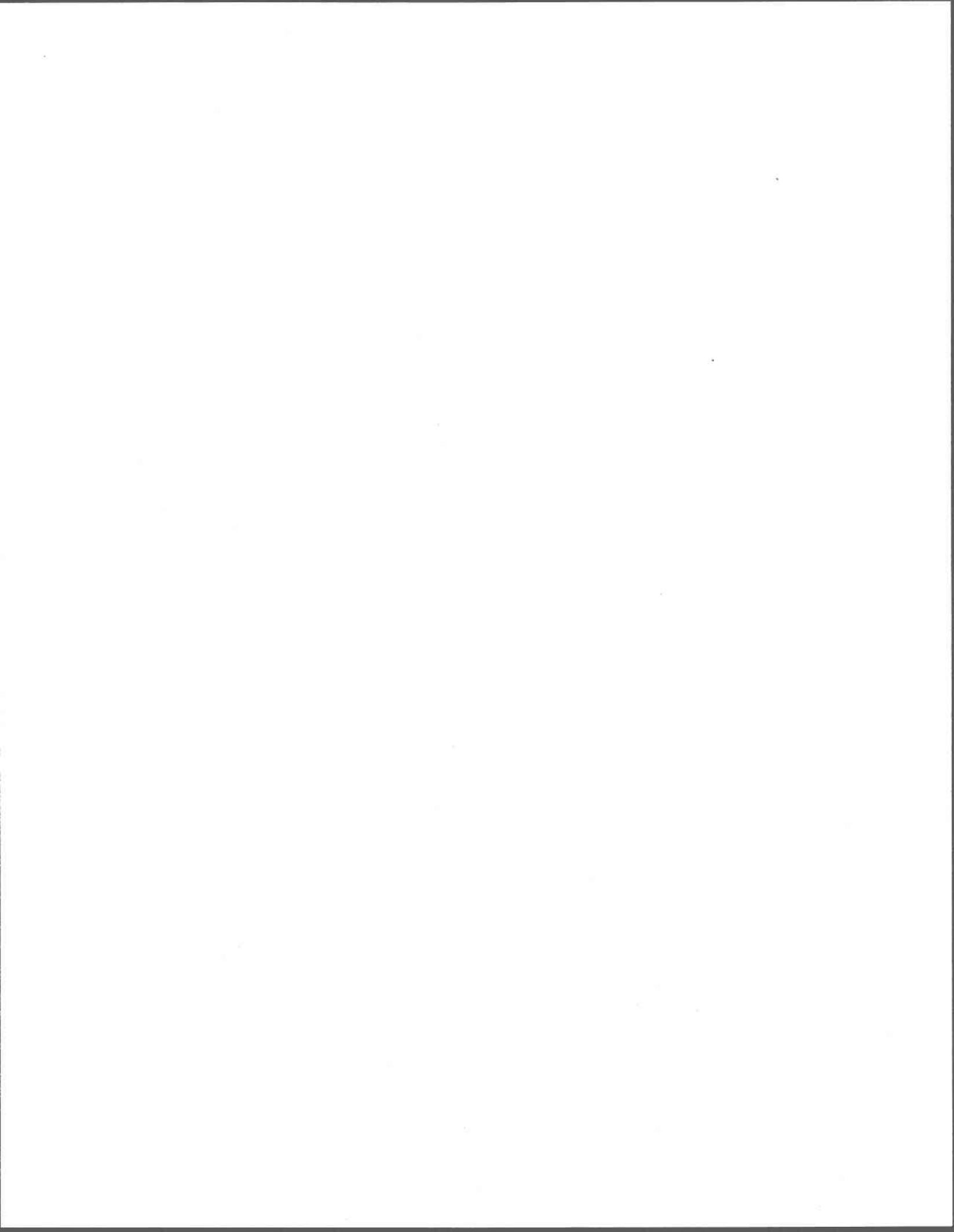
TABLE DES MATIÈRES

	Page
AVANT-PROPOS.....	iii
REMERCIEMENTS.....	v
RÉSUMÉ.....	vii
TABLE DES MATIÈRES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
LISTE DES FIGURES.....	xiii
1.0 INTRODUCTION.....	1
1.1 Les métaux traces dans l'environnement.....	1
1.2 Interactions entre les métaux traces et les organismes aquatiques.....	2
1.3 Les invertébrés aquatiques: organismes bioindicateurs du niveau de contamination.....	4
1.4 <i>Chaoborus punctipennis</i> : bioindicateur du niveau de contamination en Cd des lacs.....	5
1.5 Modèle biogéochimique.....	7
1.5.1 Modèle de l'ion libre.....	7
1.5.2 Bioaccumulation du Cd par <i>Chaoborus</i> : Effet du pH.....	10
1.5.3 Modèles de compétition.....	12
2.0 PROBLÉMATIQUE.....	17
2.1 Doutes sur la validité des modèles de prédiction.....	17
3.0 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES.....	19
4.0 RÉGIONS D'ÉTUDE.....	21
5.0 MÉTHODES.....	23
6.0 RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	25
6.1 Vérification des hypothèses.....	25
6.2 Utilisation de <i>C. punctipennis</i> comme organisme sentinelle.....	25
6.3 Perspectives de recherche.....	27
7.0 BIBLIOGRAPHIE.....	29
8.0 ARTICLE.....	35



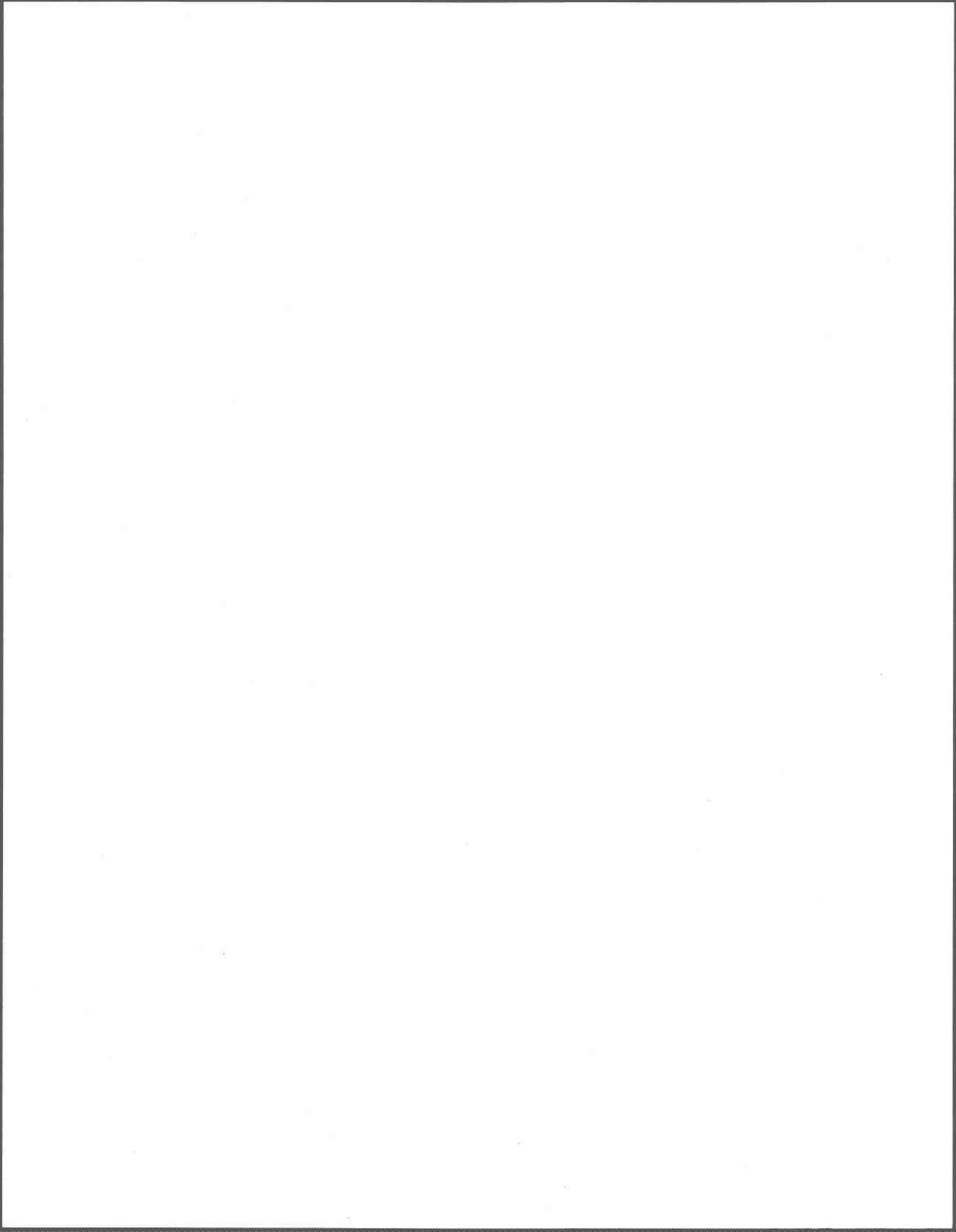
LISTE DES TABLEAUX

	Page
TABLEAU 1. Concentrations de Cd mesurées chez <i>C. punctipennis</i> et conditions physico-chimiques dans lesquelles les larves ont été retrouvées.....	6
TABLEAU 2. pH et concentrations en ions libres de Cd, Cu, Zn et Ni (estimées avec le logiciel de spéciation WHAM: [Tipping 1994]) pour des lacs provenant de différentes régions (Données non-publiées de Hare et Tessier).....	12
TABLEAU 3. Coefficients de corrélation de Pearson pour les relations entre les concentrations de métaux traces et d'ions hydrogène ($p < 0.05$ pour toutes les relations) (Modifié de [Croteau et al. 1997]).....	17



LISTE DES FIGURES

	Page
FIGURE 1. Relation entre les concentrations de Cd libre dans l'eau et dans <i>C. punctipennis</i> échantillonnés dans 23 lacs du Bouclier canadien.....	8
FIGURE 2. Relation entre les concentrations de Cd chez <i>C. punctipennis</i> échantillonnés dans 23 lacs du Bouclier canadien et l'expression de la compétition entre les ions hydrogène et Cd^{2+} pour les sites d'absorption membranaire.....	11
FIGURE 3. Relation entre la concentration de Cd accumulée par <i>C. punctipennis</i> provenant de 23 lacs du Bouclier canadien et l'expression de la compétition entre (A) Cd^{2+} et Cu^{2+} [Éqn. 16] et (B) entre Cd^{2+} , Cu^{2+} et H^+ ([Éqn. 17])	14



1. INTRODUCTION

1.1 Les métaux traces dans l'environnement

L'industrie minière, par la production pyrométallurgique de métal non-ferreux, a contribué à rejeter dans l'environnement des quantités importantes de contaminants inorganiques comme le cuivre, le cadmium, le plomb, le zinc et le nickel [Environnement Canada 1991; Winterhalder 1995]. En 1983, l'émission de ces métaux dans l'atmosphère se chiffrait à l'échelle mondiale (en tonnes par année) à 7 570 pour le Cd, à 35 370 pour le Cu, à 332 350 pour le Pb, à 131 880 pour le Zn et finalement, à 55 650 pour le nickel [Nriagu and Pacyna 1988]. En 1992, la contribution canadienne au bilan des émissions de Cd s'élevait à approximativement 160 tonnes par année. Plus de 58% de ces émissions originaient de l'Ontario [Malley 1996].

Transportés dans l'atmosphère, ces métaux parviennent à contaminer des territoires et des plans d'eau situés à plus de 100 km des fonderies [Keller 1992; Keller et al. 1992; Winterhalder 1995]. Bewers et al. (1987) rapportent d'ailleurs que le cadmium peut être transporté à plus de 1 000 km de son point d'émission avant de se déposer sous forme de précipitations sèches. Dans les régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda, l'eau de certains lacs présente des concentrations en Cd, en Cu et en Zn cent et parfois même mille fois supérieures à celles retrouvées dans les lacs des régions non contaminées [Conroy et al. 1975; Hare and Tessier 1996; Croteau et al. 1997]. A ces sources de contamination anthropiques s'ajoutent les précipitations acides et l'inondation de territoires pour la création de réservoirs hydroélectriques qui favorisent le relargage et le transport de certains métaux traces du sol vers les écosystèmes aquatiques [Jackson 1988; Lazerte et al. 1989]. Au niveau mondial, Malley (1996) rapporte qu'environ 1 300 tonnes de Cd par année (i.e., ≈20% des émissions totales) sont mobilisées naturellement par les feux de forêts, l'activité volcanique de même que par l'altération du sol et de la roche mère.

Métal potentiellement carcinogène, le cadmium provoque chez les organismes exposés des effets toxiques se caractérisant notamment par des retards de croissance, par l'altération du

système immunologique et par des dommages histopathologiques et biochimiques aux reins, aux organes reproducteurs, au foie, aux poumons et aux intestins [Wong 1987; Wright and Welbourn 1994; Maley 1996]. La toxicité du cadmium surpasse d'ailleurs celles du zinc, du cuivre et du plomb [Maley 1996], ce qui en fait un métal d'intérêt prioritaire.

1.2 Interactions entre les métaux traces et les organismes aquatiques

Pour les animaux aquatiques exposés à ces métaux, l'entrée du contaminant s'effectue soit à partir de la forme dissoute [Luoma 1983] ou de la forme particulaire du métal, i.e., la nourriture [Luoma 1983; Munger and Hare 1997]. Le taux d'entrée d'un métal dans un organisme est grandement influencé par les conditions physico-chimiques du milieu. Ainsi, le pH [Borgmann 1983; Campbell and Stokes 1985; Yan et al. 1990], la matière organique [Winner and Gauss 1986; Playle et al. 1993; Tipping 1994], la présence d'autres métaux traces [Simkiss and Taylor 1989; 1995] et les composantes responsables de la dureté [Wright 1977; Stephenson and Mackie 1989] et de la salinité de l'eau [Sunda et al. 1978] peuvent accroître ou réduire l'accumulation de métal chez un organisme.

Le transport des métaux à travers la membrane cellulaire des organismes peut s'effectuer par l'intermédiaire de protéines de transport [Luoma 1983] ou de canaux protéiques [Simkiss and Taylor 1995]. Chez certaines cellules, le cadmium est d'ailleurs reconnu pour diffuser vers le cytosol à travers les canaux destinés au transport du calcium [Hinkle et al. 1987]. Certains métaux comme le cuivre, le zinc et le cadmium peuvent de plus former des complexes liposolubles dans des conditions chimiques particulières et traverser la bicouche lipidique par simple diffusion [Simkiss and Taylor 1995]. De plus, l'engouffrement de particules métalliques par la membrane cellulaire menant à la formation de vésicules intracellulaires (i.e., endocytose) constitue une voie d'entrée possible pour le fer [Simkiss and Taylor 1989] et le plomb [Schulz-Baldes 1977].

La vitesse avec laquelle les atomes d'un métal traversent la double couche lipidique de la membrane cellulaire dépend à la fois de la spéciation du métal et de la structure biochimique de la membrane (i.e., nombre, composition et emplacement des sites récepteurs) [Simkiss and Taylor 1989]. Dans le cas du transport par diffusion de certains complexes liposolubles, la capacité du métal à s'associer et à se dissocier des ligands de transport de même que le nombre de ligands récepteurs en mesure de chélater le métal dans le cytosol des cellules peuvent également influencer à la fois la direction et l'amplitude du gradient de diffusion [Williams 1981; Phinney and Bruland 1994].

Dans le cytosol des cellules, les métaux peuvent être soit liés à des protéines (i.e., métallothionéines: [Engel and Roesijadi 1987]) ou être séquestrés dans des granules [Hopkins 1989a]. Ces derniers rendent possible l'entreposage et parfois l'excrétion des métaux accumulés. Le seuil de tolérance d'un organisme à un environnement contaminé dépendra de sa capacité à synthétiser des métallothionéines et à isoler les métaux dans des granules.

Bien que certains métaux (Cu, Zn, Fe, Mn) soient essentiels lors de réactions enzymatiques et de processus physiologiques particuliers, tous les métaux s'avèrent potentiellement toxiques lorsque présents à des concentrations élevées [Luoma 1983; Langston and Spence 1995]. Une fois bioaccumulés, ces métaux peuvent occasionner des problèmes tant au niveau de la locomotion (Cd: Ephemeroptera [Gerhardt 1990]), du développement (Cd, Cu, Zn et Pb: Diptera (Chironomidae) [Anderson et al. 1980]; Cu: Diptera (Chironomidae) [Kosalwat 1987a]), de la morphologie (Cu: Diptera (Chironomidae) [Kosalwat 1987a; 1987b]) et de la reproduction (Cd: Diptera (Chironomidae) [Williams et al. 1987]). Ces effets toxiques surviennent lorsque les quantités de métal qui entrent dans l'organisme surpassent les capacités biochimiques de l'organisme à métaboliser ces métaux [Hare 1992].

1.3 Les invertébrés aquatiques: organismes indicateurs du niveau de contamination

La détermination du niveau de contamination en métaux des écosystèmes aquatiques s'avère essentielle afin de juger du danger qu'encourent les organismes exposés. Or, mesurer précisément la concentration des métaux traces dans l'eau représente un défi technique de taille [Phillips and Rainbow 1993]. En fait, les quantités «traces» de métal présentes dans les milieux aqueux (i.e., $Cd < 10^{-9}M$, $Cu < 10^{-8}M$ et $Zn < 10^{-7}M$), peuvent parfois se situer en deçà des limites de détection des méthodes analytiques, ce qui compromet à la fois la fiabilité et la justesse des résultats. De plus, les risques accrus de contamination tant lors de la récolte que lors de l'analyse des échantillons d'eau nécessitent l'utilisation de techniques «ultra-propres» (section 5). Enfin, mesurer la concentration totale d'un métal dans l'eau ne nous renseigne pas sur la disponibilité du contaminant pour les êtres vivants (i.e., la proportion d'un contaminant présent dans l'environnement sous une(des) forme(s) qui peut(vent) être potentiellement assimilée(s) par un organisme) [Campbell 1995].

Or, les sédiments des lacs constituent de véritables réservoirs de contaminants [Hare et al. 1994]. La majorité des métaux traces présents dans les écosystèmes aquatiques se trouvent en effet associée aux sédiments [Sigg 1994]. Cependant, ces métaux apparaissent fortement liés aux divers ligands organiques et inorganiques des sédiments de sorte que leur biodisponibilité pour les organismes benthiques et pélagiques apparaît plutôt faible [Luoma and Bryan 1982].

Il est par ailleurs possible de surmonter ces contraintes et d'estimer efficacement le niveau de contamination en métaux des systèmes lacustres en mesurant directement les concentrations de métal dans les organismes. Les invertébrés sont en effet reconnus pour accumuler et concentrer les polluants [Hopkins 1989b]. De plus, les concentrations de contaminants accumulés par les organismes tendent à être proportionnelles à la biodisponibilité des métaux dans les milieux aqueux [Luoma and Bryan 1982; Tessier et al. 1993a]. Dans les milieux marin et estuarien, les algues, les bivalves, les gastropodes, les polychètes et les crustacés

décapodes sont d'ailleurs reconnus pour «bioindiquer» efficacement le niveau de contamination en métaux [Langston and Spence 1995].

En milieux lacustres toutefois, l'écotoxicologie constitue une discipline relativement récente. La recherche visant le développement de bioindicateurs a par conséquent retenu peu l'attention des chercheurs. En fait, seul Tessier et al. (1993b) ont démontré, en s'appuyant sur un modèle théorique développé en laboratoire (i.e., modèle de l'ion libre (section 1.5)), que les concentrations en Cd du bivalve *Pyganodon grandis* (anciennement *Anodonta grandis*) pouvaient refléter efficacement le niveau de contamination en Cd dans l'eau des lacs. Cependant, l'absence de cette espèce dans les habitats en zones profondes et dans les lacs acides limite son utilisation.

1.4 *Chaoborus punctipennis*: indicateur du niveau de contamination en Cd des lacs

Hare et Tessier (1996) ont récemment proposé la larve de l'insecte *Chaoborus punctipennis* comme espèce sentinelle du niveau de contamination en Cd des lacs. Ce diptère possède en effet plusieurs des qualités essentielles à un organisme bioindicateur efficace. D'abord, l'espèce présente une vaste distribution en Amérique du Nord [Borkent 1981]. Les larves sont de plus relativement faciles à identifier [Saether 1972] et leur comportement migratoire en facilite l'échantillonnage massif. Pendant le jour en effet, les larves des stades III et IV se confinent dans les sédiments ou dans la zone anoxique de l'hypolimnion afin d'échapper à la prédation des poissons. A la nuit tombée, les larves migrent dans la zone épilimnétique pour s'alimenter. Les larves des stades I et II sont quant à elles essentiellement pélagiques [Pope et al. 1973; von Ende 1979]. Par conséquent, l'échantillonnage nocturne de *Chaoborus* permet, avec relativement peu d'effort, une récolte abondante de larves.

De plus, la position stratégique qu'occupent les larves de l'insecte *Chaoborus* dans la chaîne alimentaire confère au genre un statut privilégié dans le cas d'études portant sur le transfert trophique des métaux. Les larves de *Chaoborus* font en effet l'objet d'une intense prédation

de la part de l'ichtyoplancton et des poissons de petites tailles [Pope et al. 1973]. *Chaoborus* constitue quant à lui un prédateur vorace du zooplancton herbivore. Les travaux de Moore (1988) et plus récemment, ceux de Moore et al. (1994) ont toutefois démontré que les différents stades larvaires de *C. punctipennis* s'alimenteraient également de phytoflagellés mixotrophes, ce qui implique que l'espèce serait davantage omnivore que carnivore. Dans les systèmes lacustres, les larves de l'insecte *Chaoborus* occupent en fait une niche écologique unique qu'elles partagent à l'occasion avec le cladocère prédateur *Leptodora kindtii*, plus restreint que *Chaoborus* dans son aire de distribution (i.e., espèce absente dans les lacs hautement acides: [Carter et al. 1980]).

En plus d'accumuler les métaux, les larves de l'insecte *Chaoborus* peuvent résister à une vaste gamme de conditions physico-chimiques (Tableau 1). En fait, leur présence dans les eaux extrêmement acides confère au genre un net avantage sur les bivalves et les crustacés décapodes qui requièrent des eaux alcalines pour la calcification de leurs structures externes. Enfin, à l'état larvaire, ces diptères n'affichent aucun dimorphisme sexuel ni structures associées au cycle reproducteur. Contrairement aux invertébrés de plus grande taille, les concentrations de métal mesurées dans *Chaoborus* ne sont donc pas sujettes à la variabilité occasionnée par les cycles de reproduction [Langston and Spence 1995].

Tableau 1. Concentrations de Cd mesurées chez *C. punctipennis* et conditions physico-chimiques pour lesquelles les larves de l'insecte ont été retrouvées; t.d., total dissous; a) [Hare and Tessier 1996]; b) [Croteau et al. 1997]; c) [Hare and Tessier 1997]

Paramètre	Valeurs mesurées
[Cd] _{C.punct} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	[0.24 - 13.3] ^a
pH	[4.3 - 7.27] ^{a,b}
Carbone organique dissous (mg L^{-1})	[1.29 - 14.6] ^a
[Cd] _{t.d.} (nM)	[0.15 - 19.5] ^{a,b}
[Cu] _{t.d.} (nM)	[5.5 - 1674] ^c
[Zn] _{t.d.} (nM)	[8.0 - 4764] ^{b,c}
[Ca ²⁺] (μM)	[30 - 2254] ^b

1.5 Modèle biogéochimique

1.5.1 Modèle de l'ion libre

A part quelques exceptions [Campbell 1995], l'accumulation de métal par un organisme aquatique ($[M]_{\text{organisme}}$) (en laboratoire) peut être prédite par la concentration de l'ion libre du métal ($[M^{z+}]$) dans le milieu [Morel 1983]. En terme d'équation, cette affirmation s'exprime par:

$$[M]_{\text{organisme}} = F \cdot [M^{z+}] \quad (1)$$

où F représente un facteur de proportionnalité pour la relation entre la concentration du métal libre dans l'eau et la concentration du métal accumulé par un organisme. La bioaccumulation de Cd par le bivalve *P. grandis* peut d'ailleurs être raisonnablement bien prédite par cette relation ($r^2=0.81$) [Tessier et al. 1993b].

Hare et Tessier (1996) rapportent toutefois qu'en milieu naturel, l'accumulation de Cd par la larve de l'insecte *Chaoborus punctipennis* ne peut être prédite significativement par les concentrations de l'ion libre de Cd seul ($r^2=0.04$, $p=0.37$) (Figure 1). Les organismes présents dans les lacs hautement acides ($\text{pH} < 5.0$) tendent en effet à accumuler peu de métal et ce, malgré des concentrations élevées de Cd libre dans le milieu (Figure 1).

Cette accumulation réduite de métal par les organismes issus de milieux acides peut s'expliquer par la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites biologiques d'entrée du métal [Hare and Tessier 1996]. Tel que le rapportent Campbell et Stokes (1985), les diminutions de pH affectent non seulement la spéciation des métaux mais contribuent également à accroître la compétition entre les protons et les ions métalliques pour les sites d'absorption, ce qui réduit l'entrée de métal chez un organisme. L'effet inhibant des protons sur la bioaccumulation de métal a d'ailleurs été invoqué en de multiples occasions pour expliquer la réduction de la toxicité de certains métaux à faible pH (e.g., dans le cas du Cu chez des algues [Peterson et al. 1984; Xue and Sigg 1990] et des poissons [Cusimano et al. 1986], du Cd chez des algues [Peterson et al. 1984], des poissons [Cusimano et al. 1986]

et des micro-organismes (i.e., bactéries et champignons) [Borgmann 1983] et du Zn chez des poissons [Borgmann 1983]).

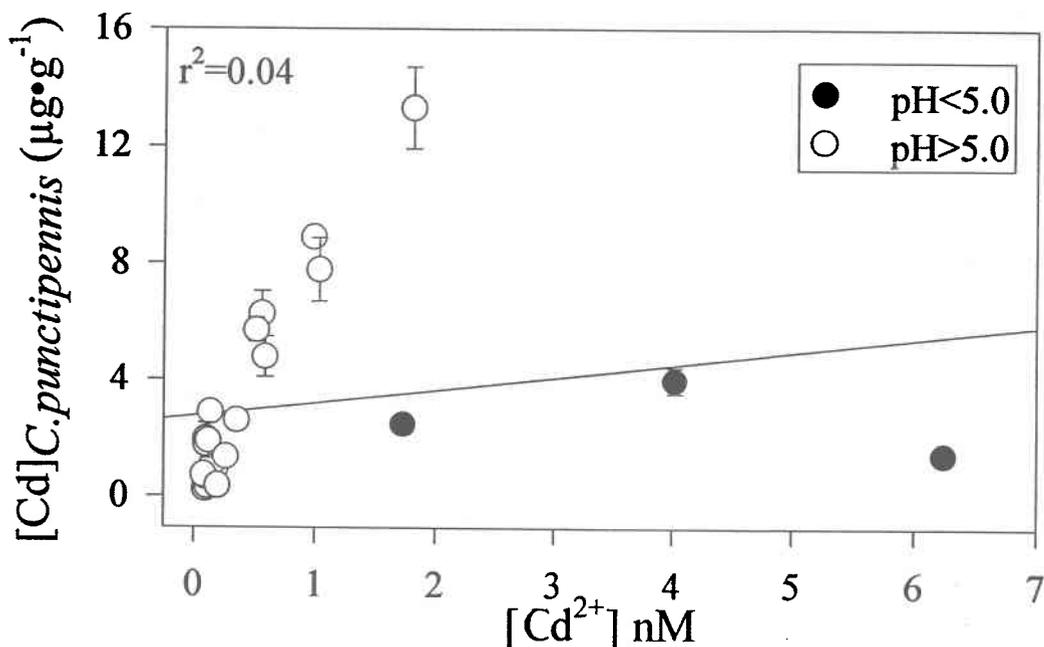


Figure 1. Relation entre les concentrations de Cd libre dans l'eau et dans *C. punctipennis* échantillonnés dans 23 lacs du Bouclier Canadien (Tiré de [Hare and Tessier 1996]). En excluant les données relatives aux trois lacs acides, le pouvoir prédictif de la relation grimpe à 92% et la relation devient hautement significative $p < 0.001$ (Hare et Tessier, non publié).

Il est possible d'exprimer la compétition entre les ions H^+ et Cd^{2+} pour les sites d'absorption biologiques en terme d'équations chimiques. Il est à noter que les charges sur les composantes des prochaines équations seront omises afin d'en simplifier la représentation. Ainsi, l'interaction entre le Cd et les surfaces cellulaires des organismes peut en effet être décrite de la façon suivante:



$$K_{Cd} = [\equiv XCd] / ([Cd^{2+}] [\equiv X]) \quad (3)$$

où $\equiv\text{XCd}$ constitue un site biologique d'entrée de métal occupé par un atome de Cd, $\equiv\text{X}$ est un site libre et K_{Cd} représente une constante d'équilibre chimique pour la réaction entre les ions Cd^{2+} et les sites d'absorption biologique. En supposant que le Cd accumulé par *Chaoborus* ($[\text{Cd}]_{\text{Chaob}}$) est proportionnel au Cd lié aux sites d'absorption membranaires, on obtient:

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaob}} = k_1 [\equiv\text{XCd}] \quad (4)$$

Cependant, Munger et Hare (1997) ont démontré que la nourriture constituait la principale voie d'entrée du Cd chez *Chaoborus*. Par conséquent, les quantités de Cd accumulées par *Chaoborus* seraient en réalité proportionnelles à celles accumulées par ses proies ($[\text{Cd}]_{\text{proies}}$), i.e.,

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaob}} = k_2 [\text{Cd}]_{\text{proies}} \quad (5)$$

En principe, la bioaccumulation de Cd par les proies de *Chaoborus* devrait obéir également au modèle de l'ion libre et serait par conséquent prédite par la concentration en ion libre de cadmium ($[\text{Cd}^{2+}]$) dans le milieu. En supposant de nouveau que le Cd accumulé par les proies de *Chaoborus* est proportionnel au Cd lié aux sites d'absorption membranaire, on obtient:

$$[\text{Cd}]_{\text{proies}} = k_3 [\equiv\text{XCd}] \quad (6)$$

En combinant les équations 5 et 6, on constate que l'expression mathématique décrivant l'accumulation de Cd par *Chaoborus* demeure inchangée (à une constante près) peu importe la voie d'entrée du métal considérée (i.e., nourriture vs eau):

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaob}} = k_2 k_3 [\equiv\text{XCd}] \quad (7)$$

Par conséquent, il est possible et justifiable de relier à l'aide d'équations chimiques, la bioaccumulation de Cd par *Chaoborus* aux concentrations de métal retrouvées dans la phase aqueuse (i.e., équations 1 à 4). Il semble par ailleurs logique de supposer que le phytoplancton constitue le niveau trophique auquel l'entrée de Cd s'effectue directement via l'eau. Cependant, aucune étude ne semble avoir démontré une pareille affirmation.

1.5.2 Bioaccumulation du Cd par *Chaoborus*: Effet du pH

L'interaction entre un proton (H^+) et un site d'absorption membranaire peut être exprimé à l'aide des équations suivantes:



$$K_a = ([\equiv X] [H^+]) / [\equiv XH] \quad (9)$$

où $\equiv XH$ représente un site biologique d'entrée de métal occupé par l'ion hydrogène et K_a constitue une constante d'équilibre chimique pour la réaction entre les ions H^+ et les sites d'absorption biologique. La concentration totale des sites d'entrée du métal sur un organisme ($[\equiv X]_T$) peut être quant à elle décrite de la façon suivante:

$$[\equiv X]_T = [\equiv XH] + [\equiv XCd] + [\equiv X] \quad (10)$$

En supposant qu'un très faible nombre de sites est occupé par le Cd et en combinant les équations (3), (9) et (10), on obtient:

$$[\equiv XCd] = (K_{Cd} \cdot K_a \cdot [\equiv X]_T [Cd^{2+}]) / ([H^+] + K_a) \quad (11)$$

L'accumulation de Cd par un organisme tel que *Chaoborus* peut être décrite de nouveau en combinant cette fois les équations (7) et (11):

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}} = F [\text{Cd}^{2+}] / ([\text{H}^+] + K_a) \quad (12)$$

où F correspond au produit des constantes (k_1), (k_2), (K_{Cd}), (K_a) et ($[\text{X}]_T$). Ce facteur de proportionnalité (F) est spécifique à un organisme particulier et aux proies qu'il ingère.

En considérant la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites d'absorption membranaire, le pouvoir prédictif du modèle décrivant l'accumulation de Cd par la larve de l'insecte *C. punctipennis* passe de 4 à 86% et la relation devient du même coup hautement significative ($p < 0.001$) (Figure 2) [Hare and Tessier 1996; 1997].

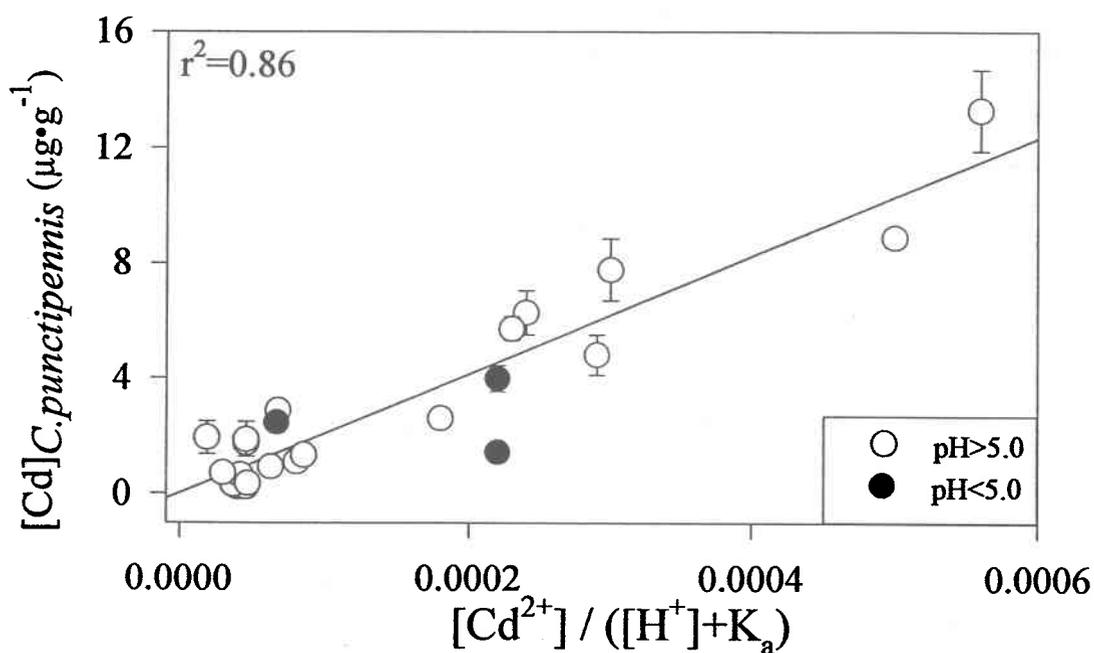


Figure 2. Relation entre les concentrations de Cd chez *C. punctipennis* échantillonnés dans 23 lacs du Bouclier canadien et l'expression de la compétition entre les ions hydrogène et Cd^{2+} pour les sites d'absorption membranaire (Éqn. 12)

1.5.3 Modèles de compétition

Dans les lacs circumneutres, l'importante complexation des métaux traces contribue à décroître leur biodisponibilité pour les organismes [Borgmann 1983]. Ces complexes métalliques tendent toutefois à se dissocier avec les réductions de pH [Campbell and Stokes 1985]. Par conséquent, dans les lacs acides des régions minières, non seulement les concentrations en protons sont élevées mais également celles des ions libres des autres métaux traces (Tableau 2).

Tableau 2. pH et concentrations en ions libres de Cd, Cu, Zn et Ni (estimées avec le logiciel de spéciation WHAM: [Tipping 1994]) pour des lacs provenant de différentes régions (Données non-publiées de Hare et Tessier)

LAC	RÉGION	pH	[Cd ²⁺]nM	[Cu ²⁺]nM	[Zn ²⁺]nM	[Ni ²⁺]nM
Crooked	Sudbury	4.58	6.2	676	313	4278
Wavy	Sudbury	4.62	1.7	48	148	830
Clearwater	Sudbury	4.79	4.0	128	258	2051
St-Joseph	Québec	6.63	0.1	0.01	12	n.d.
Caron	Rouyn-Noranda	7.11	1.0	0.01	13	4.6
Joannès	Rouyn-Noranda	7.27	0.4	0.004	2.1	2.3

Or à de faibles valeurs de pH, ces métaux peuvent compétitionner, au même titre que les ions hydrogène, avec les ions libres de Cd pour les sites d'absorption membranaire. Simkiss et Taylor (1989) rapportent en effet que la présence simultanée de Cd avec d'autres métaux traces (e.g., Cu, Ni, Pb ou Zn) peut mener à une réduction de la toxicité du Cd chez les organismes exposés.

Cette compétition entre deux ions métalliques pour les sites d'absorption membranaire peut également être traduite à l'aide d'équations chimiques. Ainsi, l'interaction entre le métal

«compétiteur» (M^{2+}) et la surface membranaire des organismes peut être décrite à l'aide des équations suivantes:



$$K_M = [\equiv XM] / ([M^{2+}] [\equiv X]) \quad (14)$$

où ($\equiv XM$) représente un site biologique occupé par un ion du métal «compétiteur» et K_M constitue une constante d'équilibre chimique pour la réaction d'absorption du métal compétiteur sur une surface cellulaire. L'équation décrivant la concentration totale des sites d'entrée du métal ($[\equiv X]_T$) doit également être modifiée de façon à considérer la concentration des sites occupés par le métal «compétiteur»:

$$[\equiv X]_T = [\equiv XM] + [\equiv XCd] + [\equiv X] \quad (15)$$

En supposant qu'un très faible nombre de sites sont occupés par le Cd et en combinant les équations 3, 7, 14 et 15, on obtient après quelques transformations mathématiques:

$$[Cd]_{Chaob} = F ([Cd^{2+}] / (1 + K_m [M^{2+}])) \quad (16)$$

où F est égal au produit des constantes (k_1), (k_2), (K_{Cd}) et ($[\equiv X]_T$) et est également spécifique tant à un organisme particulier qu'aux proies qu'il ingère.

En prédisant l'accumulation de Cd par *Chaoborus* à l'aide de l'équation 16, le pouvoir prédictif du modèle augmente de 6% lorsque le Cu constitue le métal compétiteur ($r^2=0.92$, $p<0.001$) (Figure 3a) alors qu'il réduit respectivement de 40 et de 64% lorsque l'effet compétiteur du Zn et du Ni est pris en considération (M=Zn: $r^2=0.46$, $p<0.001$; M=Ni:

$r^2=0.22$, $p>0.05$; Hare et Tessier, non publié). Ces résultats semblent démontrer que les ions libres de Cu compétitionnent plus efficacement que les ions hydrogène pour les sites d'absorption biologique. En d'autres termes, les ions libres de Cu semblent réduire davantage l'entrée de Cd chez les organismes que les ions hydrogène. Cette affirmation se trouve d'ailleurs confirmée lorsque la compétition entre les ions hydrogène et les ions libres de Cd et de Cu est prise en considération (Figure 3b).

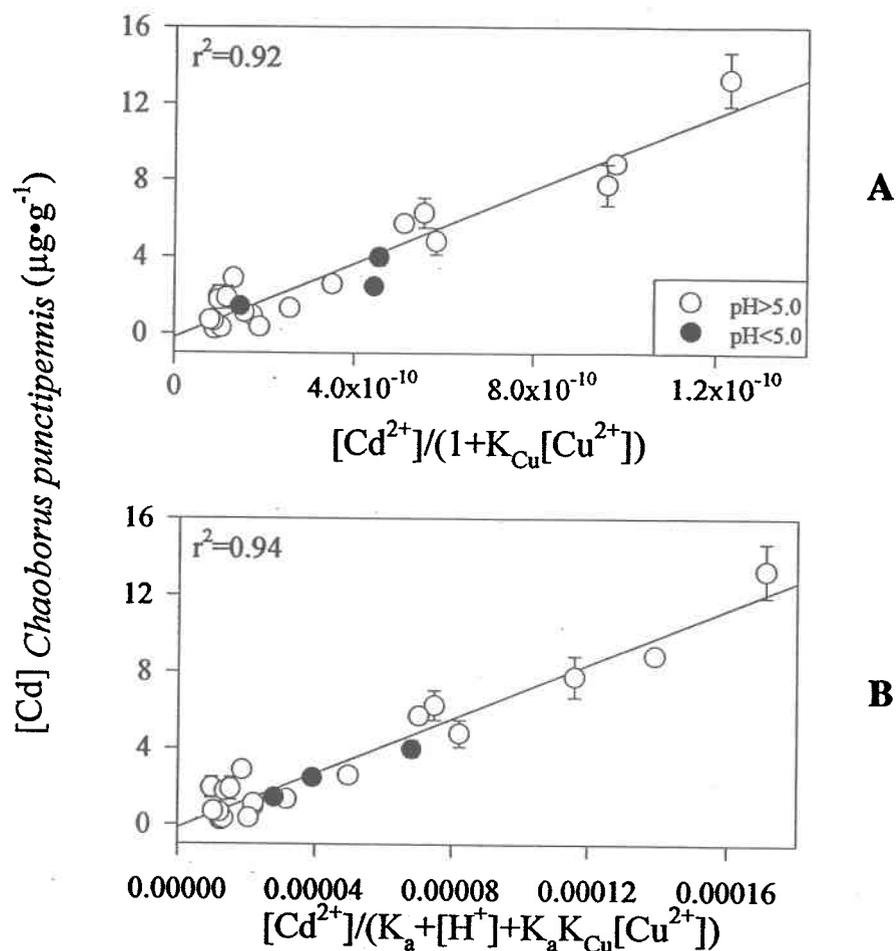


Figure 3. Relation entre la concentration de Cd accumulé par *C. punctipennis* provenant de 23 lacs du Bouclier canadien et l'expression mathématique de la compétition entre (A) Cd^{2+} et Cu^{2+} (Éqn. 16) et (B) entre Cd^{2+} , Cu^{2+} et H^+ (Éqn. 17) ($p<0.001$ pour les deux relations).

Il est en effet possible d'exprimer cette «double compétition» à l'aide d'équations chimiques. Un terme représentant la concentration des sites occupés par les ions hydrogène doit cependant être ajouté à l'équation décrivant la concentration totale des sites d'entrée du métal chez un organisme (Eqn. 15). En supposant de nouveau qu'un très faible nombre de sites est occupé par le Cd et en combinant les équations 3, 7, 9, 14 et 15, on obtient:

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaob}} = F ([\text{Cd}^{2+}] / (K_a + [\text{H}^+] + K_a K_m [\text{M}^{2+}])) \quad (17)$$

où F est égal au produit des constantes (k_1), (k_2), (K_{Cd}) et ($[\text{X}]_T$) et est spécifique tant à un organisme particulier qu'à ses proies.

En considérant cette «double compétition» des protons et des ions libres de Cu, le pouvoir prédictif du modèle augmente d'à peine 2%, passant de 92% (Éqn. 16, Figure 3a) à 94% (Éqn. 17, Figure 3b).

Enfin, d'après les travaux de Stephenson et Mackie (1989), l'accumulation de Cd par l'amphipode *Hyaella azteca* se trouverait réduite en présence de fortes concentrations de calcium. Il importe donc de mentionner qu'il est possible de prendre en considération la compétition entre les ions Ca^{2+} , Cd^{2+} et H^+ dans le modèle de prédiction. Cependant Hare et Tessier (1997) ont montré qu'ajouter un terme représentant la compétition du calcium au modèle tenant compte de la compétition entre les ions Cd^{2+} et H^+ (Eqn. 12), ne conduisait qu'à un accroissement d'à peine 2% dans le pouvoir prédictif. Par conséquent, il apparaît peu justifiable de prendre en considération l'effet inhibant des ions Ca^{2+} sur l'accumulation de Cd par *Chaoborus* puisque ce faible gain dans le pouvoir prédictif du modèle se réalise au coût d'un accroissement de la complexité des équations (i.e., augmentation du nombre de paramètres ajustables, section 2).



2. PROBLÉMATIQUE

2.1 Doutes sur la validité des modèles de prédiction

L'accroissement dans le pouvoir prédictif des modèles qui considèrent tant la compétition entre Cd^{2+} et Cu^{2+} qu'entre Cd^{2+} , Cu^{2+} et H^+ pourrait être davantage attribuable aux fortes corrélations retrouvées entre les concentrations des ions Cd^{2+} , Cu^{2+} et H^+ (Tableau 3) qu'à un véritable effet de compétition à l'échelle moléculaire. En fait, les gains de précision obtenus par ces modèles de prédictions (Éqns. 16 et 17) pourraient traduire plutôt un effet de multicollinéarité (i.e., répétition de l'information exprimée auparavant par une variable indépendante [Cd^{2+}]) [Weisberg 1985]. Selon cette interprétation, la contribution de la variable [Cu^{2+}] dans l'explication de la variation de l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* ne serait donc significative, ni sur plan statistique, ni au niveau du mécanisme d'accumulation du Cd.

Tableau 3. Coefficients de corrélation de Pearson pour les relations entre les concentrations de métaux traces et d'ions hydrogène ($p < 0.05$ pour toutes les relations) (Modifié de [Croteau et al. 1997])

	[Cd^{2+}]	[Cu^{2+}]	[Zn^{2+}]	[Ni^{2+}]
[Cu^{2+}]	0.89	---	---	---
[Zn^{2+}]	0.97	0.81	---	---
[Ni^{2+}]	0.98	0.93	0.95	
[H^+]	0.84	0.76	0.90	0.81

D'autre part, la littérature ne comporte aucune étude valable qui aurait démontré, sans ambiguïté, que le Cu compétitionne avec les ions de Cd pour réduire la bioaccumulation de ce métal chez les organismes. En fait, seule l'étude de Bartlett et al. (1974) rapporte qu'en présence de Cu et de Cd, la croissance de l'algue *Selanastrum capricornutum* se trouve favorisée. Les auteurs conclurent que le Cd pouvait réduire la toxicité du Cu. Les résultats de

cette étude ne permettent toutefois pas d'affirmer qu'inversement, le Cu réduirait la toxicité du Cd.

Par ailleurs, l'accroissement observé dans le pouvoir prédictif des modèles considérant la compétition entre les ions métalliques (Éqn. 16) et la compétition entre les ions métalliques et les ions hydrogène (Éqn. 17) se réalise au coût d'une augmentation de la complexité des équations et du nombre de paramètres ajustables. Or, la concentration de métal accumulé par un bioindicateur «idéal» devrait permettre de déterminer le niveau de contamination d'un plan d'eau (i.e., évaluer les concentrations biodisponibles de métal). De plus, le modèle de prédiction propre à un organisme sentinelle devrait être facile à utiliser par les gestionnaires de l'environnement responsables d'évaluer la teneur en métaux des plans d'eau. Dans cet ordre d'idées, les modèles de prédiction décrits précédemment par les équations 16 et 17 contreviennent justement à ce principe de «simplicité d'utilisation». En termes d'équations, l'expression mathématique de ces modèles comporte en effet deux variables inconnues, i.e. $[Cd^{2+}]$ et $[M^{z+}]$.

Il apparaît par conséquent justifiable de remettre en question la validité des prédictions obtenues par ces modèles qui considèrent soit la compétition entre deux ions métalliques (Éqn. 16) ou celle entre les protons et les ions métalliques (Éqn. 17). La pertinence du modèle de prédiction proposé par Hare et Tessier (1996) prend donc toute son importance et sa signification puisqu'il permet de prédire efficacement ($r^2=0.86$) et avec un nombre réduit de paramètres ajustables (i.e., F et K_a) l'accumulation de Cd par la larve de l'insecte *C. punctipennis* (Figure 2). La force du modèle de Hare et Tessier (1996) tient en fait à sa base théorique solide et à sa validation à partir de données provenant de 23 lacs distribués sur une vaste aire géographique et présentant des caractéristiques physico-chimiques variées. Cependant, l'effet «atténuant» des protons sur l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* n'a été vérifié que pour un nombre restreint de lacs hautement acides (i.e., 3 lacs de pH < 5.0). Ces lacs acides provenaient de surcroît, de la même région minière (i.e., Sudbury).

3. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

Dans le cadre de mon projet de maîtrise, nous avons tenté de vérifier, dans un premier temps, la tendance selon laquelle les larves de l'insecte *Chaoborus* accumulent moins de Cd dans les lacs hautement acides. Nous émettons d'ailleurs l'hypothèse qu'une pareille tendance devrait ressortir de nos résultats. La vérification de cette hypothèse a nécessité l'échantillonnage et le dosage de Cd dans l'eau et dans des larves d'insecte provenant de neuf lacs très acides et fortement contaminés en métaux traces, ces lacs situés dans les régions minières de Sudbury et de Rouyn-Noranda (section 4).

Dans un second temps, le dosage du Cd, du Cu, du Zn et du Ni dans l'eau de ces lacs excessivement acides et contaminés en métaux devrait permettre de déterminer qui des protons ou des ions Cu^{2+} compétitionnent le plus efficacement avec le Cd pour réduire l'accumulation de ce métal chez *C. punctipennis*. Nous émettons l'hypothèse qu'en combinant nos résultats aux données de Hare et Tessier (1996), il sera possible de réduire les corrélations entre les concentrations de métaux traces et d'ions hydrogène. En vérifiant l'applicabilité des différents modèles de compétition, nous devrions trouver que l'accumulation de Cd chez *C. punctipennis* est peu influencée par la présence d'autres métaux traces (i.e., Cu, Zn et Ni) ou de cations majeurs (i.e., Ca).

Dans l'optique de développer un modèle de prédiction combinant «précision» et «simplicité d'utilisation», l'applicabilité du modèle de prédiction au genre *Chaoborus* plutôt qu'à l'espèce *punctipennis* simplifierait la tâche des gestionnaires de l'environnement, en leur évitant le travail nécessaire à l'identification à l'espèce des larves. D'ailleurs, bien que *C. punctipennis* constitue l'une des espèces les plus largement répandues dans l'est de l'Amérique [Borkent 1981], cette dernière ne se retrouve guère dans les lacs peu profonds de type marécageux [von Ende 1979]. Or, Hare et Tessier (1997) ont constaté que le pouvoir prédictif de leur modèle n'était réduit que de 4% lorsque les espèces *punctipennis*, *albatus* et *flavicans* étaient considérées simultanément dans le modèle de prédiction. Avant de statuer sur l'applicabilité du modèle au genre, ces tendances devraient toutefois être vérifiées avec les espèces

americanus et *trivittatus* puisque leur présence a déjà été relevée dans certains plans d'eau de l'est de l'Amérique [Carter et al. 1980]. Les travaux notamment de von Ende (1979) et de Pope et al. (1973) ont en effet montré que généralement plus d'une population de *Chaoborus* coexistaient dans un lac donné. Dans l'éventualité où un lac abriterait plus d'une population, l'échantillonnage de larves de l'espèce *punctipennis* conduirait nécessairement à la capture d'individu d'autre(s) espèce(s). Dans le cadre de mon projet, cette récolte prévisible de larves n'appartenant pas à l'espèce *punctipennis* permettra de vérifier la «robustesse» du modèle de prédiction en l'appliquant au genre *Chaoborus* plutôt qu'à l'espèce *punctipennis*.

4. RÉGIONS D'ÉTUDE

La vérification des hypothèses présentées à la section 3 a nécessité l'échantillonnage de neuf lacs hautement acides et fortement contaminés en métaux des régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda. Bien que localisé à moins de 100 km des cheminées de la fonderie INCO à Sudbury, un des lacs échantillonnés (i.e., lac Terry) est situé plus précisément dans le secteur du parc Killarney.

La sélection des lacs s'est effectuée sur la base de leur proximité d'une source d'émission de métaux, de leur très faible pH (i.e., $\text{pH} < 5.5$), de leur accessibilité en véhicule et de la présence de larves de l'insecte *C. punctipennis*. La position géographique des sites d'études est présentée à la section 8.



5. MÉTHODES

Les larves de l'insecte *Chaoborus* ont été récoltées après la tombée de la nuit avec un filet à plancton de 250 μm . Les organismes furent identifiés à l'espèce la nuit même et mis à dépurier pour une période de 24 heures. De 10 à 15 individus appartenant au quatrième stade larvaire de chaque espèce furent par la suite déposés sur une pièce de Téflon, préalablement nettoyée à l'acide nitrique 15% et pré-pesée sur une microbalance. La pièce de Téflon était par la suite insérée dans un tube à centrifugation (nettoyé à l'acide nitrique 15%) et l'échantillon était conservé à $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment des analyses (i.e., digestion et dosage des métaux).

Les échantillons d'eau furent récoltés au moyen de dialyseurs disposés pendant trois jours à un mètre du fond dans l'épilimnion des lacs. Le pH des lacs fut mesuré à deux reprises à la profondeur des dialyseurs à l'aide d'un pH-mètre portatif.

Une description détaillée des manipulations effectuées tant lors de la récolte des larves d'insecte, des échantillons d'eau que lors des analyses chimiques est présentée à la section 8.

La spéciation des métaux a été déterminée à l'aide du logiciel WHAM (Windermere humic aqueous model: [Tipping, 1994]). Ce modèle a été préféré aux autres programmes de spéciation puisqu'il permet de prendre en considération l'effet complexant de la matière organique (i.e., substances humiques). Hare et Tessier (1996) ont d'ailleurs bien mis en évidence l'effet de la matière organique sur la biodisponibilité du Cd. Ces derniers ont en effet démontré que la qualité des prédictions réduisait de 20% lorsque l'effet complexant de la matière organique était ignorée, i.e., lorsque les concentrations de Cd^{2+} étaient estimées à partir du programme HYDRAQL. Cependant, en raison des hypothèses de départ qu'ils faut poser avant d'utiliser le modèle WHAM, certaines incertitudes entourent les valeurs des concentrations de M^{z+} obtenues. Hare et Tessier (1996) ont toutefois démontré que la plupart des simplifications effectuées en regard aux hypothèses de départ n'affectaient que de façon minimale les concentrations en ion libre des métaux. Ces simplifications modifiaient de façon

encore plus négligeable les valeurs des paramètres ajustables des différents modèles de prédiction.

6. RÉSULTATS ET DISCUSSION

6.1 Vérification des hypothèses

Malgré les fortes concentrations en Cd libre retrouvées dans certains lacs acides, les larves de l'insecte *Chaoborus punctipennis* ont accumulé de faibles quantités de Cd ([Croteau et al. 1997]: Figure 1a), ce qui confirme la tendance selon laquelle *C. punctipennis* accumulerait moins de Cd dans les lacs hautement acides et contaminés.

En combinant les résultats obtenus lors de mon projet à ceux de Hare et Tessier (1996), il a été possible de montrer que l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* est peu influencée par la présence d'autres métaux traces (i.e., Cu, Zn et Ni) ([Croteau et al. 1997]: Figure 1c et 1d) ou de cations majeurs (i.e., Ca). Ces résultats permettent de décrire de façon simple et adéquate ($r^2=0.78$) l'accumulation de Cd par *C. punctipennis* en se fondant sur le modèle théorique de l'ion libre et en ne tenant compte que de la compétition entre H^+ et Cd^{2+} ([Croteau et al. 1997]: Figure 1b).

Puisque l'échantillonnage des larves de l'insecte *C. punctipennis* a conduit à la récolte de larves appartenant aux espèces *americanus*, *flavicans* et *albatus* ([Croteau et al. 1997]: Tableau 2), il a été possible de montrer que le pouvoir prédictif du modèle ne réduisait que de 8% lorsque ce dernier était appliqué au genre *Chaoborus* plutôt qu'à l'espèce *punctipennis* ([Croteau et al. 1997]: Figure 2). Ces résultats viennent appuyer et confirmer ceux obtenus par Hare et Tessier (1997). Ainsi, omettre le travail d'identification à l'espèce des larves de l'insecte *Chaoborus* conduit à une légère perte de précision sur les prédictions de l'accumulation de Cd par ce diptère.

6.2 Utilisation de *C. punctipennis* comme organisme sentinelle

Tel que démontré par Hare et Tessier (1997), la conséquence pratique importante de ces travaux réside dans le fait que les gestionnaires du secteur de l'environnement peuvent maintenant utiliser *Chaoborus* comme genre indicateur du niveau de contamination en Cd des

lacs. Le gestionnaire intéressé à connaître le niveau de contamination en Cd d'un lac devra pour ce faire, s'assurer d'abord de la présence de *Chaoborus* en récoltant soit un échantillon de sédiment durant le jour ou attendre à la nuit tombée pour effectuer un trait de filet à plancton. Une fois cette vérification effectuée, il s'agira de mesurer le pH du lac et d'échantillonner une cinquantaine de larves. Pour plus de précision dans l'évaluation, le gestionnaire devra identifier les larves à l'espèce pour ensuite les laisser dépurer de leur contenu digestif (≈ 24 heures). Après quoi, le gestionnaire devra constituer environ cinq échantillons d'une dizaine de larves. Tel que décrit par Croteau et al. (1997), les larves devront être déposées sur une pièce de Téflon préalablement nettoyée avec de l'acide nitrique 15% et pré-pesée. Ces échantillons devront être conservés à -4 °C jusqu'au moment de leur séchage (i.e., lyophilisation). Après quoi, ces échantillons seront pesés de nouveau et digérés (i.e., à l'autoclave) avec de l'acide nitrique de grade environnemental (i.e., approximativement 100 μ L par mg de tissu). La concentration en Cd des organismes pourra être déterminée par absorption atomique.

Une fois la concentration en Cd déterminée dans *Chaoborus*, le gestionnaire pourra alors calculer la valeur de la concentration de l'ion libre du Cd du lac (i.e., $[Cd^{2+}]$). Pour ce faire, il s'agira d'utiliser l'équation de prédiction proposée par Hare et Tessier (Eqn. 12) en y intégrant la valeur de pH mesuré au moment de l'échantillonnage et les valeurs les plus récentes des constantes K_a et F obtenues pour l'espèce *punctipennis* [Croteau et al. 1997]. En se basant sur les données de toxicité tirées de la littérature de même que sur les critères établis pour la qualité des eaux, le gestionnaire sera alors en mesure de statuer sur l'état de contamination en Cd du plan d'eau étudié et appréhender dans certains cas, les risques d'effets biologiques. *Chaoborus* étant relativement insensible aux métaux (i.e., bioindicateur de la biodisponibilité des métaux), le gestionnaire devra rechercher des manifestations d'effets toxiques chez d'autres organismes davantage sensibles aux métaux (i.e., bioindicateurs d'effets toxiques).

Il importe pour terminer de mentionner que Wright et Welbourn (1994) ont rapporté que la norme canadienne en matière de protection des écosystèmes d'eau douce (1.78 nM de Cd total dissous) serait possiblement trop élevée. Des expériences d'exposition à long terme menées *in situ* de même que des tests de toxicité chronique ont en effet montré que des effets toxiques survenaient chez des invertébrés d'eau douce exposés à cette concentration.

6.3 Perspectives de recherche

Puisque la nourriture constitue la principale voie d'entrée du Cd chez *Chaoborus* [Munger and Hare 1997], le phénomène de compétition entre le Cd et les protons devrait en réalité s'effectuer non pas sur le prédateur mais à un (ou des) échelon(s) trophique(s) inférieur(s), i.e., les proies. Par conséquent, les concentrations de Cd dans les proies de *Chaoborus* devraient être directement reliées aux concentrations de Cd libre dans le milieu. Ainsi, en considérant la composition des communautés planctoniques dans le modèle, il serait (en principe) possible d'en accroître le pouvoir prédictif. Également, en intégrant la composante planctonique dans le modèle de prédiction, il serait de plus possible d'étendre l'applicabilité de ce modèle aux lacs présentant des profils physico-chimiques plutôt «atypiques» (i.e., lac Turcotte: [Croteau et al. 1997]).

Les facteurs et les mécanismes influençant la prise en charge du Cd chez *Chaoborus* mériteraient également d'être étudiés davantage. Des informations telles, les concentrations de métal dans les différents types de proie, l'efficacité d'assimilation de même que les taux de consommation de ces proies par *Chaoborus* permettraient sans doute d'expliquer les différences rencontrées dans les concentrations de Cd observées chez *Chaoborus* entre les différents stades larvaires, entre les saisons, entre les lacs et même entre les différentes espèces du genre.

Enfin, puisque les larves de l'insecte *Chaoborus* semblent en mesure de réguler leurs concentrations en cuivre et en zinc, deux métaux essentiels ([Croteau et al. 1997]: Figure 3), il importe de poursuivre les recherches visant l'identification d'un organisme capable de

«bioindiquer» efficacement le niveau de contamination en Cu et en Zn des systèmes lacustres.

Le mégaloptère *Sialis* fait d'ailleurs présentement l'objet de pareilles recherches.

7. BIBLIOGRAPHIE

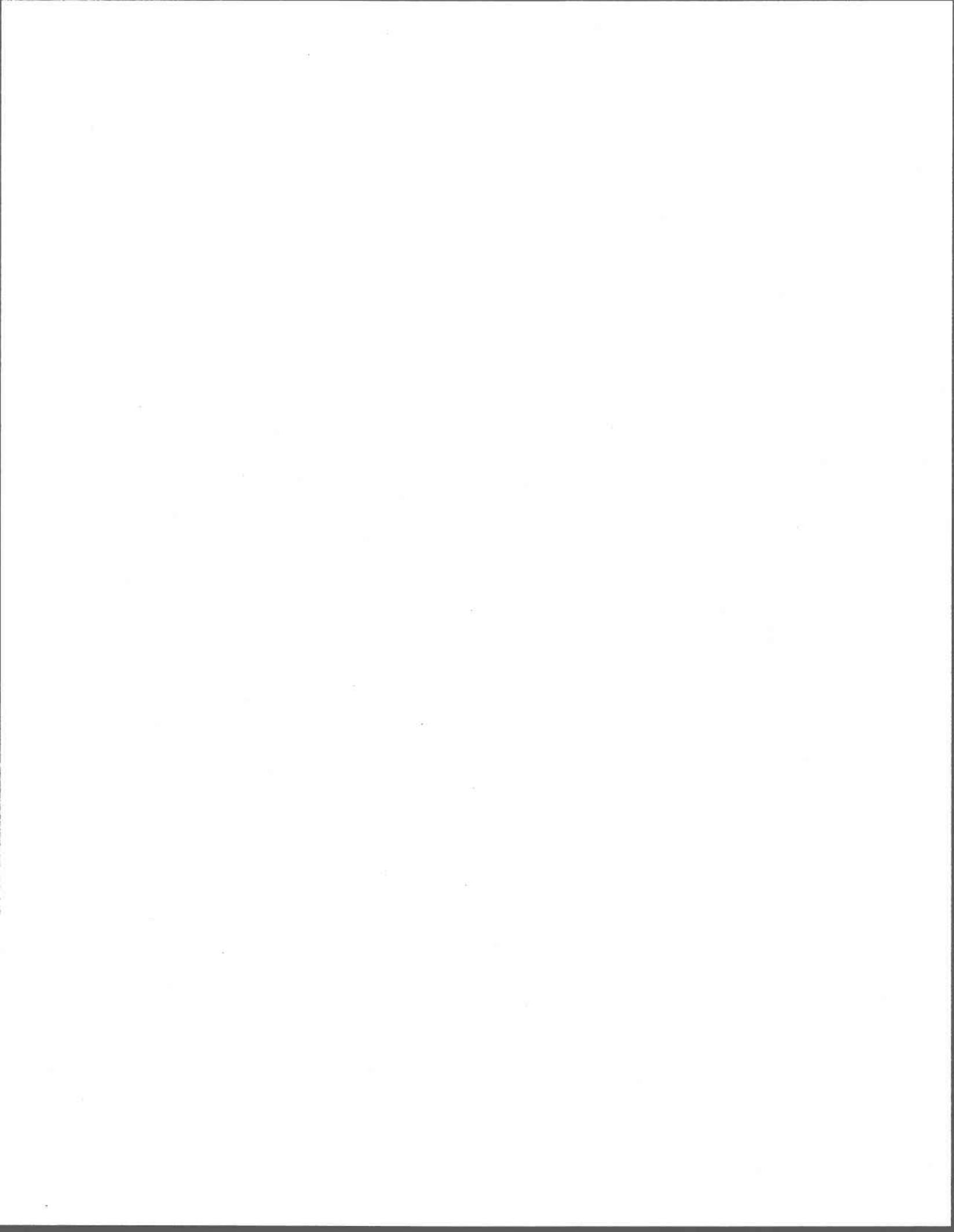
- Anderson, R.L., C.T. Walbridge & J.T. Fiantt (1980). Survival and growth of *Tanytarsus dissimilis* (Chironomidae) exposed to copper, cadmium, zinc and lead. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 9: 329-335.
- Bartlett, L., F.W. Rabe & W.H. Funk (1974). Effects of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornutum*. *Wat. Res.*, 8: 179-185.
- Bewers, J.M., P.J. Barry & D.J. MacGregor (1987). Distribution and cycling of cadmium in the environment. In *Cadmium in the aquatic environment*. J.O. Nriagu & J.B. Sprague [Eds.], Wiley, New York, pp 1-18.
- Borgmann, U. (1983). Metal speciation and toxicity of free metal ions to aquatic biota. In *Aquatic Toxicology*. J.O. Nriagu [Ed.], Wiley, New York, pp 47-72.
- Borkent, A. (1981). The distribution and habitat preferences of the Chaoboridae (Culicomorpha: Diptera) of the Holarctic region. *Can. J. Zool.*, 59: 122-133.
- Campbell, P.G.C. (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 45-102.
- Campbell, P.G.C. & P.M. Stokes (1985). Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 2034-2049.
- Carter, J.C.H., M.J. Dadswell, J.C. Roff & W.G. Sprules (1980). Distribution and zoogeography of planktonic crustaceans and dipterans in glaciated eastern North America. *Can. J. Zool.*, 58: 1355-1387.
- Conroy, N., K. Hawley, W. Keller & C. Lafrance (1975). Influences of the atmosphere on lakes in the Sudbury area. Proc. First Spec. Symp. Atmos. Contrib. Chem. Lake Waters. *J. Int. Assoc. Great Lakes Res.*, 2: 146-165.
- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier (1997). Testing and refining a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes *Environ. Sci. Technol.* (soumis)
- Cusimano, R.F., D.F. Brakke & G.A. Chapman (1986). Effects of pH on the toxicities of cadmium, copper, and zinc to Steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 1497-1503.
- Engel, D.W. & G. Roesijadi (1987). Metallothioneins: a monitoring tool. In *Pollution physiology of estuarine organisms*. Vernberg, W.B., Calabrese, A., Thurberg, F.P. & F.J. Vernberg [Eds], Univ. South Carolina Press. Belle W. Baruch Libr. Mar. Sci. No.17: 421-438.
- Environnement Canada (1991). *L'état de l'environnement au Canada*. Cat. No. EN-21-54/1991F, pp 11.1-11.28.
- Gerhardt, A. (1990). Effects of subacute doses of cadmium on pH-stressed *Leptophlebia marginata* (L.) and *Baetis rhodani* Pictet (Insecta: Ephemeroptera). *Environ. Pollut.*, 67: 29-42.

- Hare, L. (1992). Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.*, 22(5/6): 327-369.
- Hare, L., Carignan, R. & M.A. Huerta-Diaz (1994). A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertebrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1653-1668.
- Hare, L. & A. Tessier (1996). Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature*, 380: 430-432.
- Hare, L. & A. Tessier (1997). Predicting trace metal concentrations in an aquatic insect with the free-ion activity model. *Limnol. Oceanogr.*, (soumis)
- Hinkle, P.M., P.A. Kinsella & K.C. Osterhoudt (1987). Cadmium uptake and toxicity via voltage-sensitive calcium channels. *J. Biol. Chem.*, 262: 16333-16337.
- Hopkins, S.P. (1989a). Metals in terrestrial invertebrates at the cellular level. In *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Science, London, pp. 217-280.
- Hopkins, S.P. (1989b). Invertebrates as indicators and monitors of metal pollution in terrestrial ecosystems. In *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Science, London, pp. 199-216.
- Jackson, T. A. (1988). The mercury problem in recently formed reservoirs of northern Manitoba (Canada): Effects of impoundment and other factors on the production of methyl mercury by microorganisms in sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 97-121.
- Keller, W. (1992). Introduction and overview to aquatic acidification studies in the Sudbury Ontario, Canada, area. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49 (Suppl. 1): 3-7.
- Keller, W., J.R. Pitblado & J. Carbone (1992). Chemical responses of acidic lakes in the Sudbury, Ontario, area to reduced smelter emissions, 1981-89. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49(Suppl. 1): 25-32.
- Kosalwat, P. & A.W. Knight (1987a). Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge *Chironomus decorus*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 16: 283-290.
- Kosalwat, P. & A.W. Knight (1987b). Acute toxicity of aqueous and substrate-bound copper to the midge, *Chironomus decorus*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 16: 275-282.
- Langston, W.J. & S.K. Spence (1995). Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 407-478.
- Lazerte, B., D. Evans & P. Grauds (1989). Deposition and transport of trace metals in an acidified catchment of central Ontario. *Sci. Total Environ.*, 87/88: 209-221.
- Luoma, S.N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms: a review. *Sci. Total Environ.*, 28: 1-22.

- Luoma, S.N. & G.W. Bryan (1982). A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Nereis diversicolor*. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.*, 15: 95-108.
- Malley, D.F. (1996). Cadmium whole-lake experiment at the Experimental Lakes Area: an anachronism? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1862-1870.
- Moore, M.V. (1988). Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. *Fresh. Biol.*, 19: 249-268. .
- Moore, M.V., Yan, N.D. & T. Pawson (1994). Omnivory of the larval phantom midge (*Chaoborus* spp.) and its potential significance for freshwater planktonic food webs. *Can. J. Zool.*, 72: 2055-2065.
- Morel, F.M.M. (1983). *Principles of aquatic chemistry*. John Wiley & Sons. New York, 446p.
- Munger, C. & L. Hare (1997). Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): implications for predicting cadmium bioaccumulation in nature. *Environ. Sci. Technol.*, 31(3): 891-895.
- Nriagu, J.O. & J.M. Pacyna (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333: 134-139.
- Peterson, H.G., F.P. Healy & R. Wagemann (1984). Metal toxicity to algae: a highly pH dependent phenomenon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 974-979.
- Phillips, D.J.H. & P.S. Rainbow (1993). The early use of biomonitors. In *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*. J. Cairns & R.M. Harrison [Eds.], Elsevier Applied Science, London, pp 65-78.
- Phinney, J.T. & K.W. Bruland (1994). Uptake of lipophilic organic Cu, Cd and Pb complexes in the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1781-1790.
- Playle, R.C., D.G. Dixon & K. Burnison (1993). Copper and cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon and synthetic ligands. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 2667-2677.
- Pope, G.F., J.C.H. Carter & G. Power (1973). The influence of fish on the distribution of *Chaoborus* spp. (Diptera) and density of larvae in the Matamek River system, Québec. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 102(4): 707-714.0
- Schulz-Baldes, M. (1977). Lead transport in the common mussel *Mytilus edulis*. *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environ.* NRCC, pp.211-218.
- Saether, O.A. (1972). In *Das Zooplankton der Binnengewässer*; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung: Stuttgart, Germany, pp 257-304.
- Sigg, L. (1994). Regulation of trace element in lakes: the role of sedimentation. In *Chemical and biological regulation of aquatic ecosystems*. Buffle, J. & R.R. DeVitre [Eds.], Lewis, Chelsea, pp 175-195.

- Sigg, L. (1994). Regulation of trace element in lakes: the role of sedimentation. In *Chemical and biological regulation of aquatic ecosystems*. Buffle, J. & R.R. DeVitre [Eds], Lewis, Chelsea, pp 175-195.
- Simkiss, K. & M.G. Taylor (1989). Metal fluxes across the membranes of aquatic organisms. *Crit. Rev. Aquat. Sci.*, 1: 173-188.
- Simkiss, K. & M.G. Taylor (1995). Transport of metals across membranes. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 1-44.
- Stephenson M. & G.L. Mackie (1989). A laboratory study of the effects of waterborne cadmium, calcium, and carbonate cocentrations on cadmium concentrations in *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda). *Aquat. Toxicol.*, 15: 53-62.
- Sunda, W.G., D.W. Engel & R.M. Thuotte (1978). Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: Importance of free cadmium ion. *Environ. Sci. Technol.*, 12: 409-413.
- Tessier, A., J. Buffle & P.G.C. Campbell (1993a). Uptake of trace metals by aquatic organisms. In *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. Buffle, J. & R.R. DeVitre [Eds.], Lewis, Chelsea, pp. 199-232.
- Tessier, A., Y. Couillard, P.G.C. Campbell & J.C. Auclair (1993b). Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 1-17.
- Tipping, E. (1994). WHAM-A chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Comp. Geosci.*, 20: 973-1023.
- von Ende, C.N. (1979). Fish predation, interspecific predation, and the distribution of two *Chaoborus* species. *Ecology*, 60(1): 119-128.
- Weisberg, S. (1985). Model building II: collinearity and variable selection. In *Applied Linear Regression*. John Wiley & Sons, New York, pp 196-225.
- Williams, R.J.P. (1981). Physico-chemical aspects of inorganic element transfer through membranes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 294: 57-74.
- Williams, K.A., D.W.J. Green, D. Pascoe & D.E. Gower (1987). Effect of cadmium on oviposition and egg viability in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38: 86-90.
- Winner, R.W. & J.D. Gauss (1986). Relationship between chronic toxicity and bioaccumultaion of copper, cadmium and zinc as affected by water hardness and humic acid. *Aquat. Toxicol.*, 8: 149-161.
- Winterhalder, K. (1995). Early history of human activities in the Sudbury area and ecological damage to the landscape. In *Restoration and Recovery of an Industrial Region*. J.M. Gunn [Ed.], Springer-Verlag, New York, pp 17-31.

- Wong, P.T.S. (1987). Toxicity of cadmium to freshwater microorganisms, phytoplankton, and invertebrates. In *Cadmium in the aquatic environment*. J.O. Nriagu & J.B. Sprague [Eds.], Wiley, New York, pp 117-138.
- Wright, D.A. (1977). The effect of calcium on cadmium uptake by the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.*, 67: 163-173.
- Wright, D.A. & P.M. Welbourn (1994). Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological, and toxicological effects on biota. *Environ. Rev.*, 2: 187-214.
- Xue, H.-B. & L. Sigg (1990). Binding of Cu(II) to algae in a metal buffer. *Wat. Res.*, 24(9): 1129-1136.
- Yan, N.D., G.L. Mackie & P.J. Dillon (1990). Cadmium concentrations of crustacean zooplankton of acidified and nonacidified Canadian shield lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 1367-1372.



8. ARTICLE

Amélioration et validation du bioindicateur de métaux traces (*Chaoborus*) dans les lacs hautement acides

Marie-Noële Croteau, Landis Hare* & André Tessier

Institut National de la Recherche Scientifique-Eau (INRS-EAU),
Université du Québec, C.P. 7500, Sainte-Foy,
Québec, Canada G1V 4C7

* Auteur à qui la correspondance devrait être adressée; téléphone: (418) 654-2640; fax: (418) 654-2600; courrier électronique: landis@inrs-eau.uquebec.ca.

RÉSUMÉ DE L'ARTICLE

Peu de modèles basés sur des principes théoriques ont été développés afin de relier les concentrations de métal dans l'environnement aquatique à celle retrouvées dans les organismes proposés comme bioindicateurs. Dans la présente étude, nous testons l'efficacité des larves de l'insecte *C. punctipennis* comme espèce indicatrice du niveau de contamination en Cd des lacs. L'accumulation de Cd par ces larves d'insecte semble en effet être raisonnablement bien prédite par les concentrations de Cd libre dans le milieu et ce, en se basant sur le modèle théorique de l'ion libre et en prenant en considération la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites d'absorption biologique.

Nous avons échantillonné une dizaine de lacs provenant de régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda. Ces lacs présentaient des concentrations élevées en Cu et en Zn des cations pouvant potentiellement compétitionner avec les ions Cd^{2+} et H^+ pour les sites d'absorption biologique.

Tel que prévu, un pareil effet de compétition semble se produire dans ces lacs hautement contaminés. Les larves de l'insecte *Chaoborus* accumulent en effet de faibles quantités de Cd et ce, malgré de fortes concentrations en ions libres de Cd. Nous avons toutefois démontré que l'accumulation de Cd chez cette larve d'insecte n'était pas significativement influencée par la présence d'autres métaux traces (Cu, Zn, Ni) ou de cations majeurs (Ca). Nous avons de plus démontré qu'omettre le travail nécessaire à l'identification à l'espèce des larves du genre *Chaoborus* ne réduisait que faiblement le pouvoir prédictif du modèle. Bien que les larves de l'insecte *Chaoborus* présentent le potentiel pour «bioindiquer» efficacement les concentrations en Cd dans les systèmes lacustres, ces dernières semblent réguler leurs concentrations en cuivre et en zinc de sorte que *Chaoborus* ne pourrait être un bioindicateur valable pour ces métaux essentiels.

1 **Refining and Testing a Trace Metal Biomonitor (*Chaoborus*) in Highly Acidic Lakes**

2 **Marie-Noële Croteau, Landis Hare* & André Tessier**

3 Institut National de la Recherche Scientifique-Eau (INRS-EAU),

4 Université du Québec, C.P. 7500, Sainte-Foy,

5 Québec, Canada G1V 4C7

6 *Author to whom correspondence should be addressed; telephone: (418) 654-2640; fax:

7 (418) 654-2600; e-mail address: landis@inrs-eau.quebec.ca

1 **Abstract**

2 Few theoretically-based models have been developed to relate trace metal concentrations
3 in the aquatic environment to those in organisms designated for use as metal
4 biomonitors. We test the efficacy of a recently proposed biomonitor, the insect
5 *Chaoborus*, for predicting free cadmium ion concentrations, $[Cd^{2+}]$, in lakes. In many
6 highly-acidic metal-contaminated lakes, cations such as H^+ , Cu^{2+} , Ni^{2+} , and Zn^{2+} can
7 be present in high concentrations and compete with Cd^{2+} for biological uptake sites. As
8 a result of such competition, Cd concentrations in the biomonitor are depressed in highly
9 acidic lakes in spite of the high $[Cd^{2+}]$ they possess. We show that to effectively relate
10 Cd concentrations in the biomonitor to those in its environment, a term should be
11 included in the proposed rational model to account for Cd^{2+} - H^+ competition at
12 biological uptake sites. In contrast, because the competitive effects of other metal ions
13 such as Cu^{2+} , Ni^{2+} , and Zn^{2+} are small, no additional terms are warranted for these
14 metals. We also show that pooling species of *Chaoborus* does little to reduce the
15 accuracy of model predictions. In contrast to Cd, *Chaoborus* would not be a good
16 biomonitor for Cu or Zn because the concentrations of these essential metals appear to be
17 regulated by larvae.

1 **Introduction**

2 Mining and other industrial activities have increased the fluxes of many trace metals to
3 aquatic ecosystems (1, 2). Effective means of assessing the concentrations and the
4 biological impact of these potentially toxic pollutants are required. Although trace metals
5 can be monitored by the collection and analysis of water or sediment alone, such
6 measurements are of limited use in the absence of a reliable means of relating them to
7 metal concentrations in, or effects on, aquatic organisms (3). Models are needed that will
8 permit us to relate metal concentrations in the aquatic environment to those in organisms
9 chosen as metal biomonitors.

10 A good biomonitor should accumulate contaminants without suffering toxic effects, be
11 easy to collect, be widespread and abundant, tolerate a wide range of chemical
12 conditions, and provide sufficient tissue for metal analysis. Thus a good biomonitor
13 should be highly tolerant to a contaminant, as opposed to a bioindicator whose sensitivity
14 to a contaminant allows the detection of toxic effects (3). In fresh water, large bivalve
15 mollusks have been used as biomonitors (4, 5). However, bivalves are absent from lakes
16 of pH below about 6 and their metal concentrations could be subject to the confounding
17 influence of a reproductive cycle (6). The phantom midge *Chaoborus* has recently been
18 proposed as an alternative biomonitor (7). Larvae of this insect occur over a wide range
19 of chemical conditions (e.g., pH, ionic strength), are abundant and widely distributed in
20 lakes throughout North America (8, 9), are easy to collect and identify, are able to

1 accumulate and tolerate high concentrations of trace metals (7, 10), and are not involved
2 in reproduction.

3 The most important feature of an effective monitor for bioavailable metal is that a simple
4 relationship should exist between its trace metal content and the concentration of the
5 contaminant in its environment (3). Ideally, such a relationship should not be purely
6 empirical. Use of a biomonitor is more likely to be reliable if the model relating
7 organism and environmental metal concentrations is rational, that is, founded on
8 biological and chemical principles.

9 Few rational models are available that relate metal concentrations in the environment to
10 those in a biomonitor. A notable exception is the model tested in a recent study designed
11 to relate Cd concentrations in the insect *Chaoborus* to Cd concentrations in the
12 epilimnion of lakes (7). The main conclusion of this earlier study was that the activity of
13 the free Cd ion, Cd^{2+} , predicts Cd concentrations in the insect, provided that the
14 influence of other ions competing for biological uptake sites is taken into account (7).
15 However, there was some doubt as to the identity of the major competing ion. On the
16 basis of precedents in the literature, hydrogen ions, H^+ , were assumed to be a more
17 important competitor with free cadmium ions, Cd^{2+} , at biological uptake sites than were
18 free copper ions, Cu^{2+} (11). Doubt about the chemical species responsible for the
19 competition was probably due to the fact that only three highly acidic lakes were studied.
20 Because these highly acidic lakes were all influenced by the same trace metal and

1 hydrogen ion source, there were strong correlations among $[H^+]$, $[Cu^{2+}]$, and $[Cd^{2+}]$
2 (11). Additional data are required if we are to resolve the ambiguity in the *Chaoborus*-
3 Cd model and thereby improve its rational footing.

4 To reduce the correlations between potential competitors for Cd uptake sites, we sampled
5 water and *Chaoborus* larvae from nine highly acidic lakes in two geographical areas
6 (Sudbury, Ontario and Rouyn-Noranda, Quebec). The lakes chosen in these areas are all
7 influenced by metal smelters but emissions from these smelters vary in their trace metal
8 and sulfurous oxide composition. With this additional data set our intent is to determine
9 whether H^+ or Cu^{2+} or Zn^{2+} ions should be included in the rational model to relate Cd
10 concentrations in water from those in the biomonitor *Chaoborus*.

11 Study Areas

12 Water samples and insect larvae were collected between May 27th and June 13th 1996
13 from nine acidic lakes (pH 4.30 to 5.36) located on the Precambrian Shield in the mining
14 areas of Sudbury (Ontario) and Rouyn-Noranda (Québec) (Table 1). Cadmium
15 concentrations measured in early spring *C. punctipennis* larvae are likely to be
16 representative of those collected during the winter months as well (12). Lakes were
17 selected on the basis of their low pH, their expected high concentrations of trace metals
18 (Table 2) and the presence of the phantom midge *Chaoborus punctipennis* (Diptera,
19 Insecta). All of the lakes have been subject to inputs of acidic and trace metal rich
20 materials from nearby Ni and Cu (Sudbury; 2, 13) or Cu, Pb and Zn (Rouyn-Noranda;

1 14) mining and smelting operations. One of the lakes in the Rouyn-Noranda region,
2 Lake Turcotte, was chosen to be representative of systems impacted by direct
3 anthropogenic manipulations, including liming and the dumping of mining residues.

4 **Methods**

5 To minimize inadvertent trace metal contamination, labware and water-sampling
6 materials were soaked in 15% nitric acid and rinsed in ultrapure water (Milli Q system
7 water; > 18 Megohms cm^{-1}) prior to use. Water samples were collected in the
8 epilimnion using *in situ* diffusion samplers (216 x 72 x 12 mm; Gelman HT-200
9 membrane) similar to those described by Carignan *et al.* (15). Samplers (8 compartments
10 per sampler; 4 mL volume each) were filled with ultrapure water and sealed individually
11 in clean plastic bags prior to placement in the lakes. Three diffusion samplers were
12 suspended 1 m above the bottom in the epilimnion of each lake. After a 3 d equilibration
13 period (Tessier and De Vitre, unpublished), the peepers were retrieved and sampled
14 immediately.

15 Samples (1 mL) for organic and inorganic carbon determinations were removed with a
16 syringe from 1 compartment in each peeper and injected through a septum into pre-
17 evacuated and prewashed glass tubes. From the same compartment, a sample (1.5 mL)
18 for dissolved SO_4 and Cl analyses was collected with a plastic-tipped pipette and injected
19 into prewashed microcentrifuge tubes (1.5 mL; high density polyethylene HDPE).
20 Samples for trace metal (Cd, Cu, Zn) and major cation (Ca, Mg, Na, K) analysis were

1 removed from the seven remaining compartments in each peeper by piercing the peeper
2 membrane with a pipette fitted with an acid-cleaned tip. These samples were injected
3 into prewashed and preacidified (53 μ l of 1.35 N Anachemia HNO₃) HDPE bottles (4
4 mL capacity). One of these samples was used for dissolved Ca, Mg, Na and K analyses;
5 the remaining six were kept for trace metal analysis. On two different days, pH was
6 measured with a portable pH meter (Hanna instruments, Micro processor model
7 HI9024/HI9025) in water collected at the depth of the peepers using a Van Dorn
8 sampler.

9 Insect larvae were collected after sunset by hauling a 250 μ m plankton net horizontally in
10 the water column of each lake until a sufficient number of *Chaoborus* was obtained.
11 Insects were maintained at the field temperature and transported to the laboratory in
12 plastic bags filled with lake water. In the laboratory, *Chaoborus* larvae were sorted
13 according to species (16) and left for 12-24 h in 1 L HDPE bottles filled with 64 μ m-
14 filtered lake water to eliminate their gut contents. Where numbers permitted, five
15 replicate samples of 10 to 15 similar-sized fourth instar larvae of each species were
16 placed on acid-washed, preweighed Teflon pieces in acid-washed microcentrifuge tubes
17 and frozen at -4 °C until analysis.

18 **Analyses**

19 Total dissolved metal concentrations were measured by flameless atomic-absorption
20 spectrophotometry (AAS) (Varian model Spectra AA-30, graphite furnace Varian model

1 GTA-96 for Zn; THGA graphite tube atomizer, Perkin Elmer model Simaa 6000 for Cd
2 and Cu; metal analyses were performed on separate water samples collected from 2
3 compartments in each of the three peepers). Certified reference water samples (Riverine
4 water reference material 1643d, NRCC) were also analyzed for metals during each
5 analytical run and measured trace metal concentrations were within the certified range
6 for each element. Major cation concentrations were measured by flame AAS (Varian
7 model Spectra AA-20). Concentrations of SO₄ and Cl were measured by ion
8 chromatography (Dionex AutoIon, system DX300). Dissolved inorganic carbon
9 concentrations were obtained by gas chromatography (Hewlett Packard GC 5890 Series
10 2) and dissolved organic carbon concentrations with a Technicon Auto-Analyzer by
11 persulfate-UV oxidation, followed by conductometric determination of the CO₂ released.
12 The Windermere Humic Aqueous Model (WHAM 1.0, 17) was used to calculate trace
13 metal ion activities. Concentrations of fulvic and humic acids required as input data to
14 the WHAM computer code were estimated from our measurements of dissolved organic
15 carbon ([C_{org}]) by assuming that: humic substances contain 50% carbon (18); the ratio of
16 humic to fulvic acids is 1:9 (19); and all dissolved organic carbon is present as humic
17 substances.

18 Frozen *Chaoborus* larvae were dried in a lyophilizer. Dried samples were weighed on
19 their Teflon piece with a Mettler ME30 electronic micro-balance and digested in a
20 Teflon vial with concentrated nitric acid (Aristar; approx. 100 µL mg⁻¹ tissue) in an
21 autoclave at 250 °F for 3 hours. Certified reference material (lobster hepatopancreas,

1 TORT-1, NRCC) was submitted to the same digestion procedure during each analytical
2 run. Trace metal concentrations measured in TORT-1 were within the certified range for
3 each element. After dilution, cadmium, copper and zinc concentrations were analyzed by
4 flameless AAS (Varian Spectra AA-30). Minimum Cd values in larvae ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) greatly
5 exceeded those in procedural blanks ($0.01 \mu\text{g L}^{-1}$).

6 Results and Discussion

7 The free ion activity model, as presented in Table 3, postulates that the concentration of
8 metal taken up by an organism is proportional to the concentration of the free ionic form
9 of the metal to which it is exposed, i.e., $[\text{M}^{z+}]$. However, Hare and Tessier (7) reported
10 that Cd concentrations in the insect *Chaoborus punctipennis*, $[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}$, were not
11 significantly related ($p > 0.1$) to free Cd ion concentrations in lake water. The lack of a
12 correlation between $[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}$ and $[\text{Cd}^{2+}]$ was ascribed to the influence of a few
13 highly acidic lakes ($\text{pH} < 5.5$) in which $[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}$ were low ($< 4 \mu\text{g g}^{-1}$) and $[\text{Cd}^{2+}]$
14 were high compared to less acidic lakes (7). Data from the large number of highly acidic
15 lakes sampled in the present study (Table 2), confirm the trend towards low Cd
16 bioaccumulation ($< 4 \mu\text{g g}^{-1}$) in lakes of low pH (< 5.5). Reduced Cd bioaccumulation
17 in acidic lakes has been reported for several other types of organisms including algae
18 (20) and crustaceans (21).

19 Reduced Cd accumulation in *C. punctipennis* larvae from highly acidic lakes was
20 ascribed to competition between Cd^{2+} and H^+ for biological uptake sites (7). By taking

1 this competitive effect into account (Eqn. 7 in Table 3), Cd concentrations in the insect
2 were reliably predicted from free Cd and H ion concentrations in lakes (7). However,
3 the pivotal role of the hydrogen ion is questionable because H⁺ concentrations were
4 strongly correlated with those of other cations (Table 4) that could also act as
5 competitors for Cd uptake sites. Because of these strong correlations, Cd concentrations
6 in *C. punctipennis* can be explained equally well by using Cu²⁺ ($r^2 = 0.92$, $p < 0.001$),
7 rather than H⁺ ($r^2 = 0.86$, $p < 0.001$), as a competitor for biological uptake sites (Eqn.
8 8 in Table 3). The strong correlations among H⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ and Ni²⁺ in the Hare and
9 Tessier (7, 11) data set can be ascribed to the fact that the small number of highly acidic
10 lakes they sampled are equidistant from the same anthropogenic source of metals and
11 sulfurous oxides (Table 2). By adding to their data set values from highly acidic lakes in
12 mining regions differing in their H⁺ and trace metal concentrations, we weakened the
13 correlations among potential competitors for Cd uptake sites (Table 4). The combined
14 data set should allow us to determine whether H⁺ or metal ions such as Cu²⁺ or Zn²⁺
15 are the major competitors with Cd for biological uptake sites.

16 Considering the pooled data set, Cd concentrations in *C. punctipennis* larvae are not
17 significantly related to free Cd ion concentrations ($p = 0.65$; Fig. 1A) unless highly
18 acidic lakes are ignored ($p < 0.001$, $r^2 = 0.92$, regression not shown). If we presume
19 that H⁺ is the major competitor for Cd at biological uptake sites (Eqn. 7 in Table 3), and
20 if we ignore the manipulated lake in our data set (Lake Turcotte), we obtain a strong (r^2
21 = 0.78) and significant ($p < 0.001$) linear relationship between Cd concentrations in the

1 insect and its environment (Fig. 1B). If we include the data point for the manipulated
2 lake, the regression remains significant ($p < 0.001$) but is weaker ($r^2 = 0.58$). We
3 chose to remove the manipulated lake in subsequent data analysis because of its clear
4 position as an outlier. The presence of mining residues probably explains the high
5 concentrations of Zn (an order of magnitude higher than any other lake) and Cu (much
6 higher than other lakes in its region) in this lake (Table 2). Although we are not yet able
7 to explain the lower than predicted Cd concentrations in *C. punctipennis* from this lake,
8 we note that fourth instar larvae were the lightest of any collected (0.11 versus a mean of
9 0.22 mg indiv.⁻¹) and that a major food group exploited by this species, microcrustaceans
10 (copepods and cladocerans) (22), were conspicuous by their near absence (Croteau,
11 unpublished). Low *Chaoborus* body weights have been reported to result from reductions
12 in microcrustacean populations (23), and microcrustacean communities are reported to be
13 sensitive to trace metals such as Cd (24, 25, 26). These observations suggest that
14 planktonic prey, from which *Chaoborus* larvae obtain most of their Cd (10), could be
15 limiting to the growth and Cd accumulation of larvae in this manipulated lake.

16 The weakened correlations among Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} and H^+ in the combined data set
17 (Table 4), allowed us to determine which of these ions is likely to be the superior
18 competitor with Cd ions for biological uptake sites. Cadmium concentrations in *C.*
19 *punctipennis* were better explained by a model with H^+ as a Cd^{2+} competitor (Eqn. 7 in
20 Table 3; Fig. 1B), as opposed to models with either Cu^{2+} , Zn^{2+} or Ni^{2+} as a Cd^{2+}
21 competitor (Eqn. 8 in Table 3: M = Cu, Fig. 1C; M = Zn, Fig. 1D; M = Ni, $r^2 =$

1 0.002). Furthermore, the addition of either Cu^{2+} , Zn^{2+} or Ni^{2+} as a second competitor
2 along with H^+ (Eqn. 9 in Table 3), provided little further increase in predictive power
3 ($r^2 = 0.80, 0.79$ and 0.75 respectively; regressions not shown) over that afforded by H^+
4 as the lone competitor ($r^2 = 0.78$, Fig. 1B).

5 The results of our study suggest that a simple formulation of the bioaccumulation model
6 (Eqn. 7 in Table 3) that considers competition by H^+ but ignores competition from other
7 trace metals (Eqns. 8 and 9 in Table 3) is the preferred choice. Such simplicity is
8 advantageous if one wishes to use the model as a practical environmental tool to assess
9 Cd levels in lakes. In terms of model simplification, it would also be advantageous if all
10 *Chaoborus* species could be treated together as opposed to developing a relationship for
11 each taxon. We combined our results for *C. punctipennis* with the less extensive data sets
12 obtained for three other species collected from the study lakes (i.e., *C. americanus*, *C.*
13 *flavicans*, and *C. albatus*) and found that there was little loss in predictive power (8% of
14 the explained variability, Fig. 2). Although there are differences in Cd concentrations
15 among species in a given lake (Table 2), these differences do not appear to be important
16 enough to warrant treating animals on a species by species basis in routine
17 biomonitoring. Not identifying larvae to species is advantageous because specific
18 determinations usually require a microscope, while a generic identification can be made
19 in the field. Spring nocturnal sampling for *Chaoborus* is suggested, both because larvae
20 are all of the same instar at this time of year and because they can be collected in the

1 water column at night thus obviating the laborious task of separating them from the
2 sediment.

3 It would broaden the use of the biomonitor if *Chaoborus* larvae could be used to evaluate
4 the levels of other potentially toxic trace metals such as Cu or Zn. However, in spite of
5 the extremely large range in calculated Cu^{2+} and Zn^{2+} concentrations in our study lakes,
6 insect Cu and Zn concentrations varied little among lakes (Fig. 3) and there was no
7 significant relationship between aqueous and insect Cu or Zn concentrations ($p > 0.1$ for
8 both metals). Our results suggest for Cu and Zn suggest that *Chaoborus* larvae are not an
9 appropriate biomonitor for these essential trace metals. Regulation of Cu or Zn or both is
10 reported to be common to many aquatic invertebrates (27, 28).

11 **Conclusions and improvement of the model**

12 The reported tendency towards low Cd concentrations in insect larvae living in highly
13 acidic lakes is supported by our data. The inhibition of Cd bioaccumulation is better
14 explained by competition between Cd^{2+} and H^+ ions for biological uptake sites, than by
15 competition between Cd^{2+} and either Cu^{2+} , Ni^{2+} or Zn^{2+} . Since the predator is reported
16 to take up little of its Cd directly from water (10), the biological uptake sites at which
17 competition between Cd^{2+} and H^+ occurs are likely to be found, not on the predator, but
18 on its prey or on other organisms at some lower level in the food chain (Eqn. 10 in
19 Table 3). Because Cd appears to reach the predator via its food (10), we suggest that Cd
20 concentrations in prey should be directly related to $[\text{Cd}^{2+}]$. Thus, by considering

1 differences in prey community composition among lakes, we should be able to improve
2 model predictions. Such an improvement might allow us to reconcile the apparently
3 anomalous position of the manipulated lake in our data set. A better understanding of Cd
4 uptake from food, including Cd concentrations in various prey types, Cd assimilation
5 efficiencies and prey consumption rates could also help to explain differences in Cd
6 concentrations among the various life stages and species of *Chaoborus* and among larvae
7 collected in various seasons (12).

8
9 Our research to date suggests that Cd concentrations in *Chaoborus* can be used to
10 estimate the degree to which organisms are exposed to Cd in even highly Cd-
11 contaminated lakes in which other taxa might have been eliminated by Cd toxicity. If Cd
12 concentrations in this tolerant biomonitor can be related to toxic effects on other more
13 sensitive taxa, then *Chaoborus* larvae could one day also be used as a bioindicator of
14 toxic effects.

15 **Acknowledgments**

16 Funding was provided by Human Resources Development Canada, the Fonds pour la
17 Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, the Ministère de l'Éducation du
18 Québec, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, and the
19 U.S. Environmental Protection Agency. Comments on the manuscript were provided by
20 P. G. C. Campbell and N. D. Yan; technical assistance was furnished by J. Bernier, M.
21 G. Bordeleau, S. St-Pierre and B. Veilleux.

1 **Literature Cited**

- 2 (1) Nriagu, J. O. Ed. *Adv. Environ. Sci. Technol.* 1984, 15, 608p.
- 3 (2) Winterhalder, K. In *Restoration and Recovery of an Industrial Region*, 1st ed.;
4 Gunn, J. M. Ed.; Springer-Verlag: New York, 1995; pp 17-31.
- 5 (3) Phillips, D. J. H.; Rainbow, P. S. In *Biomonitoring of Trace Aquatic*
6 *Contaminants*, 1st ed.; Cairns, J., Harrison, R. M., Eds.; Elsevier Applied
7 Science: London, 1993; pp 1-78.
- 8 (4) Tessier, A.; Couillard, Y.; Campbell, P. G. C.; Auclair, J. C. *Limnol. Oceanogr.*
9 1993, 38, 1-17.
- 10 (5) Metcalfe-Smith, J. *Environ. Toxicol. Chem.* 1994, 13, 1433-1443.
- 11 (6) Langston, W. J.; Spence, S. K. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic*
12 *Systems*, 1st ed.; Tessier, A., Turner, D. R., Eds., Wiley: New York, 1995; pp
13 407-478.
- 14 (7) Hare, L.; Tessier, A. *Nature* 1996, 380, 430-432.
- 15 (8) Borkent, A. *Can. J. Zool.* 1981, 59, 122-133.
- 16 (9) Lamontagne, S.; Donald, D. B.; Schindler, D. W. *Can. J. Zool.* 1994, 72, 1531-
17 1537.
- 18 (10) Munger, C.; Hare, L. *Environ. Sci. Technol.* 1997, 31, 891-895.
- 19 (11) Hare, L.; Tessier, A. *Limnol. Oceanogr.* 1997, in press.
- 20 (12) Hare, L.; Campbell, P. G. C. *Freshwater Biol.* 1992, 27, 13-27.
- 21 (13) Keller, W. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1992, 49(Suppl. 1), 3-7.

- 1 (14) Environnement Canada. *L'état de l'environnement au Canada*. 1991, EN-21-
2 54/1991F, Ottawa, pp 11.1-11.28.
- 3 (15) Carignan, R.; Rapin, F.; Tessier, A. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1985, 49, 2493-
4 2497.
- 5 (16) Saether, O. A. In *Das Zooplankton der Binnengewässer*; E. Schweizerbart'sche
6 Verlagsbuchhandlung: Stuttgart, Germany, 1972; pp 257-304.
- 7 (17) Tipping, E. *Comp. Geosci.* 1994, 20, 973-1023.
- 8 (18) Buffle, J. Ed., In *Complexation reactions in Aquatic systems: An analytical*
9 *approach*, 1 st ed.; Ellis-Norwood, Chichester, 1988.
- 10 (19) Malcolm, R. L. In *Humic substances in soil, sediment, and water: Geochemistry,*
11 *Isolation, and characterization*, 1 st ed.; Aiken, G. R. et al., Eds., Wiley, New
12 York, 1985, pp 181-209.
- 13 (20) Campbell, P. G. C.; Stokes, P. M. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1985, 42, 2034-2049.
- 14 (21) Yan, N. D.; Mackie, G. L.; Grauds, P. *Environ. Toxicol. Chem.* 1990, 9, 895-
15 908.
- 16 (22) Moore, M. V. *Freshwater Biol.* 1988, 19, 249-268.
- 17 (23) Yan, N. D.; Lafrance, C. J.; Hitchin, G. G. In *Acidic Precipitation and Fishery*
18 *Impacts in Northeastern North America*, Johnson, R. E. Ed.; Acid Rain & Fisheries
19 Proc. of Internat. Symp.: Maryland. 1992; pp 137-154.
- 20 (24) Maley, D. F. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996, 53, 1862-1870.
- 21 (25) Lawrence, S. G.; Holoka, M. H. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1987, 44, 163-172.
- 22 (26) Yan, N. D.; Struss, R. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1980, 37, 2282-2293.

-
- 1 (27) Hare, L. *Crit. Rev. Toxicol.* **1992**, *22*, 327-369.
 - 2 (28) Chapman, P.; Allen, H. E.; Godtfredsen, K.; Z'Graggen, M. N. *Environ. Sci.*
 - 3 *Technol.* **1996**, *30*, 448A-452A.

TABLE 1. Location of the lakes sampled in the present study.

Lake	Region	Location
Chief	Sudbury, Ontario	46°22'N, 81°01'W
Daisy	Sudbury, Ontario	46°27'N, 80°53'W
Hazen	Sudbury, Ontario	46°25'N, 80°59'W
Pine	Sudbury, Ontario	46°22'N, 81°02'W
Terry	Killarney, Ontario	46°04'N, 81°17'W
Chevreuil	Rouyn-Noranda, Québec	47°54'N, 79°00'W
Desperiers	Rouyn-Noranda, Québec	48°11'N, 79°09'W
Surimeau	Rouyn-Noranda, Québec	48°08'N, 79°19'W
Turcotte [§]	Rouyn-Noranda, Québec	48°18'N, 79°04'W

[§] Manipulated lake

TABLE 2. Concentrations of Cd in the various *Chaoborus* species ($[Cd]_{Chaoborus}$) (*punct.* = *C. punctipennis*; *alb.* = *C. albatus*; *flav.* = *C. flavicans*; *amer.* = *C. americanus*) and dissolved constituents in lake water as well as lake pH.

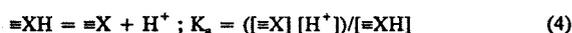
Lake	$Cd]_{Chaoborus} \mu g g^{-1}$				[Cd]	[Cu]	[Zn]	[Ni]	[C _{org}]	[Ca]	[Mg]	pH
	<i>punct.</i>	<i>alb.</i>	<i>flav.</i>	<i>amer.</i>	nM			mg L ⁻¹ C	μM			
Sudbury area												
<i>Highly acidic lakes sampled by Hare & Tessier (1996)</i>												
Crooked	1.43	1.6	---	---	7.1	1674	372	4907	2.5	77	44	4.58
Clearwater	3.99	---	---	---	4.9	637	346	2550	3.4	137	57	4.79
Wavy	2.47	---	---	---	2.2	263	223	1132	3.1	52	30	4.62
<i>Highly acidic lakes sampled in this study</i>												
Pine	3.88	3.4	---	---	3.8	552	165	2158	6.0	30	18	4.30
Hazen	1.09	---	1.57	2.59	3.3	306	173	2058	8.8	2237	1222	4.46
Chief	1.51	---	---	---	2.7	280	169	1664	5.3	40	26	4.47
Terry	1.85	---	---	---	0.9	19	176	98	7.9	37	23	4.56
Daisy	2.82	---	---	---	2.5	212	116	2210	4.3	59	51	5.36
Rouyn-Noranda area												
<i>Highly acidic lakes sampled in this study</i>												
Chevreuil	1.52	---	---	3.04	2.5	20	162	23	5.2	29	19	4.50
Turcotte	3.05	---	---	9.86	19.5	388	4764	28	5.4	105	41	4.83
Surimeau	2.68	---	1.29	---	0.9	25	76	16	8.5	39	17	4.95
Desperiers	1.06	---	2.79	---	3.2	39	250	15	5.6	42	18	5.16

TABLE 3. Basic equations used to describe Cd bioaccumulation according to the free-ion activity model.

According to the free-ion activity model (FIAM), the Cd concentration in a unicellular organism, $[Cd]_{\text{organism}}$, is given by:

$$[Cd]_{\text{organism}} = k_1 [XCd] \quad (1)$$

where $[XCd]$ is the concentration of uptake sites on a membrane that are occupied by Cd and k_1 is a proportionality constant. Reaction of these uptake sites with Cd, other metals ($M = \text{Cu, Zn, Ca}$) and H^+ can be described by the following (pseudo)equilibrium reactions:



where $[X]$, $[XM]$ and $[XH]$ are the concentrations of free sites, and those occupied by M and H^+ , respectively. The mass balance equation for sites is:

$$[X]_T = [X] + [XH] + [XCd] + [XM] \quad (5)$$

Depending on the element competing with Cd for uptake sites, $[Cd]_{\text{organism}}$ can be best described by the following expressions:

-No competition by H^+ or M^{2+} (combine Eqns 1, 2 and 5; neglect $[XH]$, $[XCd]$ and $[XM]$ in Eqn. 5):

$$[Cd]_{\text{organism}} = F [Cd^{2+}] \quad (6)$$

$$\text{where } F = k \cdot K_{Cd} \cdot [X]_T$$

-Competition by H^+ alone (combine Eqns 1, 2, 4 and 5; neglect $[XCd]$ and $[XM]$ in Eqn 5):

$$[Cd]_{\text{organism}} = F [Cd^{2+}]/([H^+] + K_a) \quad (7)$$

$$\text{where } F = k \cdot K_{Cd} \cdot K_a \cdot [X]_T$$

-Competition by M^{2+} alone (combine Eqns 1, 2, 3 and 5; neglect $[XH]$ and $[XCd]$ in Eqn 5):

$$[Cd]_{\text{organism}} = F [Cd^{2+}]/(1 + K_M[M^{2+}]) \quad (8)$$

$$\text{where } F = k \cdot K_{Cd} \cdot [X]_T$$

-Competition by both H^+ and M^{2+} (combine Eqns 1, 2, 3, 4 and 5; neglect $[XCd]$ in Eqn 5):

$$[Cd]_{\text{organism}} = F [Cd^{2+}]/(K_a + [H^+] + K_a K_M[M^{2+}]) \quad (9)$$

$$\text{where } F = k \cdot K_a \cdot K_{Cd} \cdot [X]_T$$

It should be noted that if cadmium accumulation by a consumer is mainly from its food, i.e.,

$$[Cd]_{\text{consumer}} = k_2 [Cd]_{\text{organism}} \quad (10)$$

then the Cd concentration in the consumer could also appear to follow the FIAM, i.e., $[Cd]_{\text{organism}}$ could be replaced by $[Cd]_{\text{consumer}}$ in Eqns. 6 to 9.

TABLE 4. Pearson correlation coefficients between the concentrations of H^+ , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Ni^{2+} ($*p < 0.05$) in the data set of Hare & Tessier (10) (in parentheses) and in our combined data sets.

	[Cd^{2+}]	[Cu^{2+}]	[Zn^{2+}]	[Ni^{2+}]
[Cu^{2+}]	(0.89*) 0.43*	---	---	---
[Zn^{2+}]	(0.97*) (0.93*)	(0.81*) 0.13	---	---
[Ni^{2+}]	(0.98*) 0.32	(0.93*) 0.88*	(0.95*) 0.01	---
[H^+]	(0.84*) 0.36*	(0.76*) 0.39*	(0.90*) 0.15	(0.81*) 0.47*

1 Figure Legends

2 **Figure 1.** Relationships between mean (\pm SD, $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) Cd concentrations in
3 larvae of the insect *Chaoborus punctipennis* and (A) computed free Cd ion concentrations
4 ($[\text{Cd}^{2+}]$) in lake water, (B) insect Cd versus $[\text{Cd}^{2+}]$ normalized for hypothesized competition
5 between hydrogen and free Cd ions for biological uptake sites (Eqn. 7), (C) insect Cd versus
6 $[\text{Cd}^{2+}]$ normalized for hypothesized competition between free Cu and Cd ions for biological
7 uptake sites (Eqn. 8), (D) as in (C) except that free Cu ions are substituted by free Zn ions;
8 solid symbols, pH < 5.5; open symbols, pH > 5.5; circles, data from (11); triangles, lakes
9 in this study. The value (\pm SE) of the slope (= F in Eqn. 7) and the y intercept of the
10 regression in (B) are $18\,000 \pm 1\,700 \mu\text{g g}^{-1}$ and $0.37 \pm 0.35 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively, whereas
11 $K_a = 8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

12 **Figure 2.** Relationships between mean (\pm SD, $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) Cd concentrations in
13 larvae of various species of the genus *Chaoborus* and $[\text{Cd}^{2+}]$ normalized for hypothesized
14 competition between hydrogen and free Cd ions for biological uptake sites (Eqn. 7); solid
15 symbols, pH < 5.5; open symbols, pH > 5.5. The value (\pm SE) of the slope (=F in Eqn.
16 7) and the y intercept of the regression are $9\,500 \pm 880 \mu\text{g g}^{-1}$ and $0.87 \pm 0.29 \mu\text{g g}^{-1}$,
17 respectively, whereas $K_a = 8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

18 **Figure 3.** Relationships between mean (\pm SD, $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) Cu (A) or Zn (B)
19 concentrations in larvae of the insect *Chaoborus punctipennis* and computed free Cu ion

-
- 1 concentrations ($[\text{Cu}^{2+}]$) or computed free Zn ion concentrations ($[\text{Zn}^{2+}]$); solid symbols, pH
 - 2 < 5.5 ; open symbols, pH > 5.5 ; circles, data from (11); triangles, lakes in this study.

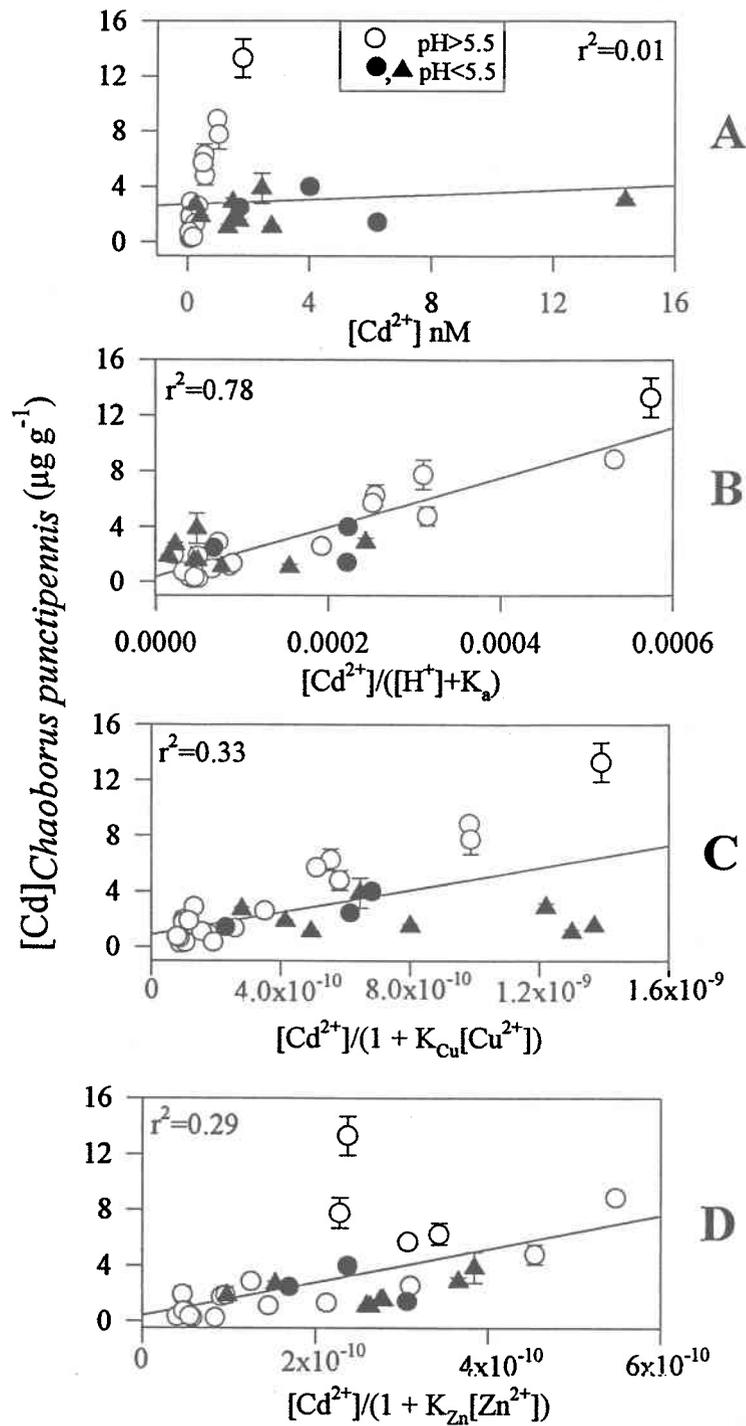


Figure 1. Croteau et al.

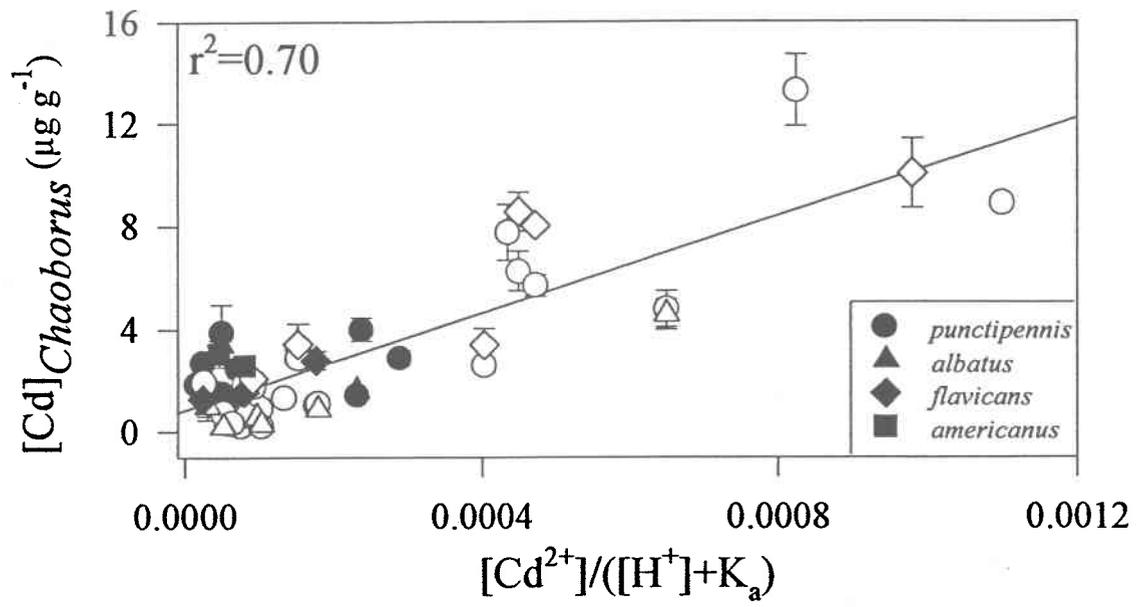


Figure 2. Croteau et al.

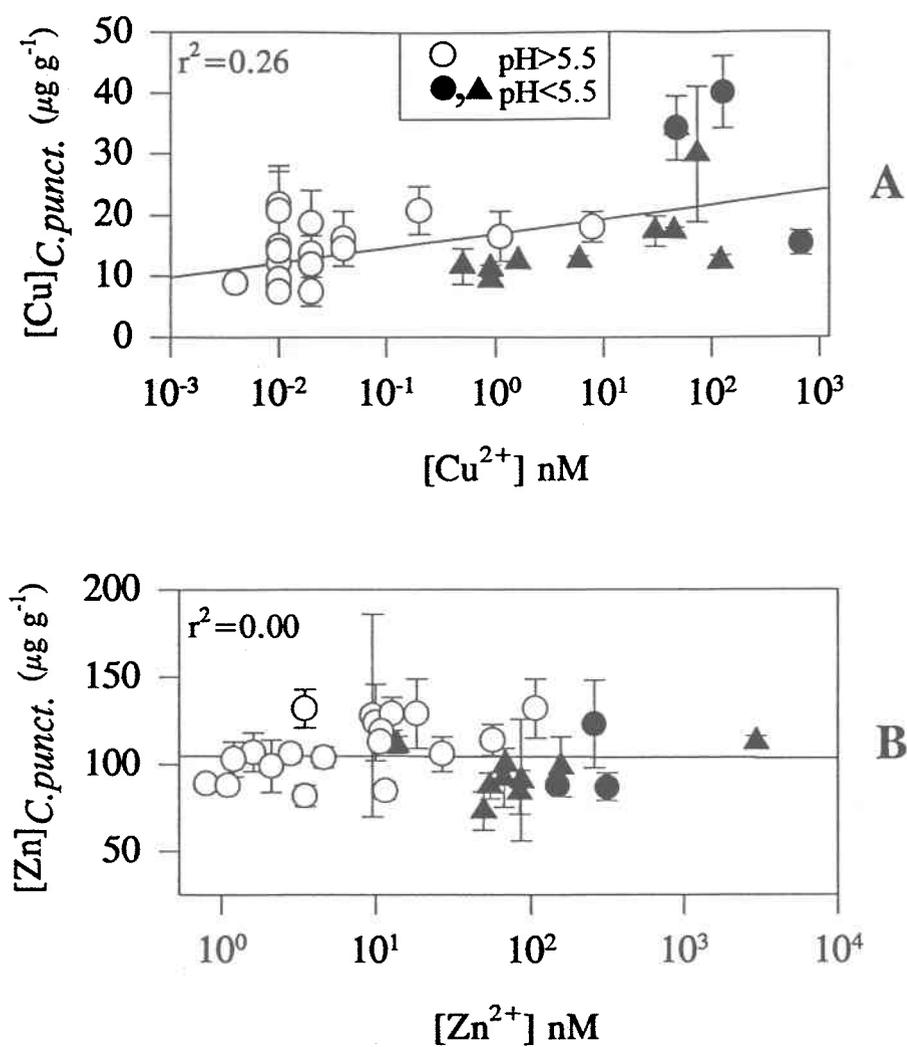


Figure 3. Croteau et al.

