

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE EAU, TERRE, ENVIRONNEMENT

**ÉLÉMENTS TRACES DANS LE BIOMONITEUR
HEXAGENIA LIMBATA PROVENANT DE LACS DE LA RÉGION DE
ROUYN-NORANDA, QUÉBEC**

Par

JULIEN LACHARITÉ

(B. SC. BIOLOGIE)

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maîtrise en sciences
en sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examineur externe

Jan Ciborowski
University of Windsor

Examineur interne

Peter G.C. Campbell
INRS Centre Eau Terre Environnement

Directeur de recherche

Landis Hare
INRS Centre Eau Terre Environnement

AVANT-PROPOS

Ce mémoire est de type «par article» et est composé de 2 parties. La première partie consiste en une synthèse du travail de recherche contenant une introduction à l'écotoxicologie aquatique, les objectifs principaux du travail de maîtrise, un aperçu de la méthodologie, une section résultats et discussion et une conclusion. La deuxième partie consiste quant à elle en un article écrit dans le cadre de la réalisation du travail de recherche qui sera soumis à la revue *Limnology & Oceanography*.

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

Julien Lacharité :

-Conception et réalisation du projet :

- Échantillonnage
- Traitement et analyse des données

-Rédaction de la synthèse

-Rédaction initiale et finale de l'article

Landis Hare :

-Conception du projet

-Contribution au traitement et l'analyse des données

-Contribution à la rédaction de la synthèse

-Rédaction initiale et finale de l'article

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, Landis Hare, qui m'a accompagné et guidé dans ce merveilleux périple au cœur de la science. Sa disponibilité, son écoute et sa sérénité garderont une place très importante dans mes souvenirs et influenceront mes actions futures.

Je tiens aussi à remercier de tout cœur celle qui m'accompagne à tous les jours depuis plusieurs années et qui vit avec moi tous les hauts et les bas de la vie quotidienne. Marie-Eve, tu es toujours là pour moi et tu m'aides à relativiser mes angoisses et mes peurs. Merci de croire en moi de cette façon.

Merci aussi à tous ceux qui m'ont aidé dans mon travail de recherche, tout spécialement Dominic Ponton et Maikel Rosabal Rodriguez avec qui j'ai eu le plaisir de faire l'échantillonnage de nos bibittes et Isabelle Proulx pour ses connaissances des techniques de laboratoire. Nous avons passé des moments mémorables ensemble sur le terrain.

Un grand merci aussi à René Rodrigue, Sandra Jobidon, Michelle Geoffroy, Pauline Fournier et tout le personnel de l'INRS-ETE pour leur aide au laboratoire et leur disponibilité. Votre expérience et expertise rend le travail de laboratoire beaucoup moins ardu qu'il ne peut sembler l'être pour un biologiste.

RÉSUMÉ

Les métaux traces sont des éléments métalliques présents naturellement dans les écosystèmes aquatiques mais l'extraction et le raffinage à grande échelle de ces ressources par les compagnies minières ont contribué à modifier grandement les concentrations retrouvées dans les régions où cette industrie est importante (Nriagu et Pacyna, 1988). Cette étude vise à déterminer si l'éphémère fouisseuse *Hexagenia limbata* est un biomoniteur efficace pour évaluer le niveau de contamination des éléments traces dans les lacs de la région de Rouyn-Noranda, Québec. Ce biomoniteur sera utilisé pour déterminer la variabilité spatiale et temporelle des éléments traces biodisponibles dans ces lacs. Nous avons sélectionné 11 lacs à différentes distances de la raffinerie Horne, située à Rouyn-Noranda, dans lesquels nous avons récolté des échantillons de sédiments, d'eau et de larves de *Hexagenia limbata*. Pour aucun des métaux étudiés (Cd, Co, Cu, Mn et Zn) nous n'obtenons une relation significative entre les concentrations de l'ion libre dans l'eau sus-jacente et celles des branchies ou des larves entières. En fait, seul l'arsenic a des relations significatives avec l'eau ou les sédiments et la larve de *H. limbata*. Les larves de *Hexagenia* effectuant un tri des particules sédimentaires selon la taille et la qualité alimentaire, à l'aide de soies sur leurs pattes, avant de les ingérer, les sédiments qui sont donc consommés et présents dans le tractus digestif ne sont donc pas en tout point semblable à ceux que l'on retrouve dans le milieu dans lequel ces dernières sont prélevées. La relation forte ($r^2 = 0.92$) entre les rapports [Élément] max / [Élément] min chez les larves entières et ceux des sédiments du milieu suggère que les concentrations des éléments traces chez les larves sont corrélées avec celles dans leur milieu et que les sédiments sont une source importante de ces éléments pour les larves. En comparant nos données avec celles obtenues il y a 20 ans (1987 à 1992), nous constatons que les concentrations de plusieurs métaux (Cd, Cu et Zn) ont diminué dans les larves de *H. limbata* et dans l'eau, et ce, pour la plupart des lacs que nous avons étudiés. Ces déclin suggèrent qu'il y a eu amélioration des conditions environnementales près de Rouyn-Noranda suite aux réductions des émissions atmosphériques de la fonderie Horne dans les années 80.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	iii
REMERCIEMENTS.....	v
RÉSUMÉ.....	vii
TABLE DES MATIÈRES	ix
LISTE DES FIGURES	xi
LISTE DES TABLEAUX	xiii
Première Partie	1
1. INTRODUCTION.....	3
1.1 Les métaux traces dans les milieux lacustres	3
1.2 Les biomoniteurs.....	4
1.3 Biodisponibilité des métaux.....	5
1.4 Les voies d'entrées et l'essentialité des métaux.....	7
1.5 L'éphémère fousseuse <i>Hexagenia limbata</i>	9
2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES.....	11
2.1. VARIATIONS SPATIALES.....	11
2.2. VARIATIONS TEMPORELLES.....	11
3. RÉGION D'ÉTUDE.....	13
4. MÉTHODOLOGIE	15
5. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	17
5.1 Variations spatiales.....	17
5.1.1 Concentrations des éléments traces dans l'eau et les sédiments	17
5.1.2 Concentrations des éléments traces dans les larves de <i>Hexagenia limbata</i>	19
5.1.3 Comparaisons entre les concentrations de métaux traces chez <i>Hexagenia limbata</i> et celles dans les sédiments anoxiques : modèle SEM-AVS	23
5.1.4 Comparaisons entre les concentrations d'éléments traces chez <i>Hexagenia limbata</i> et celles dans l'eau surnageant et les sédiments oxiques	26
5.2 Variations temporelles	34
5.2.1 Variations temporelles dans les concentrations du Cd.....	34
5.2.2 Variations temporelles dans les concentrations du Cu	38
5.2.3 Variations temporelles dans les concentrations du Zn	41
6. CONCLUSION	45
7. RÉFÉRENCES.....	47
8. ANNEXE	53
Deuxième Partie.....	63

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. variations dans les émissions atmosphériques de Cd (cercles pleins), Cu (triangles) et Zn (cercles vides) de la fonderie Horne à Rouyn-Noranda entre 1980 et 2001, courtoisie de Noranda inc (tirée de Perceval et al., 2006)3
- Figure 2. Schéma des réactions biogéochimiques déterminant la biodisponibilité des métaux pour les organismes benthiques (tirée et modifiée de Luoma, 1989) (M = métal, M+2 = ion libre du métal, DOM = matière organique dissoute, R = matière organique particulaire).6
- Figure 3. Impact sur la santé des organismes en fonction de la concentration des métaux non essentiels (gauche) et essentiels (droite) (tirée et modifiée de Chapman et al., 1996).....8
- Figure 4. Carte de la région de Rouyn-Noranda avec localisation des lacs échantillonnés avec leurs noms et les codes d'identification à 2 lettres (tirée et modifiée de Wang et al., 1999). .13
- Figure 5. Moyenne et écart-type (pour l'ensemble des lacs) de la répartition proportionnelle des éléments traces entre les différentes parties des larves de *Hexagenia limbata*.21
- Figure 6. Relation entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en As dans les larves entières (nmol/g poids sec) de *Hexagenia limbata* et les concentrations d'As total dissous dans l'eau surnageant (nmol/L).....28
- Figure 7. Relation entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en As dans les larves entières (nmol/g poids sec) de *Hexagenia limbata* et les concentrations d'As dans les sédiments oxyques (nmol/g poids sec).....28
- Figure 8. Rapports moyennes (\pm écart-type) pour l'ensemble des lacs entre les concentrations des éléments traces dans, A : sédiments du tractus / sédiments de surface; B : tissus du tractus / sédiments du tractus.....29
- Figure 9. Relations entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en Cd (nmol/g poids sec) dans les sédiments du tractus digestif et celles A : des larves entières et B : les tissus du tractus digestif.....30
- Figure 10. Relation entre les rapports max [Élément]/min [Élément] pour les concentrations en As, Cd, Co, Cu, V et Zn dans les larves entières et dans les sédiments de surface (0 – 0.5 cm).33
- Figure 11. Variations des concentrations (nmol/L) en Cd dissous et en Cd²⁺ pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4....35

Figure 12. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cd dans les sédiments oxiques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.36

Figure 13. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cd dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.37

Figure 14. Variations dans les concentrations (nmol/L) en Cu dissous et Cu^{2+} ($\times 100$) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.38

Figure 15. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cu dans les sédiments oxiques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.39

Figure 16. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Zn dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.40

Figure 17. Variations dans les concentrations (nmol/L) en Zn dissous et Zn^{2+} pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la Figure 4. .41

Figure 18. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Zn dans les sédiments oxiques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.42

Figure 19. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Zn dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.43

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1. Concentrations en éléments traces dissous (moyenne±écart-type; nmol/L) et pH dans de l'eau surnageant récoltée dans la colonne d'eau de 11 lacs de la région de Rouyn-Noranda, Québec. Le nom des lacs est à la Figure 4.18
- Tableau 2. Concentrations en éléments traces dans la couche superficielle oxygène (0-0.5 cm) (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) des sédiments des lacs de la région de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4. (s.l.d.; sous la limite de détection avant correction pour la taille des particules et n'est pas inclus dans le calcul de max/min, voir ci-dessous).....19
- Tableau 3. Concentrations en éléments traces (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) dans les larves entières (reconstituées) de *Hexagenia limbata* provenant de 11 lacs de la région de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.20
- Tableau 4. Contribution (en pourcentage) des sédiments du tractus à la charge totale en cet élément dans les larves de *Hexagenia limbata* (moyenne±écart-type)23
- Tableau 5. Concentrations (moyenne±écart-type; µmol/g poids sec) en SEM total (ΣSEM des concentrations en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn) et en AVS des sédiments (0-5 cm), ainsi que la différence ΣSEM-AVS et la normalisation de cette différence pour la fraction de carbone organique sédimentaire, fCO, ((ΣSEM-AVS) / fCO). Le pourcentage des sédiments en CO est estimé à 5% pour l'ensemble de nos lacs (Isabelle Proulx, INRS-ETE, données non-publiées). Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.24
- Tableau 6. Coefficients de corrélation (r^2) et probabilités (p; entre parenthèses) des relations linéaires entre les concentrations des éléments traces dans les parties des larves (branchies ou tractus), ou les larves entières reconstituées ('larves'), et celles du milieu. Les relations significatives (< 0.05) ont été soulignées. Le terme 'tractus' se rapporte aux tissus du tractus digestif. Les valeurs utilisées pour l'eau sont l'ion libre pour les métaux, et la concentration totale dissoute pour l'As. Les valeurs utilisées pour les sédiments sont celles pour les sédiments oxygènes de surface. Les noms des lacs se trouvent à la Figure 4.27
- Tableau 7. Concentrations en cations et anions majeurs, carbone organique dissous (COD), ainsi que les valeurs de pH dans de l'eau surnageant filtrée des lacs échantillonnés. Les concentrations en acides humiques (HA) et fulviques (FA) sont estimées à partir du COD en présumant que les substances humiques sont faits de 50% de carbone, que tout le COD est sous forme de substances humiques, et que la proportion relative des HA a des FA est de 1 à 9. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4. (s.l.d.; sous la limite de détection).....53

Tableau 8. Concentrations (nmol/L) de l'ion libre des métaux traces dans de l'eau surnageant filtrée qui a été récoltée en 2009. Ces valeurs ont été calculées à l'aide du logiciel WHAM VI. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.	54
Tableau 9. Concentrations (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) des éléments traces dans la couche oxique (0-0.5 cm) des sédiments (Surface) et dans les 5 premiers centimètres des sédiments (Carotte). s.l.d.; sous la limite de détection avant correction pour la tailles de particules (lacs HE et VA; voir texte). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.....	55
Tableau 10. Concentrations (moyenne±écart-type) en éléments traces dans les différentes parties de la larve de <i>Hexagenia limbata</i> (nmol/g poids sec). « tractus » réfère aux tissus du tractus digestif. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.	56
Tableau 11. Concentrations des éléments traces (moyenne±écart-type ; nmol/g poids sec) dans les sédiments du tractus digestif des larves de <i>Hexagenia limbata</i> . Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.	58
Tableau 12. Concentrations (±écart-type; µmol/g poids sec) des SEM (« Simultaneously Extracted Metal ») pour chacun de 5 métaux ainsi que le SEM total (la somme des 5 métaux). Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.	58
Tableau 13. Variations temporelles dans les concentrations moyennes (±écart-type; nmol/g poids sec) en Cd, Cu et Zn dans les différentes parties des larves de <i>Hexagenia limbata</i> et la somme de ces concentrations (larve entière). Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.....	59
Tableau 14. Concentrations (nmol/L) de Cd, Cu et Zn dissous ainsi que les valeurs de l'ion libre, dans l'eau surnageant avec la variation temporelle et le % de variation. Le nom des lacs se trouve à la figure 4.....	60
Tableau 15. Variations temporelles dans les concentrations (moyenne±écart-type) en Cd, Cu et Zn dans les sédiments oxiques de surface pour chacun des métaux (nmol/g poids sec) (s.l.d. signifie : sous la limite de détection dans les lacs HE et VA où il y a eu correction pour la taille des particules). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.	61
Tableau 16. Variations temporelles dans les concentrations (moyenne±écart-type) en Cd, Cu et Zn dans les sédiments du tractus digestif des larves pour chacun des métaux (nmol/g poids sec) (pas d'écart-type pour les lacs BR, DF, DY et OP car n=1; il n'y a pas de valeur disponible pour le lac VA pour la période 1987-1992). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.....	61

Première Partie

Synthèse

1. INTRODUCTION

1.1 Les métaux traces dans les milieux lacustres

Les métaux traces sont des éléments métalliques présents naturellement dans les écosystèmes aquatiques (Hare, 1992; Luoma et Rainbow, 2008). Cependant, l'extraction et le raffinage à grande échelle de ces ressources métalliques par les compagnies minières ont contribué à modifier grandement les concentrations retrouvées dans les régions où cette industrie est importante (Nriagu et Pacyna, 1988). Par exemple, la région de Rouyn-Noranda, située dans le nord-ouest du Québec, est un important centre de production pyrométallurgique de métaux non-ferreux. Cette industrie a déjà libéré dans l'environnement, sous forme de rejets atmosphériques notamment, de grandes quantités de métaux tels le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le zinc (Zn) ainsi que de nombreux autres éléments (Arafat, 1985). Pour réduire les impacts négatifs sur l'environnement, l'industrie minière a, au cours des dernières décennies, adopté des technologies nouvelles permettant de réduire les émissions atmosphériques et diminuer ainsi la quantité totale de métal libérée (fig. 1) (Gunn et Keller, 1990; Croteau et al., 2002; Hare et al., 2008).

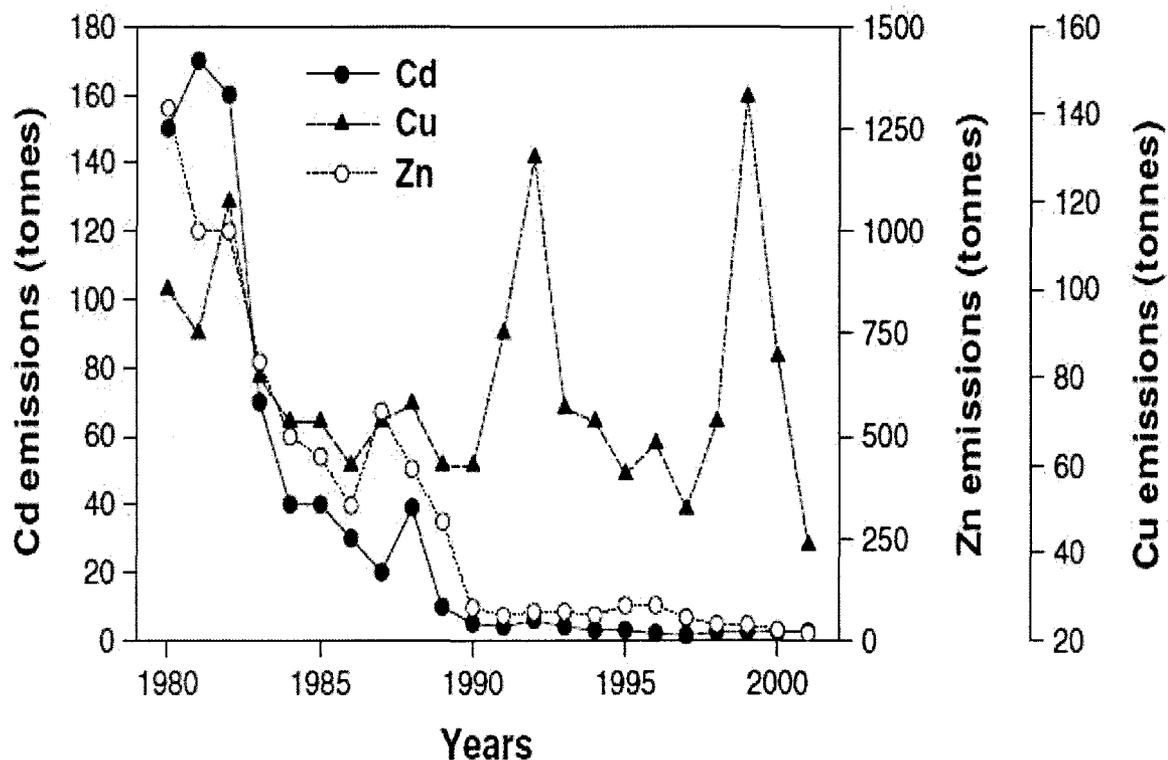


Figure 1. Variations dans les émissions atmosphériques de Cd (cercles pleins), Cu (triangles) et Zn (cercles vides) de la fonderie Horne à Rouyn-Noranda entre 1980 et 2001, courtoisie de Noranda inc (tirée de Perceval et al., 2006).

En milieux lacustres, les sédiments sont le principal réservoir de métaux traces provenant des rejets atmosphériques ou du ruissellement (Luoma, 1989; Ciutat et al., 2007). Ainsi, de fortes concentrations en métaux traces, parfois plus de 100 fois ce que l'on peut retrouver en milieux non-contaminés, sont mesurées dans l'eau et les sédiments des lacs des régions concernées (Arafat, 1985; Hare et Tessier, 1998). Des concentrations aussi élevées en éléments métalliques peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques, y compris la faune benthique (Borgmann et al., 2001, 2004; Gosselin et Hare, 2004). Les organismes qui ne peuvent tolérer de fortes concentrations en métaux peuvent disparaître et être remplacés par d'autres espèces plus tolérantes, modifiant ainsi l'ensemble des chaînes trophiques d'un lac (Keller et Yan, 1991; Borgmann et al., 2004; Yan et al., 2004).

1.2 Les biomoniteurs

Bien que les mesures des éléments traces totaux dans l'eau et les sédiments peuvent nous informer sur leurs concentrations dans les milieux aquatiques, ils ne nous donnent que peu d'informations quant à leur disponibilité pour les organismes et leurs effets sur ces derniers (Campbell, 1995; Croteau et al., 1998). Par contre, l'emploi des biomoniteurs, qui sont des organismes utilisés pour estimer le niveau de contamination d'un milieu (Phillips et Rainbow, 1993; Luoma et Rainbow, 2008), permet de mieux évaluer l'exposition aux contaminants et donc le risque écologique (Proulx et Hare, 2007).

Pour être un bon biomoniteur, l'organisme choisi doit :

- être abondant et répandu (Roy et Hare, 1998),
- être facilement récoltable et identifiable (Hare et al., 2008),
- avoir une taille suffisante permettant la mesure des contaminants, même dans différentes fractions (tissus, organes, ...) (Roy et Hare, 1998)
- tolérer une large gamme de concentrations des contaminants en question (Hare et Tessier, 1998).

Il doit aussi exister un lien entre les concentrations mesurées dans le biomoniteur et celles retrouvées dans le milieu afin de pouvoir prédire les concentrations dans le milieu à partir de celles dans le biomoniteur ou vice-versa (Roy et Hare, 1998). De telles informations permettent aussi de développer et de tester des modèles mécanistiques de bioaccumulation (Croteau et al., 1998; Croteau et al., 2002).

Les biomoniteurs peuvent être utiles dans l'étude de la variation spatiale le long d'un gradient de contamination (Hare et Tessier, 1998; Borgmann et al., 2004) ou de variations temporelles pour faire un suivi des concentrations d'un contaminant avant et après la mise en place de techniques de remédiation (Croteau et al., 2002).

Afin de choisir une espèce biomonitrice, il importe de bien connaître l'écologie et le comportement de cet organisme, tout particulièrement son contact potentiel avec les contaminants présents dans les sédiments, l'eau et sa nourriture. Car ils répondent favorablement à l'ensemble des critères de sélection mentionnés ci-haut, les insectes aquatiques ont un excellent potentiel comme biomoniteur (Hare, 1992). De plus, la plupart des espèces d'insectes aquatiques, en étant relativement sédentaires, permettent l'évaluation de la contamination locale contrairement aux organismes comme les poissons, dont plusieurs espèces, se déplacent sur de grandes distances. Le fait que certaines espèces d'insectes vivant près de l'interface sédiment-eau prennent leurs métaux majoritairement de la colonne d'eau (Hare et al., 2001) et que d'autres les prennent des sédiments (Michaud et al., 2005) nous offre la possibilité d'avoir des biomoniteurs distincts pour ces deux compartiments.

1.3 Biodisponibilité des métaux

Ce ne sont pas toutes les formes d'un métal présentes dans l'eau ou les sédiments qui sont disponibles pour être assimilées par un animal (Luoma, 1983; Hare et Tessier, 1998; Luoma et Rainbow, 2008). De ce fait même, les corrélations entre la concentration totale d'un métal dans le milieu et sa concentration chez un animal sont souvent faibles (Campbell, 1995). Autant dans la colonne d'eau que dans les sédiments, les métaux se lient à une variété de ligands (Fig. 2). Les méthodes permettant de mesurer ou d'estimer les concentrations de métaux associés à différents ligands sont davantage développées pour l'eau (modèle de l'ion libre (FIAM), modèle du ligand biotique (BLM),...) que pour les sédiments (méthode acid volatile sulfide - simultaneously extracted metal, AVS-SEM).

Dans la colonne d'eau (Fig. 2), les métaux dissous peuvent être liés à des ligands inorganiques dissous (OH^- , CO_3^- , etc.), à des ligands organiques dissous (DOM; matière organique dissoute) ou même adsorbés à la matière en suspension. Dans les sédiments, les

éléments métalliques peuvent être liés aux particules sédimentaires ou dissous dans l'eau interstitielle. À la surface des sédiments (Fig. 2), dans la mince couche oxygène, les métaux se lient principalement aux oxydes de fer et de manganèse ou à la matière organique particulaire. Sous cette couche, en milieu anoxique, les métaux réduits se retrouvent principalement liés sous forme de sulfures. Les métaux qui sont dans l'eau interstitielle oxygène (Fig. 2) se lient aux mêmes types de ligands que dans la colonne d'eau oxygène. Dans l'eau interstitielle anoxique, des espèces réduites, comme des sulfures et des polysulfures, dominent (Wang et Tessier, 2009).

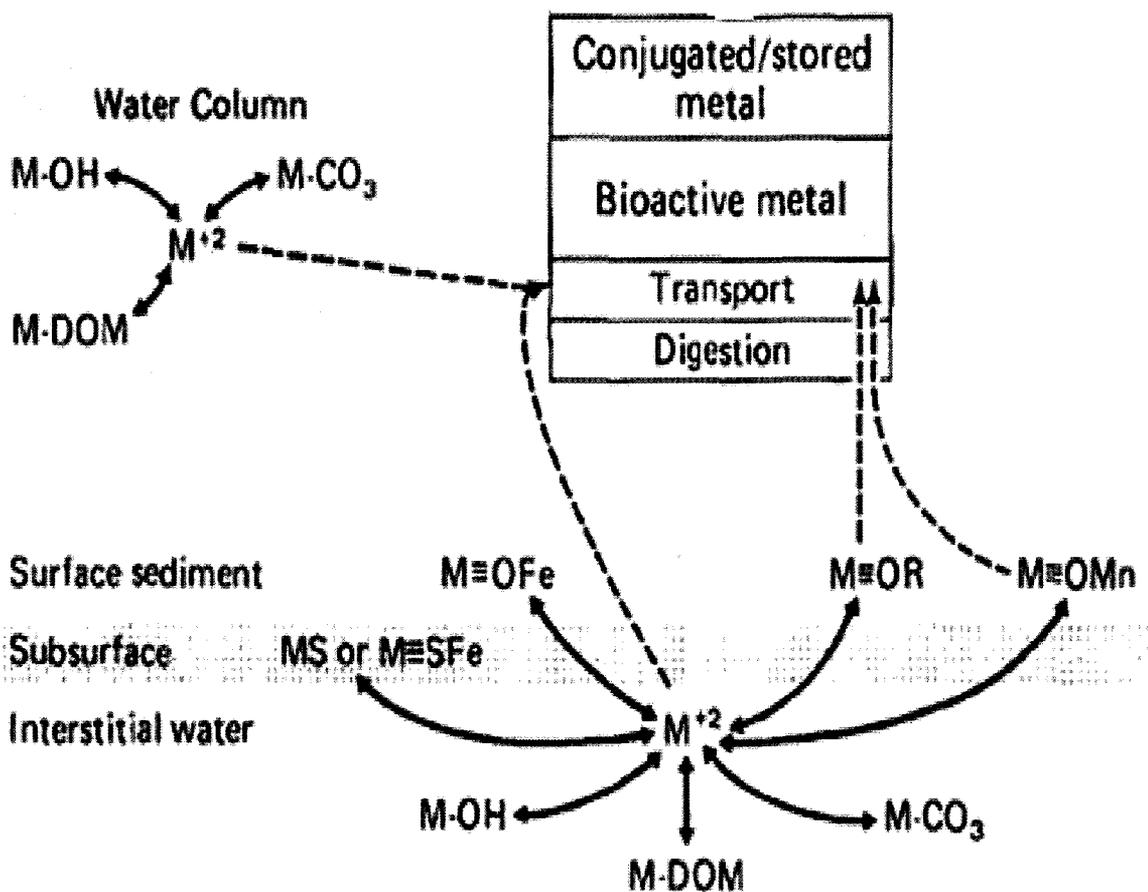


Figure 2. Schéma des réactions biogéochimiques déterminant la biodisponibilité des métaux pour les organismes benthiques (tirée et modifiée de Luoma, 1989) (M = métal, M^{+2} = ion libre du métal, DOM = matière organique dissoute, R = matière organique particulaire).

Le modèle de l'ion libre (FIAM) énonce que les principaux effets biologiques d'un métal (y compris la bioaccumulation) se feront en proportion directe avec la concentration de l'ion libre du métal dans l'eau (Campbell, 1995). La concentration de l'ion libre peut être obtenue à l'aide d'électrode sélective (pour certains métaux), par des colonnes d'échanges ioniques, ou être calculée à l'aide de logiciels de spéciation chimique (WHAM, ECOSAT, etc.) (Fortin et al., 2010). Le modèle du ligand biotique (BLM) quant à lui, permet de prédire la toxicité

d'un métal dissous pour un animal aquatique. Ainsi, la toxicité aiguë d'un métal peut être déterminée en considérant des sites de liaison métal-ligand qui se trouvent sur une structure biologique (ex. branchies chez les poissons) en contact avec l'eau dans lequel se trouve le contaminant (Paquin et al., 2002).

Diverses méthodes tentent de mesurer les concentrations de métaux potentiellement biodisponibles dans les différentes phases géochimiques des sédiments. Dans les sédiments oxygènes, les méthodes d'extraction différentielle permettent de séparer les différentes formes des métaux selon la force de liaison particules sédimentaires - métal (Tessier et al., 1979). Dans les sédiments anoxiques, le modèle de l'AVS-SEM permet d'estimer la biodisponibilité des métaux dans l'eau interstitielle anoxique (Di Toro et al., 1992). Le modèle de l'AVS-SEM se base sur le principe que dans les sédiments anoxiques le fer se lie au soufre sous forme de sulfure de fer (FeS) où le fer peut ensuite être substitué par un métal divalent (Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) qui a une constante de solubilité plus faible que celle pour le FeS. Donc, si après traitement avec acide chlorhydrique la somme des concentrations en métaux divalents extraits simultanément (Σ SEM) est plus grande que celle de l'AVS, ($SEM- AVS > 0$ ou $SEM/AVS > 1$) les métaux dans l'eau interstitielle deviennent potentiellement biodisponibles (Di Toro et al., 1992; De Jonge et al., 2009). Par contre, certains auteurs suggèrent que le modèle de l'AVS-SEM ne prédit pas forcément bien la bioaccumulation des métaux par les invertébrés benthiques (Hare et al., 2001; Lee et al., 2001; De Jonge et al., 2009).

1.4 Les voies d'entrées et l'essentialité des métaux

Les métaux peuvent entrer dans un animal à partir de l'eau, par le biais des surfaces respiratoires (ex., les branchies), ou, dans le cas de l'eau avalée, par le système digestif (Luoma, 1989). Les contaminants métalliques peuvent aussi être consommés par les animaux sous forme particulaire via l'alimentation. Ne pas reconnaître l'importance potentielle de ces deux voies d'entrées peut nous amener à sous-estimer l'exposition d'un animal aux métaux traces.

La proportion relative de chacune des voies d'entrée pour un animal et métal donné varie selon plusieurs facteurs, y compris les concentrations du métal dans l'eau et dans la

nourriture, le taux d'ingestion des particules, l'efficacité d'assimilation du métal dans le tractus digestif et les conditions physico-chimiques du milieu (pH, alcalinité, température, etc.) (Rainbow, 2002). Les concentrations en métaux mesurées dans les branchies d'un animal reflètent davantage le métal qui est entré via l'eau ambiante, tandis que les mesures obtenues dans les tissus du tractus digestif reflètent principalement le métal qui est entré par le biais de l'alimentation (Hare, 1992). Il faut cependant tenir compte que certains métaux peuvent circuler entre les parties du corps d'une larve. Une fois bioassimilé à l'intérieur d'un animal, les métaux traces se divisent en 2 grands groupes relativement à l'existence de fonctions biologiques nécessitant leur présence : les métaux essentiels (Cr, Cu, Mn, Zn...), nécessaires au métabolisme, et les métaux non essentiels (Cd, Hg, Pb...), sans fonction biologique connue pour les insectes. Les métaux essentiels tout comme les métaux non essentiels peuvent entraîner des effets néfastes et même létaux à des concentrations excédant les besoins métaboliques et la capacité d'excrétion ou de détoxification (Hare, 1992; Rainbow, 2002; Croteau et al., 2009) (Fig. 3).

Tous les animaux aquatiques possèdent des voies métaboliques pour assimiler les métaux dont ils ont besoin, soit à partir du milieu aqueux ambiant ou de leur alimentation (Rainbow, 2002). Il a été noté que certains métaux non essentiels comme le Cd peuvent utiliser les voies d'entrées des métaux essentiels, comme le cuivre ou le zinc (Hopkin, 1989), ou de cation majeur, comme le calcium (Hinkle et al., 1987; Craig et al., 1998). Les capacités de régulation à l'entrée, de détoxification et d'excrétion détermineront pour une espèce donnée sa capacité à vivre dans un environnement où la concentration en éléments métalliques sera élevée (Croteau et al., 2009).

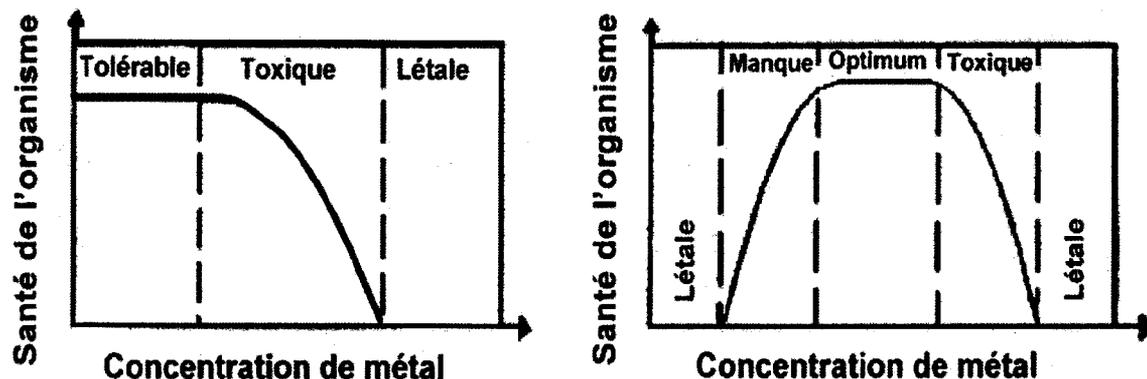


Figure 3. Impact sur la santé des organismes en fonction de la concentration des métaux non essentiels (gauche) et essentiels (droite) (tirée et modifiée de Chapman et al., 1996).

1.5 L'éphémère fousseuse *Hexagenia limbata*

La larve de l'éphémère *Hexagenia limbata* fût choisie par plusieurs chercheurs comme biomoniteur des métaux traces (Hare et al., 1991a; Beauvais et al., 1995; Currie et al., 1997; Michaud et al., 2005; Masson et al., 2010) et des contaminants organiques (Edsall, 1991; Corkum et al., 1997). Étant particulièrement sensible à l'eutrophisation, qui mène souvent à une diminution des concentrations en oxygène dans l'hypolimnion (Rasmussen, 1988), sa disparition et son retour dans la région des Grands Lacs furent un sujet de recherche bien documenté (Kolar et al., 1997; Schloesser et al., 2000; Edsall, 2001; Krieger et al., 2007).

Les éphémères sont des insectes présents sur la presque totalité du globe y compris les lacs du Québec. Parmi celles-ci, *Hexagenia limbata* est une espèce qui a une distribution très large en Amérique du Nord (Edmunds et al., 1976) et que l'on retrouve fréquemment sous forme larvaire dans les sédiments des lacs de la région de Rouyn-Noranda (L. Hare, données non-publiées; Masson et al., 2010). L'adulte, qui ne vit que quelques jours, pond ses œufs à la surface de l'eau (Corkum et al., 1997) et ces œufs rejoindront les sédiments où le développement est complété en plusieurs stades larvaires (Edsall, 2001). Les larves s'enfouissent ensuite dans les sédiments en creusant des tubes en forme de U (Charbonneau et Hare, 1998) qui leur servent de refuges (Hunt, 1953). Ces tubes atteignent des profondeurs de près de 10 cm (Charbonneau et Hare, 1998), bien en-dessous de la couche oxique de surface qui n'est souvent que de quelques millimètres de profondeur (Wang et al., 2001).

Comme les éphémères sont très sensibles aux conditions anoxiques (Hunt, 1953; Kolar et al., 1997), elles doivent constamment faire circuler de l'eau oxygénée de la colonne d'eau dans leur tube (Rasmussen, 1988; Wang et al., 2001). Des mouvements ondulatoires du corps et des branchies amènent l'eau oxygénée et créent un micro-habitat oxique (Gallon et al., 2008). La création d'une zone oxique dans leur habitat amène des modifications géochimiques dans les parois des tubes (profils redox du Fe, Mn, sulfures, etc.; Gallon et al., 2008). L'irrigation de ces tubes permet donc aux larves de se soustraire aux conditions anoxiques des sédiments qui leur sont dommageables ainsi que d'évacuer les fèces de leurs tubes. Les larves de *Hexagenia* se nourrissent principalement de particules sédimentaires contenant des détritiques de matière organique et de la microfaune qui y est associée. Bien que certaines études démontrent que les larves de plus petites tailles se nourrissent en filtrant les

particules provenant de la colonne d'eau, les larves de plus grandes tailles se nourrissent directement des sédiments de leur tube (Keltner et McCafferty, 1986). Les mouvements du corps et des branchies amènent ainsi les particules de sédiments vers leurs bouches où elles sont triées par les appendices buccaux selon la taille et la qualité nutritionnelle (Zimmerman et Wissing, 1980).

Les larves de *Hexagenia* peuvent être des agents de bioturbation très importants dans les lacs (Edsall et al., 1999; Matisoff et Wang, 2000). Charbonneau et Hare (1998) ont estimé que dans des lacs où *H. limbata* est abondante l'activité de cette espèce est responsable de la plupart des sédiments délogés par les insectes en zone littorale. Les métaux associés aux sédiments mis en suspension par les larves de *Hexagenia* peuvent alors être transférés vers la colonne d'eau et ainsi remis en circulation (Bartsch et al., 1999; Matisoff et Wang, 2000; Bachteram et al., 2005; Ciutat et al., 2007). De plus, les métaux présents dans ces larves peuvent aussi être transférés le long des chaînes trophiques par la prédation et vers le milieu terrestre dû à l'émergence des adultes (Beauvais et al., 1995; Currie et al., 1997).

2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

Cette étude vise à déterminer si l'éphémère fousseuse *Hexagenia limbata* est un biomoniteur efficace pour évaluer le niveau de contamination par les éléments traces des lacs de la région de Rouyn-Noranda, Québec. Ce biomoniteur sera utilisé pour déterminer la variabilité spatiale et temporelle des éléments traces dans ces lacs.

2.1. Variations spatiales

- Mesure des éléments traces dans l'eau et les sédiments récoltés dans 11 lacs afin de déterminer si ces lacs forment un gradient par rapport à leurs concentrations en As, Cd, Co, Cu, Mn, Se, V et Zn.
- Dans ces mêmes lacs, récolter les larves de *Hexagenia limbata* et disséquer cet insecte afin de mesurer ces éléments dans 3 parties (branchies, tractus digestif et reste du corps) afin d'estimer si ces éléments proviennent majoritairement de l'eau ou des sédiments.
- Déterminer s'il existe des corrélations entre les concentrations d'un élément dans le biomoniteur et celles dans les sédiments et dans l'eau afin d'évaluer son aptitude à servir comme biomoniteur des éléments dans ces compartiments.

2.2. Variations temporelles

- Comparer des concentrations actuelles et anciennes (il y a 20 ans) de Cd, Cu et Zn dans l'eau et les sédiments ainsi que chez le biomoniteur pour déterminer si les concentrations biodisponibles de ces métaux ont changé dans les lacs près de Rouyn-Noranda.

3. RÉGION D'ÉTUDE

La région de Rouyn-Noranda est située dans le nord-ouest de la province de Québec le long de la faille de Cadillac riche en métaux exploitables. Plusieurs lacs parsèment cette région et sont soumis à la contamination métallique atmosphérique (Cd, Cu, Pb, Zn, ...) des industries minières qui depuis près d'un siècle exploitent les ressources naturelles telles que: le cuivre, l'or, l'argent et le zinc (Lafèche et al., 1991). Bien que les rejets annuels de métaux aient diminué au cours des dernières décennies, les sédiments des lacs de la région contiennent d'importantes concentrations en contaminants (Hare et Tessier, 1998). Nous avons sélectionné 11 lacs à différentes distances de la raffinerie Horne, située à Rouyn-Noranda, dans lesquels nous avons récolté des échantillons de sédiments, d'eau et de larves de *Hexagenia limbata*. Nous nous assurons de choisir des lacs pour lesquels nous possédions déjà des mesures environnementales antérieures (Hare et al., 1989; Hare et Tessier, 1998; L. Hare, données non-publiées) pouvant permettre de déterminer s'il existe des variations temporelles dans les concentrations des métaux traces.

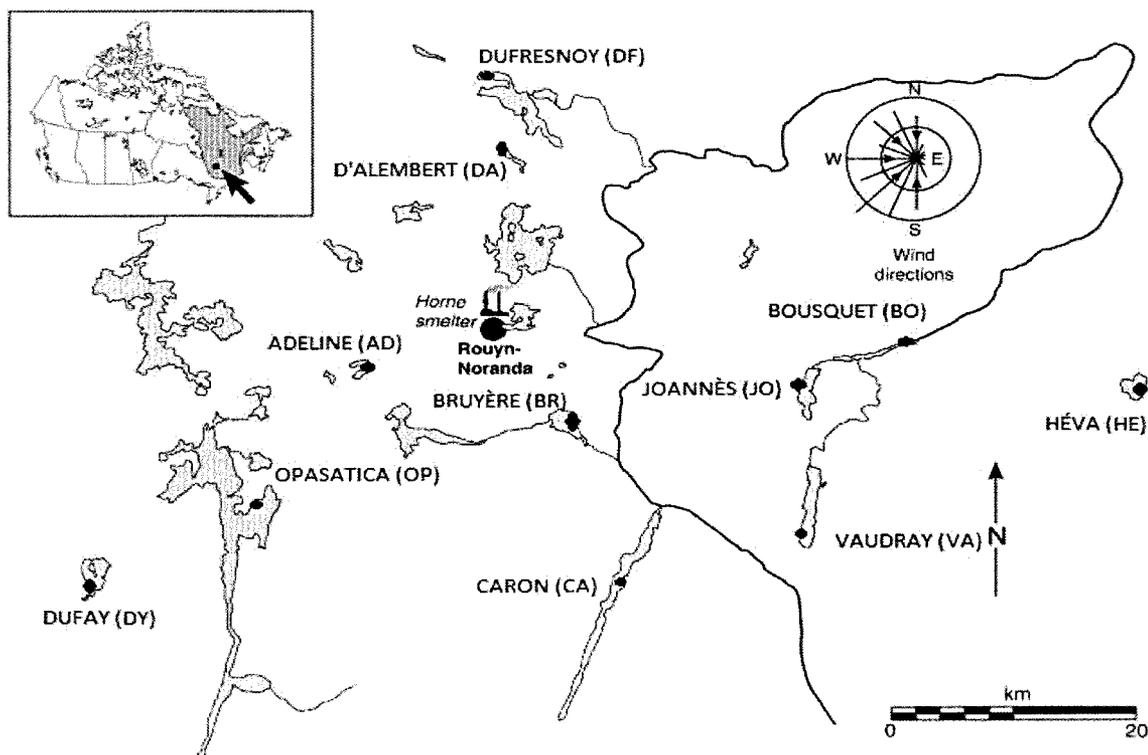


Figure 4. Carte de la région de Rouyn-Noranda avec localisation des lacs et des sites (points noirs) pour chacun des lacs échantillonnés avec leurs noms et les codes d'identification à 2 lettres (tirée et modifiée de Borgmann et al., 2004).

4. MÉTHODOLOGIE

Une méthodologie plus détaillée se retrouve dans l'article se situant dans la deuxième partie de ce mémoire. Nous ne donnerons ici qu'un survol des principaux points des méthodes employées.

Les sédiments ont été récoltés au même site que les larves de *H. limbata* (le même que l'échantillonnage de la période 1987-1992), dans chaque lac à l'aide d'une benne Ekman. De ces bennes, nous avons prélevé 3 échantillons de sédiments de surface oxygènes (≈ 0.5 cm de profondeur; à l'aide d'une carte en plastique) et 6 carottes de 5 cm de longueur par 2.5 cm de diamètre (à l'aide d'une seringue dont le bout fût préalablement coupé). Trois de ces carottes ont été placées dans des petits sacs qui étaient stockés par la suite dans un grand sac rempli de sédiments anoxiques afin de les protéger de l'oxydation; ces échantillons ont servi pour les analyses d'AVS et de SEM. Nous avons récolté 3 échantillons d'eau filtrée (à l'aide de dialyseurs (Croteau et al., 1998) laissés en place dans la colonne d'eau durant 3 jours) et une vingtaine de larves de *Hexagenia limbata* (à l'aide d'une benne Ekman) dans chaque lac. Tous les échantillons ont été gardés à une température d'environ 4 °C pour transport au laboratoire. Le soir même de la récolte, les larves de *H. limbata* ont été mesurées (largeur de la tête et longueur sans cerci) et disséquées pour obtenir 4 fractions : branchies, sédiments du tractus, tissus du tractus et le reste du corps (n = 5 échantillons de parties provenant de 3 larves de taille similaire). Ces échantillons furent ensuite congelés avant les analyses en éléments traces réalisées au retour à l'INRS. Les échantillons de sédiments et de larves ont été digérés à la température de la pièce (HNO_3 suivi de H_2O_2). Les analyses de métaux ont été réalisées par un spectromètre de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) ou par un spectromètre d'émission atomique à couplage inductif (ICP-AES). Des mesures de carbone organique, carbone inorganique, des principaux cations et anions ainsi que des éléments traces ont été réalisées sur les échantillons d'eau filtrée in situ. Nous avons pu ensuite, à l'aide d'un modèle de spéciation chimique WHAM (Windermere Humic Aqueous Model VI; Tipping 2002; Lofts et Tipping, 2011; Claude Fortin, communications personnelles) estimer les concentrations des ions libres des métaux dans l'eau des lacs. Les concentrations en acides humiques et fulviques ont été calculées en assumant que la matière organique contient 50% de carbone que le ratio acide humique/fulvique est de 1:9 et que tous le carbone organique est présent sous la forme de substances humiques (Hare et Tessier, 1998). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le programme Systat version 11 sur les valeurs brutes (non-transformées).

5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

5.1 Variations spatiales

5.1.1 Concentrations des éléments traces dans l'eau et les sédiments

Les concentrations des éléments traces dans les échantillons d'eau filtrée nous permettent de confirmer l'existence d'un gradient pour les 11 lacs visités en mai et juin 2009 (Tableau 1). Les lacs les plus contaminés (BO, BR, CA, JO, VA) se situent à l'est de la fonderie Horne, localisée dans la ville de Rouyn-Noranda (Figure 4), d'où proviennent historiquement les émissions atmosphériques. En effet, les vents dominants soufflent majoritairement de l'ouest et transportent donc les rejets atmosphériques vers les lacs situés à l'est de la fonderie (Borgmann et al., 2004). L'étude de la gamme des variations inter-lacs (max/min) permet de constater que les gradients sont plus importants pour le Cd, Co, Mn, Tl et Zn dissous avec des valeurs max/min supérieures à 10, tandis que les variations dans les lacs en As, Ba, Cu, Ni, Pb, Se, Ti et V dissous sont plus faibles avec des rapports max/min qui sont inférieurs à 10. Les concentrations en anions, cations, carbone inorganique et organique ainsi que les valeurs de pH permettant de calculer l'ion libre des métaux sont présentées en annexe (Tableau 7).

Les concentrations des éléments traces dans les sédiments (Tableau 2) confirment de nouveau l'existence de gradients. Le gradient sédimentaire pour l'As (10), est plus fort que celui mesuré dans l'eau (4; Tableau 1). Par contre, dans le cas de Cd, Co, Mn et Zn, les valeurs max/min dans l'eau sont plus élevées que celles des sédiments et celles du Cu et V sont semblables dans les deux milieux. Les concentrations en éléments traces ne diffèrent généralement que très peu entre les échantillons pris à la surface des sédiments (couche oxique; Tableau 2) et celles de la carotte des 5 premiers centimètres (Tableau 9 en Annexe). Borgmann et al. (2004) ont aussi observé une telle tendance dans les lacs de la même région. Toutefois, les valeurs pour le Mn montrent un très grand écart entre la couche oxique et les carottes de sédiment. Ceci est fort probablement attribuable à la mobilité diagénétique reconnue au Mn qui mène à des concentrations d'oxydes de manganèse qui sont généralement beaucoup plus importantes dans les sédiments oxiques de surface.

Tableau 1. Concentrations en éléments traces dissous (moyenne±écart-type; nmol/L) et pH dans de l'eau surnageant récoltée dans la colonne d'eau de 11 lacs de la région de Rouyn-Noranda, Québec. Le nom des lacs est à la Figure 4.

LACS	pH	As	Ba	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Pb	Se	Ti	Tl	V	Zn
AD	7.6	8±0.1	35±1	0.31±0.01	1.1±0.5	67±2	65±8	12±1	2.3±0.7	2.1±0.3	32±13	0.034±0.013	13.0±1.7	21±8
BO	6.5	18±0.3	46±2	1.06±0.09	5.8±0.3	58±2	510±15	24±2	2.8±0.5	3.0±0.2	48±13	0.038±0.012	16.4±3.4	110±11
BR	7.8	13±1.0	57±4	0.71±0.12	3.6±0.9	126±8	207±89	24±4	3.6±1.2	4.0±0.1	70±28	0.046±0.007	21.9±8.6	70±23
CA	7.2	16±0.4	52±1	0.80±0.03	1.7±0.1	88±2	249±3	20±1	1.4±0.2	14.9±0.4	26±3	0.037±0.003	10.1±2.2	66±1
DA	7.5	15±0.4	26±3	0.57±0.03	0.8±0.1	92±6	235±112	12±2	6.9±5.0	2.6±0.3	37±19	0.020±0.008	12.8±4.5	52±19
DF	6.8	11±0.1	30±1	0.20±0.01	0.6±0.1	46±1	31±3	10±1	1.4±0.6	1.9±0.1	20±4	0.018±0.010	10.4±1.9	27±9
DY	7.6	7±0.3	33±2	0.31±0.06	0.9±0.4	38±5	143±27	14±1	1.1±0.3	1.7±0.1	31±13	0.020±0.001	8.9±1.2	13±5
HE	6.5	12±0.3	69±5	0.56±0.08	3.6±0.1	44±15	253±2	28±1	1.8±0.2	2.1±0.1	29±5	0.033±0.003	11.6±2.8	50±5
JO	7.2	20±0.1	38±1	0.88±0.01	1.7±0.4	67±1	310±14	29±21	1.8±0.1	3.3±0.3	26±4	0.021±0.003	9.5±2.0	56±1
OP	7.6	5±0.1	51±1	0.10±0.01	0.6±0.1	44±2	51±6	18±2	1.2±0.1	1.9±0.2	16±7	0.016±0.003	10.5±3.5	8±3
VA	6.8	13±0.3	46±1	0.85±0.07	0.4±0.1	52±3	74±8	16±1	1.1±0.1	3.0±0.1	18±2	0.015±0.001	7.7±2.3	94±30
MAX/MIN		4.0	2.7	10.6	14.5	3.3	16.5	2.9	6.3	8.8	4.4	24.3	2.8	13.8

Tableau 2. Concentrations en éléments traces dans la couche superficielle oxyde (0-0.5 cm) (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) des sédiments des lacs de la région de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4. (s.l.d.; sous la limite de détection avant correction pour la taille des particules et n'est pas inclus dans le calcul de max/min, voir ci-dessous).

LACS	As	Cd	Co	Cu	Mn	V	Zn
AD	49±3	18±0.5	173±60	979±72	8850±1101	530±38	1640±228
BO	81±9	17±3.9	214±20	611±10	7762±1136	324±12	1810±198
BR	67±10	11±1.0	176±6	777±107	14625±1230	473±29	1884±187
CA	95±9	11±1.4	203±9	494±23	16415±780	534±24	2310±194
DA	76±9	23±1.5	101±5	899±86	7442±489	276±26	1254±71
DF	99±18	7±0.3	210±10	532±27	24689±6235	573±28	2364±206
DY	30±4	9±0.9	166±10	410±12	15899±1377	364±32	1543±141
HE	73±55	s.l.d.	336±124	264±38	6701±4264	191±44	1533±907
JO	292±74	32±3.1	208±20	674±33	44771±1891	447±40	2665±245
OP	42±6	6±0.3	221±10	660±55	26491±3483	647±52	2161±91
VA	148±12	22±3.7	310±23	458±16	16571±5435	561±33	1843±108
max/min	10.0	5.3	3.3	3.7	6.7	3.4	2.1

Il est à noter que les concentrations en éléments traces pour les sédiments des lacs HE et VA ont été corrigées selon la proportion de la masse des particules plus petites que 20 µm car les échantillons des sédiments provenant de ces deux lacs sont majoritairement sablonneux par rapport à ceux des autres lacs qui sont principalement constitués de particules très fines. Nous avons aussi mesuré les éléments traces dans l'eau et les sédiments provenant de trois autres lacs ayant des concentrations en éléments traces encore plus élevées (lacs Rouyn, Osisko, et Marlon) que celles indiquées dans les tableaux 1 et 2. Cependant, nous ne les avons pas retenus car aucune larve de *Hexagenia* n'a été trouvée dans ces trois lacs.

5.1.2 Concentrations des éléments traces dans les larves de *Hexagenia limbata*

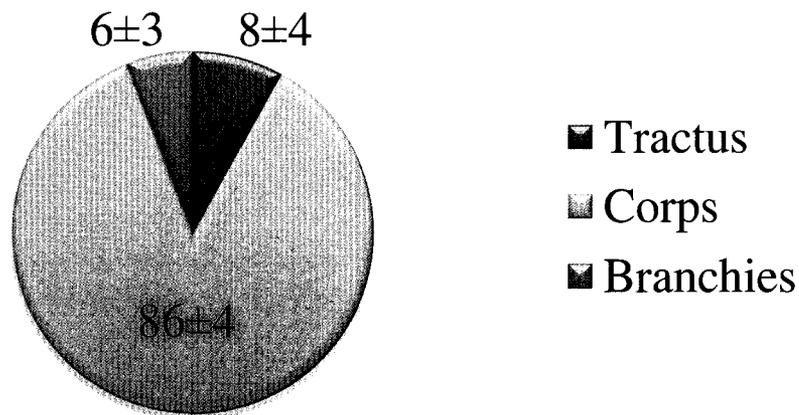
Le Tableau 3 présente les concentrations en éléments traces chez les larves de *H. limbata* entières. Ces valeurs représentent la somme des valeurs mesurées dans chacune des parties des larves (Tableau 10, en Annexe). Les concentrations du Ni étaient en dessous de la limite de détection pour ce métal.

Tableau 3. Concentrations en éléments traces (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) dans les larves entières (reconstituées) de *Hexagenia limbata* provenant de 11 lacs de la région de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.

LACS	Concentrations en éléments traces dans la larve entière reconstituée							
	As	Cd	Co	Cu	Mn	Se	V	Zn
AD	12±5	243±56	9±4	295±36	1671±1772	87±4	24±8	3902±667
BO	89±48	27±9	18±4	287±35	683±249	91±9	116±47	2692±348
BR	34±19	201±74	29±6	464±75	10847±3292	91±5	47±17	3131±445
CA	37±12	59±18	15±7	285±63	2551±1792	137±15	33±9	2829±264
DA	28±6	105±49	8±2	224±15	5250±1871	78±3	25±7	3547±760
DF	16±4	85±29	14±2	181±13	6341±3113	44±3	28±5	3133±434
DY	11±8	66±48	10±3	232±44	1057±604	93±9	38±30	3413±991
HE	44±22	29±15	15±2	224±38	291±100	91±9	59±21	2534±405
JO	149±39	240±104	20±2	376±75	6886±1332	138±5	108±31	3509±353
OP	15±3	78±14	41±6	232±26	24119±4065	64±4	56±3	2815±314
VA	42±4	91±30	14±3	451±20	2801±746	131±8	38±14	2920±426
max/min	14	9	5	3	83	3	5	2

Les variations entre les lacs dans les concentrations en éléments traces dans les larves entières sont assez faibles pour les éléments essentiels comme le Co, le Cu, le Se, le V et le Zn avec des valeurs de max/min de 5 et moins. Les valeurs comparables pour les éléments traces non-essentiels comme l'As et le Cd sont plus fort et varient entre les lacs par des facteurs de 14 et 9 (respectivement). Le Mn est un cas particulier, avec une valeur de max/min de 83. En effet, les rapports max/min en Mn (Tableau 10 en Annexe) sont extrêmement élevés dans le cas des parties « externes », c'est-à-dire les branchies et le corps (245 et 92, respectivement), mais beaucoup plus faibles dans le cas du tractus digestif (8) qui n'est pas recouvert d'exosquelette. Ceci peut s'expliquer par une quantité plus ou moins importante d'oxydes de manganèse qui est adsorbée ou précipitée sur les parties recouvertes d'exosquelette (branchies et corps). L'importance de ces processus dans chacun des lacs dépend des concentrations de Fe et de Mn dans les eaux interstitielles, du comportement fouisseur des larves et de la nature des sédiments. En fait, Hare et al. (1991b) ont expliqué des variations dans les concentrations en Pb chez les larves de *Hexagenia rigida* par la quantité d'oxydes de Fe et de Mn visible sur leur exosquelette (le Pb étant coprecipité avec ces oxydes). Même si le Mn adsorbé à l'exosquelette est à considérer comme métal potentiellement disponible pour un prédateur, il n'est pas proprement dit bioaccumulé, parce qu'il n'est pas bioassimilé par l'insecte.

Contribution à la masse totale (%)



Contribution de chaque fraction à la charge totale par élément

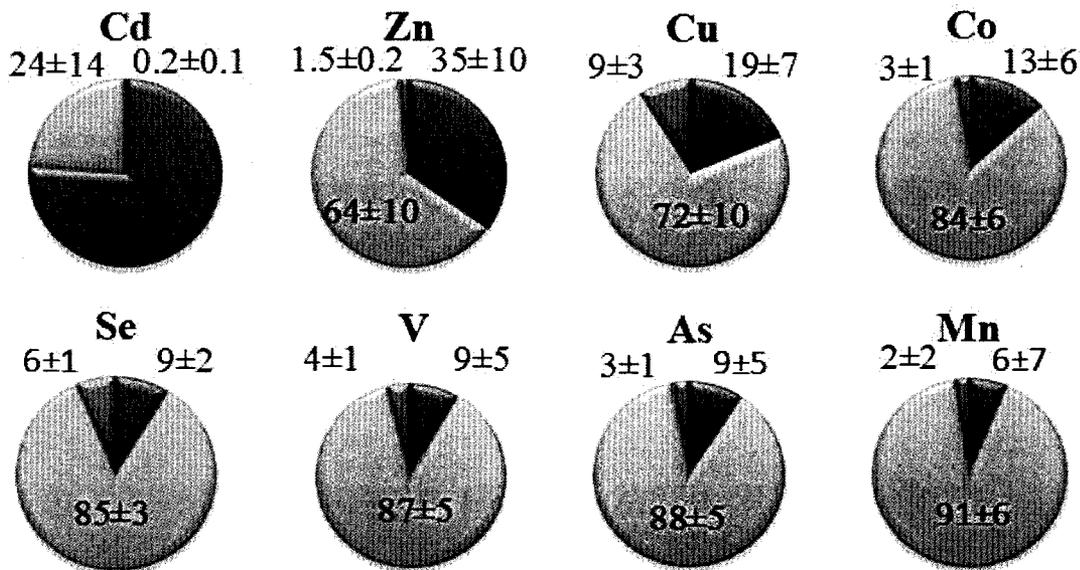


Figure 5. Moyenne et écart-type (pour l'ensemble des lacs) de la contribution à la charge totale des éléments traces dans les différentes parties des larves de *Hexagenia limbata*.

La figure 5 nous montre la contribution moyenne (%) de chacune des parties de la larve de *H. limbata* par rapport au poids total et la charge totale en éléments traces. Les branchies et les tissus du tractus digestif ne comptent que pour respectivement 6±3% et 8±4% du poids total d'une larve tandis que le reste du corps représente 86±4% de la masse. Pour tous les éléments sauf le cadmium, la majorité de la charge se retrouve dans le reste du corps. Dans le cas du cadmium, les tissus du tractus digestif renferment, en moyenne, 76±14% de la charge totale. La contribution des tissus du tractus est aussi importante, mais à un moindre niveau, pour le Zn (35±10%), le Cu (19±7%) et le Co (13±6%). La contribution des branchies en éléments traces ne dépasse pas 6±3%, proportion de la masse des branchies chez une larve, excepté pour le Cu (9±3%). Si nous acceptons l'hypothèse que les éléments présents dans les tissus du tractus digestif proviennent de la nourriture, les proportions relatives dans

cette partie peuvent nous indiquer l'importance de cette voie d'entrée pour un élément donné. Nos résultats suggèrent que la grande majorité du Cd provient de la nourriture et que l'ingestion de sédiments est une source d'éléments traces, mais à moindre degré, pour le Zn, le Cu et le Co (Figure 5). De la même façon, si on présume qu'une proportion élevée d'un métal dans les branchies indique une source aqueuse pour ce métal, seul le Cu aurait une entrée importante à partir de l'eau bien que la proportion de cuivre présente dans les branchies n'est que de $9\pm 3\%$. Il est toutefois à noter que les éléments bioassimilés peuvent être transférés entre les différentes parties d'une larve, surtout vers le reste du corps, suite à la bioassimilation.

Les éléments traces présents dans les sédiments du tractus d'une larve ne sont pas, tant qu'ils n'ont pas franchi la barrière cellulaire du tractus digestif, véritablement bioassimilés par l'organisme. L'ensemble des sédiments ingérés par une larve de *Hexagenia* transitent par le tractus digestif et la proportion relative de chaque élément qui sera assimilée varie. La charge totale en éléments dans les sédiments du tractus doit être prise en compte dans le cas des modèles de transfert de contaminants vers les niveaux trophiques supérieurs. La charge en éléments traces des sédiments du tractus sera alors transférée avec celle de la larve entière vers le prédateur. Il est toutefois à noter que les sédiments présents dans le tractus digestif d'une proie ingérée ne seront pas complètement bioassimilés par le prédateur et que donc la charge totale en éléments d'une proie en y incluant la charge relative aux sédiments du tractus est une surestimation de la charge potentiellement biodisponible.

Dans le cas des relations entre les concentrations dans le milieu et dans la larve pour déterminer la voie d'entrée, les sédiments du tractus ne doivent pas être pris en compte. Nous avons donc procédé à l'échantillonnage des sédiments du tractus car la dépuración complète des larves prend plus de 48 heures (observations personnelles) et occasionne un stress important pour les larves étant hors du milieu naturel pour une longue durée. Nous avons mesuré les concentrations en éléments traces des sédiments du tractus (Tableau 11) et nous avons calculé leur contribution pour chacun des éléments. Ces valeurs sont comprises entre 15 et 52%. Il est important de noter que ces valeurs sont des sous-estimations des pourcentages réelles car une quantité plus importante de sédiments était présente dans le tractus et qu'une fraction de ces sédiments a été perdue lors de la dissection (Tableau 4). Ne pas tenir compte de la charge des sédiments du tractus peut donc

amener une erreur importante dans l'estimation des corrélations entre les concentrations de la larve et de son milieu vu leurs importances relatives.

Tableau 4. Contribution (en pourcentage) des sédiments du tractus à la charge totale en cet élément dans les larves de *Hexagenia limbata* (moyenne±écart-type)

Éléments	Contribution des sédiments du tractus à la charge totale (%)
As	28±9
Cd	17±8
Co	52±9
Cu	23±8
Mn	37±19
V	44±15
Zn	15±5

5.1.3 Comparaisons entre les concentrations de métaux traces chez *Hexagenia limbata* et celles dans les sédiments anoxiques : modèle SEM-AVS

Le modèle SEM-AVS a été développé pour permettre d'estimer la biodisponibilité de certains métaux traces (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) dans l'eau interstitielle anoxique. Selon cette approche, suite à la digestion des sédiments anoxiques avec de l'acide hydrochlorique froid, si la somme des concentrations en métaux divalents extraits simultanément (Σ SEM) est plus grande que celle de l'AVS (Σ SEM-AVS > 0), les métaux qui réagissent avec l'AVS devraient être libres dans l'eau interstitielle anoxique et donc potentiellement biodisponibles (Di Toro et al., 1992; De Jonge et al., 2009). Les larves de *Hexagenia* vivent dans des tubes allant sous la couche oxiqne des sédiments et peuvent être en contact avec l'eau interstitielle des sédiments anoxiques, par exemple, durant le creusage de leurs tubes, ainsi qu'avec l'eau de la colonne d'eau qu'elles font circuler à travers leur tube afin d'obtenir de l'oxygène (Gallon et al., 2008). Nous avons testé cette approche pour déterminer si elle peut nous permettre de statuer sur la disponibilité potentielle du Cd, du Cu et du Zn sédimentaire. Nous n'avons pas testé cette approche pour le Ni et le Pb, car chez *H. limbata* les valeurs de Ni étaient en dessous de la limite de détection et la digestion employée pour les larves et les sédiments n'était pas efficace pour le Pb.

Dans tous les lacs étudiés, il y a des métaux traces qui sont potentiellement disponibles pour les larves de *H. limbata* dans l'eau interstitielle des sédiments anoxiques, c'est-à-dire

$[\Sigma\text{SEM}]-[\text{AVS}] > 0$ (Tableau 5). Il est à noter que dans nos calculs des concentrations des SEM aux lacs HE et VA nous avons effectué la même correction, quant à la taille des particules, que nous avons appliquée aux concentrations totales des métaux (voir ci-dessus).

Selon la théorie, il devrait être possible de déterminer lesquels des métaux sont potentiellement biodisponibles dans l'eau interstitielle en soustrayant successivement aux mesures d'AVS les concentrations de SEM_{Cu} , SEM_{Pb} , SEM_{Cd} , SEM_{Zn} , suivi par SEM_{Ni} (Tableau 12) jusqu'à l'épuisement de l'AVS. Cette séquence dépend des produits de solubilité ($\log K_{\text{sp}}$) de ces métaux avec le S^{2-} , qui sont de -9.23 pour le Ni, -9.64 pour le Zn, -14.10 pour le Cd, -14.67 pour le Pb et de -22.19 pour le Cu (Di Toro et al., 1992). Selon cette logique, plus le K_{sp} est faible, plus le métal concerné est piégé par l'AVS. Les métaux restant après l'épuisement de la quantité d'AVS disponible pour piéger les métaux seront considérés comme potentiellement biodisponibles. Nos résultats suggèrent que le Ni n'est pas précipité en NiS et donc est potentiellement biodisponible dans l'eau interstitielle anoxique de tous les lacs. Afin de tester cette hypothèse, les concentrations en SEM_{Ni} pourraient être comparées avec celles du Ni chez *H. limbata*. Cependant, ces dernières ne sont pas disponibles car elles étaient en dessous de la limite de détection.

Tableau 5. Concentrations (moyenne±écart-type; $\mu\text{mol/g}$ poids sec) en SEM total (ΣSEM des concentrations en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn) et en AVS des sédiments (0-5 cm), ainsi que la différence $\Sigma\text{SEM}-\text{AVS}$ et la normalisation de cette différence pour la fraction de carbone organique sédimentaire, f_{CO} , $(\Sigma\text{SEM}-\text{AVS}) / f_{\text{CO}}$. Le pourcentage des sédiments en CO est estimé à 5% (Isabelle Proulx, INRS-ETE, données non-publiées) pour l'ensemble de nos lacs. Le nom des lacs se trouve à la Figure 4.

LACS	ΣSEM	AVS	$\Sigma\text{SEM}-\text{AVS}$	$(\Sigma\text{SEM}-\text{AVS}) / f_{\text{CO}}$
AD	1.23±0.30	0.24±0.04	1.00	19.9
BO	2.43±0.79	1.60±0.63	0.83	16.6
BR	1.06±0.27	0.09±0.03	0.97	19.3
CA	1.45±0.49	0.44±0.02	1.01	20.3
DA	1.45±0.11	0.79±0.01	0.66	13.4
DF	1.16±0.29	0.17±0.05	0.99	20.0
DY	1.20±0.17	0.59±0.12	0.61	12.3
HE	0.65±0.44	0.04±0.01	0.61	12.3
JO	1.69±0.61	0.44±0.05	1.25	25.1
OP	1.34±0.34	0.18±0.01	1.16	23.3
VA	1.28±0.18	0.20±0.04	1.08	21.8

Pour les lacs Bousquet, Caron, D'Alembert, Dufay, Héva et Vaudray, une partie du Zn est aussi potentiellement biodisponible. Dans le cas des lacs Adeline, Bruyère, Dufresnoy, Joannès et Opasatica, le Ni, le Zn, le Cd, le Pb et une partie du Cu sont potentiellement biodisponibles. Donc, pour ces derniers lacs, où la théorie suggère que tout le SEM_{Cd} et le SEM_{Zn} devraient être biodisponibles, leurs concentrations devraient être corrélées avec celles du Cd et du Zn, respectivement, chez *H. limbata*. Cependant, ceci n'est pas le cas ($p > 0.05$, Tableau 6), ce qui suggère que : soit ces formes de Cd et de Zn ne sont pas la source majeure de ces métaux pour les larves, soit que d'autres phases sédimentaires que les sulfures sont impliquées dans le piégeage du Cd et du Zn. En fait, il est connu que la matière organique sédimentaire peut aussi lier les métaux traces les rendant ainsi moins biodisponibles (Tessier et al., 1993; Di Toro et al., 2005). Afin de tenir compte des concentrations de la matière organique sédimentaire dans nos lacs, nous avons normalisé les valeurs de $\Sigma SEM-AVS$ par rapport à la fraction de carbone organique des sédiments en calculant le rapport $(\Sigma SEM-AVS)/f_{CO}$. Selon Di Toro et al. (2005), si les valeurs de ce rapport sont inférieures à $150 \mu mol/g$, les métaux traces sédimentaires ne devraient pas causer de toxicité chronique. Nous avons pour tous les lacs des valeurs entre 10 et $25 \mu mol/g$, qui sont bien inférieures à ce seuil (Tableau 5). Cependant, les valeurs du rapport $(\Sigma SEM-AVS)/f_{CO}$ ne nous renseignent pas sur le potentiel de bioaccumulation des métaux associés à la phase solide des sédiments.

Certains chercheurs suggèrent que le modèle SEM-AVS ne prédit pas forcément bien la bioaccumulation des métaux pour les invertébrés benthiques qui irriguent leurs tubes afin de maintenir des conditions oxygènes pour satisfaire leurs besoins métaboliques comme le font les larves de *Hexagenia* (Warren et al., 1998; Lee et al., 2001; De Jonge et al., 2009). Dans un tel cas, les invertébrés auraient peu de contact avec l'eau interstitielle anoxique (Gallon et al., 2008). Ceci expliquerait le manque de corrélation entre les concentrations du Cd et du Zn chez *H. limbata* et celles de SEM_{Cd} et de SEM_{Zn} , respectivement.

Il a été suggéré que l'utilité principale de l'approche SEM-AVS serait en tant qu'indice de qualité des sédiments, et ce, surtout à des sites où les concentrations de ΣSEM sont inférieures à celles de l'AVS. À de tels sites, la théorie suggère que les invertébrés fouisseurs ne devraient pas subir d'effets toxiques dus aux métaux divalents (Cd, Cu, Ni, Pb et Zn). Cependant, plusieurs études démontrent que les animaux benthiques accumulent les métaux traces même quand ces derniers devraient être entièrement piégés par l'AVS

(Warren et al., 1998; Hare et al., 2001; Lee et al., 2001), ce qui indique que les animaux doivent accumuler leurs métaux à partir de compartiments autres que l'eau interstitielle anoxique (par exemple, dans l'eau surnageant ou de leur nourriture). À des concentrations de Σ SEM supérieures à celles de l'AVS, l'approche SEM-AVS semble peu prometteuse pour prédire la bioaccumulation (selon nos résultats) ou les effets néfastes des métaux sédimentaires (Nguyen et al., 2011). D'autres approches seraient alors à considérer. Pour mieux comprendre les voies d'entrées des éléments chez la larve de *Hexagenia*, il est utile d'explorer les relations entre les concentrations biodisponibles des éléments dans l'eau et les sédiments et celles dans les différentes parties des larves.

5.1.4 Comparaisons entre les concentrations d'éléments traces chez *Hexagenia limbata* et celles dans l'eau surnageant et les sédiments oxygènes

Le cuivre est le seul élément pour lequel la contribution des branchies était plus élevée ($9\pm 3\%$) que la contribution pour la masse des branchies par rapport à la masse totale d'une larve ($6\pm 3\%$; Figure 5). Nous avons donc émis l'hypothèse que l'eau pouvait être une voie d'entrée du Cu chez les larves. Pour tester cette hypothèse, les concentrations mesurées en Cu dans les branchies et dans les larves entières ont été comparées à celles mesurées dans l'eau surnageant. Pour ce qui est des concentrations en métaux dans l'eau, selon le FIAM, la bioaccumulation d'un métal comme le Cu serait mieux prédite par la concentration de l'ion libre du métal que par la concentration totale dissoute. Le tableau 6 nous montre cependant que les corrélations entre l'ion libre du Cu et les concentrations du Cu dans les branchies ainsi que dans les larves entières sont non-significatives ($p > 0.05$). Cependant, il est à noter que comme le cuivre est un élément essentiel, il est aussi possible que ce métal soit transféré vers l'ensemble du corps après sa prise en charge par les structures respiratoires et que nous ne puissions pas obtenir une relation significative entre les concentrations du Cu chez les branchies et celles du Cu^{2+} dans l'eau. Il est aussi à noter qu'il n'y a qu'une faible variation inter-lacs dans les concentrations en Cu dans l'eau ($\text{max/min} = 3.4$) et chez les larves entières ($\text{max/min} = 3.0$), ce qui témoigne de l'homéostasie en ce qui concerne le Cu et limite la possibilité d'obtenir des relations significatives entre les concentrations du Cu chez *H. limbata* et celles dans l'eau.

Une autre explication possible est que le Cu entre majoritairement par les sédiments, car $19\pm 7\%$ du Cu se trouvait dans les tissus du tractus digestif (Figure 5). Cependant, les concentrations de Cu dans les tissus du tractus de *H. limbata* et celles des sédiments

prélevés du tractus ne sont pas corrélées quoique la probabilité (0.09) soit proche de la limite arbitraire de 0.05 (Tableau 6). De nouveau, les faibles gammes de variations inter-lacs dans les [Cu] chez *H. limbata* et dans les sédiments oxiques (facteurs de 3.7) ne se prêtent pas à des corrélations fortes entre ces variables.

Tableau 6. Coefficients de corrélation (r^2) et probabilités (p; entre parenthèses) des relations linéaires entre les concentrations des éléments traces dans les parties des larves (branchies ou tractus), ou les larves entières reconstituées ('larves'), et celles du milieu. Les relations significatives (< 0.05) ont été soulignées. Le terme 'tractus' se rapporte aux tissus du tractus digestif. Les valeurs utilisées pour l'eau sont l'ion libre pour les métaux, et la concentration totale dissoute pour l'As. Les valeurs utilisées pour les sédiments sont celles pour les sédiments oxiques de surface. Les noms des lacs se trouvent à la Figure 4.

LACS	larves vs eau	branchies vs eau	larves vs sédiments	tractus Vs sédiments	larves vs séd. tractus	tractus vs séd. tractus	séd. tractus vs sédiments
As	<u>.648 (.003)</u>	<u>.549 (.009)</u>	<u>.701 (.001)</u>	<u>.451 (.024)</u>	<u>.618 (.004)</u>	<u>.549(.009)</u>	<u>.578 (.007)</u>
Cd	.203 (.164)	.280 (.094)	.228 (.163)	.076 (.439)	<u>.563 (.008)</u>	<u>.709 (.001)</u>	.000 (.972)
Co	.043 (.540)	.002 (.887)	.015 (.717)	.138 (.261)	.195 (.173)	.136 (.264)	.001(.929)
Cu	.137 (.263)	.001 (.911)	.038 (.568)	.039 (.558)	.150 (.239)	.281 (.094)	<u>.623 (.004)</u>
Mn	.023 (.659)	.050 (.509)	.196 (.172)	.073 (.421)	.319 (.070)	.166 (.214)	<u>.726 (<.001)</u>
V	.028 (.622)	.027 (.632)	.065 (.449)	.022 (.664)	.019 (.668)	.044 (.538)	<u>.441 (.026)</u>
Zn	.003 (.879)	.026 (.633)	.004 (.853)	.064 (.454)	.074 (.417)	.004 (.848)	.016 (.708)

Pour aucun des métaux traces étudiés (Cd, Co, Cu, Mn et Zn) nous n'obtenons de relation significative entre les concentrations de l'ion libre dans l'eau surnageant et celles des branchies ou des larves entières (deux premières colonnes du Tableau 6). Cependant, pour l'arsenic les relations entre les concentrations totales dans l'eau (l'arsenic ne pouvant se retrouver sous forme d'ion libre) et celles des branchies ainsi que la larve entière (Figure 6) sont significatives ($p < 0.05$) (Tableau 6). La relation entre les tissus du tractus et les sédiments (Figure 7) est aussi significative dans le cas de l'arsenic (Tableau 6) mais cette relation ne l'est plus ($p > 0.05$) si la valeur du lac JO (valeur maximale; figure 7) est retirée. En fait, l'arsenic est le seul élément où il y a des relations significatives entre l'eau ou les sédiments du milieu et la larve de *H. limbata* (Tableau 6). Dans les Grands Lacs Laurentiens, Opfer et al. (2011) ont aussi trouvé une relation significative entre les concentrations d'As dans les sédiments et celles chez les larves de *Hexagenia* sp. De plus, ces auteurs ont trouvé une telle corrélation pour le Cd. Par contre, leurs résultats sont biaisés par le fait que les larves n'étaient pas dépurées; la présence de sédiments dans le tractus des larves

favorise de fausses corrélations entre les concentrations des éléments traces dans les sédiments et celles des larves (comme discuté ci-dessus; voir aussi le Tableau 4).

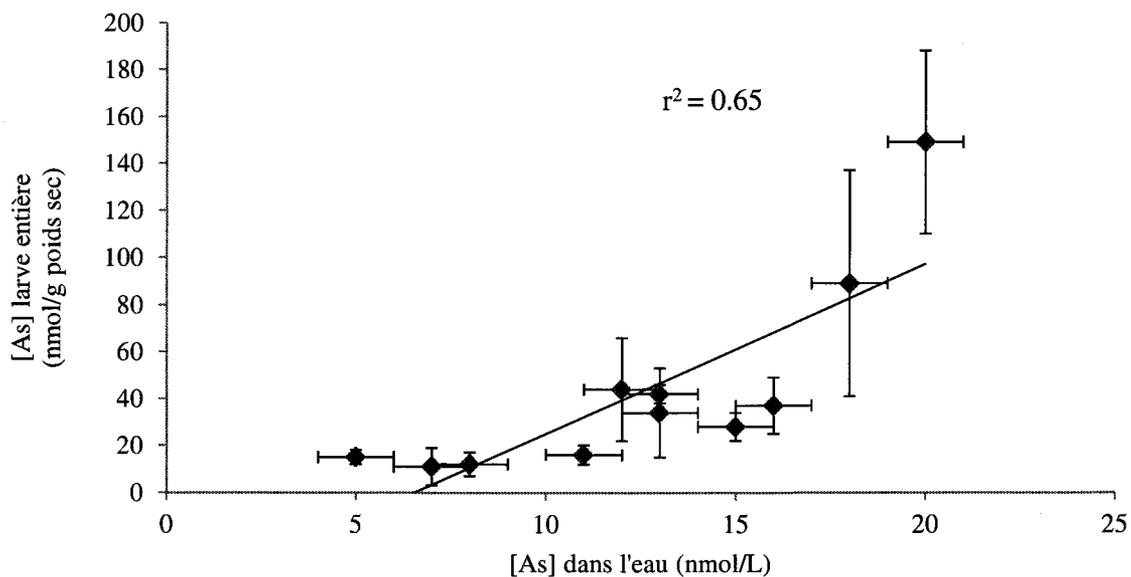


Figure 6. Relation entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en As dans les larves entières (nmol/g poids sec) de *Hexagenia limbata* et les concentrations d'As total dissous dans l'eau surnageant (nmol/L).

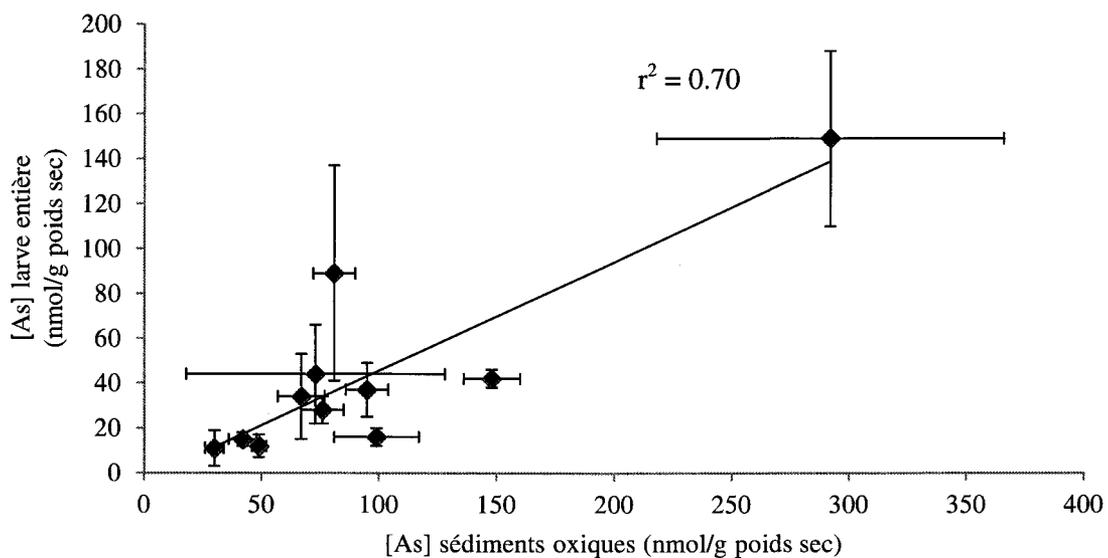


Figure 7. Relation entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en As dans les larves entières (nmol/g poids sec) de *Hexagenia limbata* et les concentrations d'As dans les sédiments oxygés (nmol/g poids sec).

Pour savoir si la sélection de particules sédimentaires par les larves de *H. limbata* durant leur alimentation peut expliquer en partie l'absence de relations significatives entre les concentrations d'éléments traces mesurées dans les sédiments oxygés de surface et celles

des larves, nous avons comparé les concentrations d'éléments traces dans les sédiments de surface (0 - 0.5 cm) avec celles dans les sédiments provenant du tractus digestif des larves de *H. limbata* (Tableau 11 en Annexe). Les rapports des concentrations des éléments traces dans les sédiments du tractus sur celles des sédiments de surface (Figure 8A) ont des valeurs de près de 1 ou moins pour certains éléments (0.64 pour le Co, 0.84 pour le Mn, 0.95 pour le Cu et 1.05 pour l'As), de près de 2 (1.95) pour le Zn et une valeur de 9.36 pour le Cd. Le fait que la fraction des sédiments choisie pour l'alimentation contient des concentrations plus élevées en Cd et en Zn que les concentrations de ces métaux mesurées dans les sédiments du milieu indique que l'on risque de sous-estimer la contribution des sédiments comme voie d'entrée ou d'exposition des larves au Cd et au Zn si nous nous basons uniquement sur les concentrations de ces métaux dans les sédiments avoisinants.

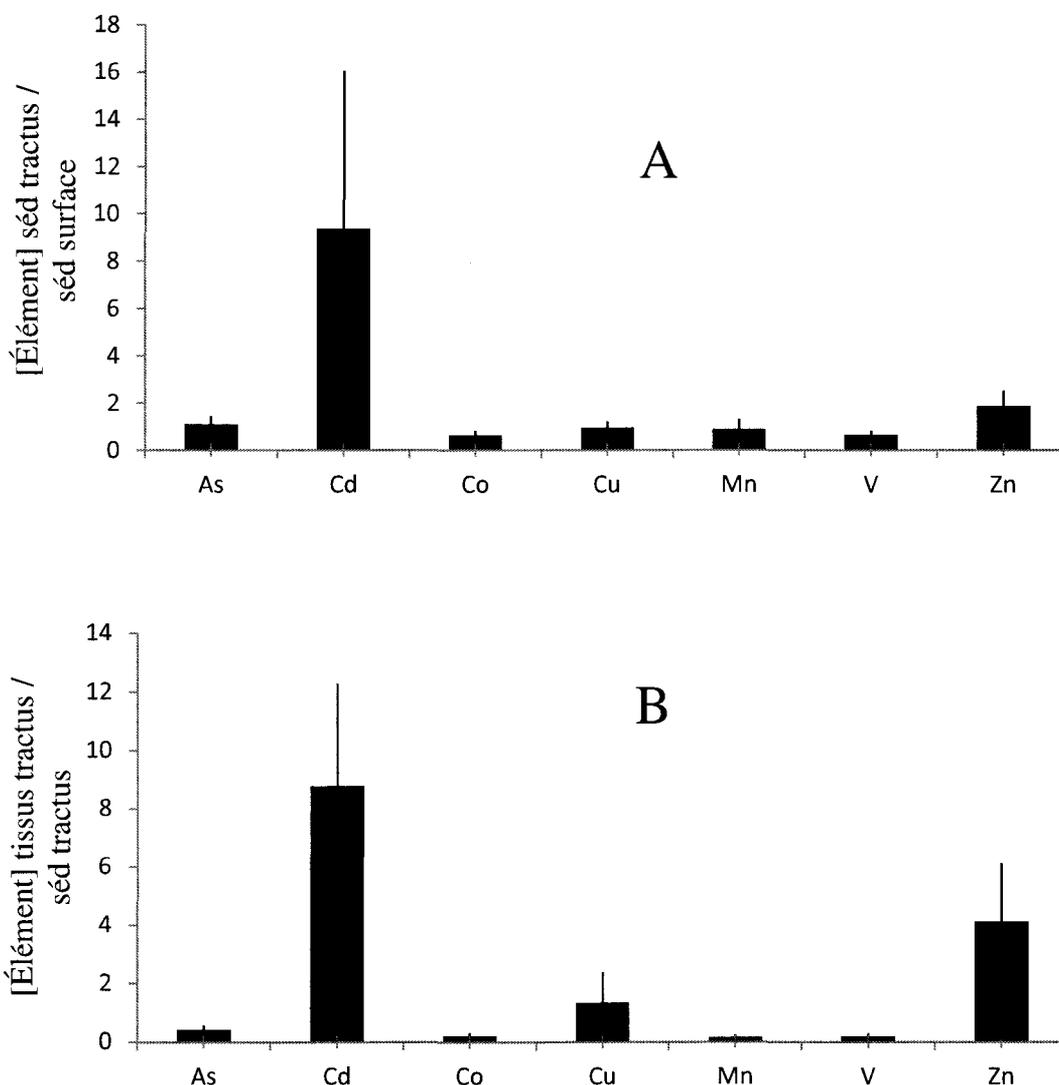


Figure 8. Rapports moyens (± écart-type) pour l'ensemble des lacs entre les concentrations des éléments traces dans, A : sédiments du tractus / sédiments de surface; B : tissus du tractus / sédiments du tractus.

En effet, les relations (Figure 9) entre les concentrations en Cd dans la larve entière et celles des tissus du tractus et ceux des sédiments du tractus sont significatives (Tableau 6). Les importantes barres d'erreurs dans la Figure 8 dans les concentrations des sédiments du tractus peuvent être dues aux différences importantes dans les sédiments sélectionnés par la larve dans un même lac, quoique le fait de « pooler » les sédiments du tractus de plusieurs larves aurait dû minimiser ces variations. En effet, comme les larves n'ingèrent qu'une fraction des sédiments du milieu, il est possible que cette sélection amène une variation importante même pour des larves prélevées au même endroit dans un lac. Une étude plus approfondie sur les sédiments du tractus pourrait permettre de confirmer cette hypothèse et d'apporter un éclairage sur ces variations.

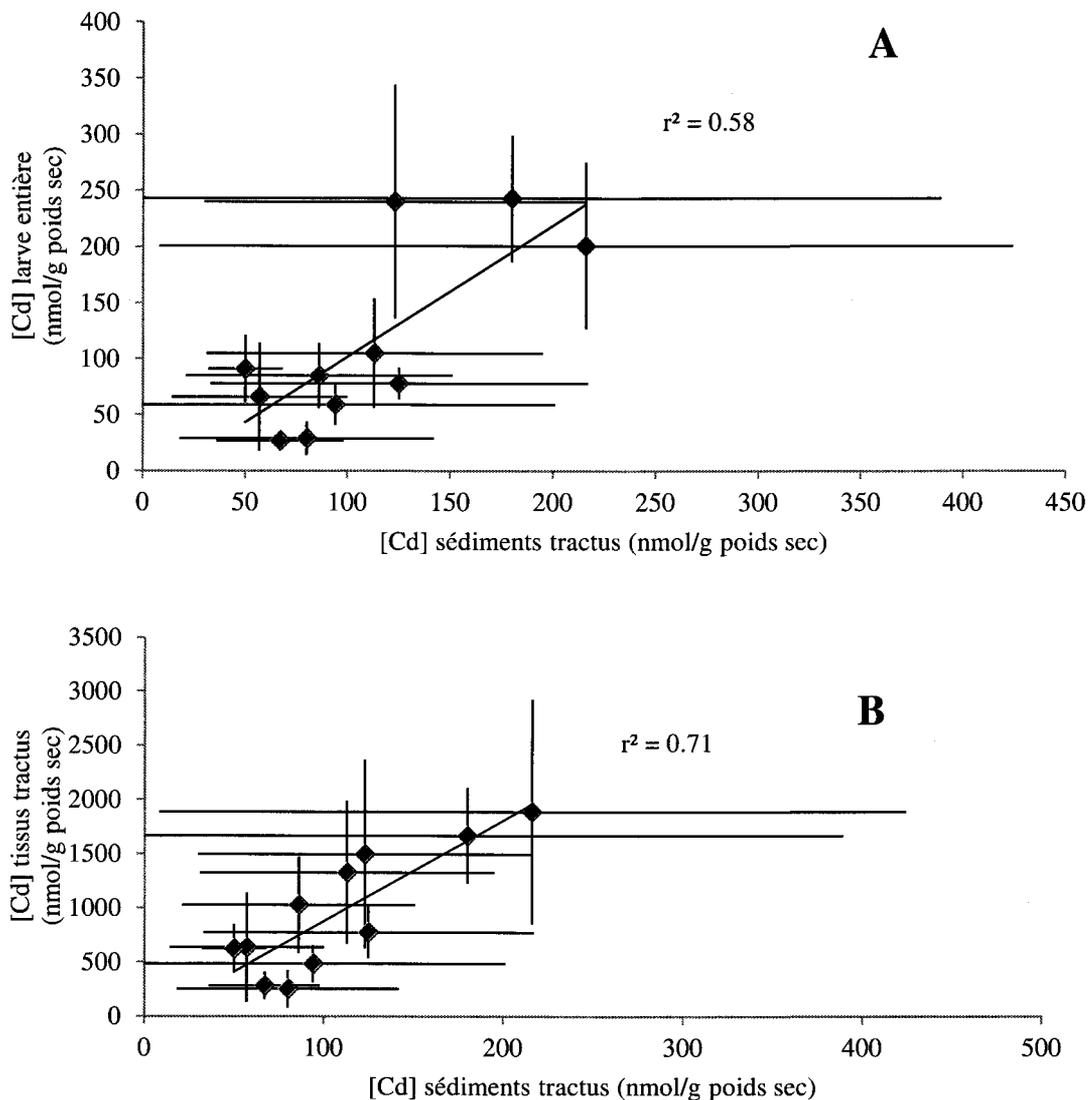


Figure 9. Relations entre les concentrations moyennes (\pm écart-type) en Cd (nmol/g poids sec) dans les sédiments du tractus digestif et celles A : des larves entières et B : les tissus du tractus digestif.

La dernière colonne du tableau 6, relation entre les sédiments du tractus et ceux du milieu, nous montre une relation significative pour l'As, le Cu, le Mn et le V. Nous pouvons donc affirmer que pour ces éléments traces leurs concentrations dans les sédiments du milieu sont corrélées avec ceux que l'on retrouve dans le tractus digestif des larves de *H. limbata*. Par contre, pour les autres éléments étudiés (Cd, Co et Zn) les relations sont non-significatives, ce qui suggère une influence du mode de nutrition des larves sur les concentrations de ces éléments dans les sédiments ingérés.

Il est possible d'expliquer l'influence du mode de nutrition par la sélection effectuée par les larves de *H. limbata* sur les particules sédimentaires ingérées. Zimmerman et Wissing (1980) ont démontré que le tri des particules sédimentaires est réalisé selon la taille des particules et sur la base de leur qualité nutritive. Ainsi, les fines particules de matière organique, auxquelles est associée une abondante microfaune, sont probablement leur nourriture principale. Comme il a été démontré qu'une grande partie du Cu (Strom et al., 2011) et du Cd (Tessier et al., 1993) est souvent lié à la matière organique dans les sédiments oxiques, si la sélection quant à la qualité nutritive ne concernait que la matière organique, les rapports concentrations dans les sédiments du tractus sur sédiments de surface devraient être similaires pour ces 2 métaux. En réalité, nous avons obtenu des rapports bien différents ; de 0.95 pour la Cu et de 9.36 pour le Cd. Pour expliquer cet écart, nous pouvons émettre l'hypothèse que cette différence pourrait être due à la microfaune associée aux particules de matière organique. En effet, les concentrations en Cd et en Cu de cette microfaune peuvent être différentes de celles des particules de matières organiques. En partant de l'hypothèse que ces microorganismes associés à la matière organique ne peuvent réguler le Cd, en étant un élément non-essentiel, et que cette régulation est possible pour un élément essentiel tel le Cu, cette différence dans la capacité de régulation pourrait expliquer une partie de la différence entre les rapports séd. tractus / séd. milieu des 2 métaux.

La Figure 5 nous indique que le tractus digestif est un site de stockage du Cd, et à moindre degré du Zn, étant donné les proportions élevées de ces métaux dans cet organe. À ceci, on peut ajouter que les concentrations en Cd et en Zn sont plus élevées dans les tissus du tractus digestif que dans les autres parties des larves (Tableau 10 en annexe). Donc, nous avons émis l'hypothèse que les concentrations de ces métaux seraient plus élevées dans les tissus du tractus que dans les sédiments consommés par les larves. Justement, la figure 7B nous confirme cette hypothèse, car les rapports des concentrations du Cd et du Zn dans les

tissus du tractus sur celles du Cd et du Zn dans les sédiments du tractus sont, respectivement, de 8.8 et de 4.1. L'ensemble de ces résultats nous amène à conclure que le tractus digestif est un organe important pour le stockage du Cd et du Zn et que les sédiments ingérés par les larves représentent probablement une source majeure de ces métaux pour eux. Hare et al. (1991b) avaient aussi mesurées des concentrations plus importantes en Cd et Zn dans les tissus du tractus digestif que dans le reste du corps et avaient conclu que l'alimentation était la principale voie d'entrée. Ils ont aussi remarqué que les concentrations en Zn dans le tractus diminuaient avec le temps, fort probablement dû à un transfert vers le reste du corps, contrairement aux concentrations en Cd qui restent inchangés dans les tissus du tractus, ce qui en fait le lieu principal de stockage. En effet, contrairement au Zn qui est un élément essentiel, le Cd est un élément non-essentiel et il ne semble pas y avoir de transfert efficace de cet élément entre les parties des larves de *Hexagenia*. De plus, les rapports « concentrations dans les larves entières reconstituées » sur « concentrations dans les sédiments » sont de 7.3 pour le Cd et de 1.6 pour le Zn. Pour les autres éléments traces mesurés, les rapports sont inférieurs à 1.

Nos résultats pour le Cd et le Zn contrastent toutefois avec ceux pour l'As, le Co et le Mn. Les faibles rapports [élément] tractus / [élément] sédiments du tractus pour l'As, le Co et le Mn (Figure 8B) suggèrent que l'As, le Co et le Mn ingérés avec les sédiments sont peu disponibles dans le tractus digestif des larves de *H. limbata*. Donc, bien que la répartition du Co dans la larve (Figure 5) semble indiquer que le tractus, par la voie de l'alimentation, est le site principal d'entrée, aucune autre donnée ne semble appuyer cette hypothèse. Une étude plus approfondie sur cet élément pourrait cependant déterminer les mécanismes d'entrée.

La figure 10 nous présente un autre argument qui prouve que les larves de *H. limbata* sont un bon biomoniteur et de l'importance des sédiments comme source d'éléments traces. En effet, la relation forte ($r^2 = 0.92$, $p = 0.002$) entre les rapports [élément] max / [élément] min chez les larves entières et ceux des sédiments du milieu suggère que les concentrations des éléments traces chez les larves seront reliées avec celles dans les sédiments de leur milieu. Il faut dire que les mécanismes derrière cette corrélation peuvent être différents selon l'élément. Par exemple, le Cd semble être pris en charge à partir des sédiments ingérés et stockés dans les tissus du tractus digestif, tandis que l'As semble surtout associé à la surface externe de l'exosquelette des larves. Le Mn est exclu de cette comparaison à cause des très fortes concentrations d'oxydes de Mn dans les sédiments de surface.

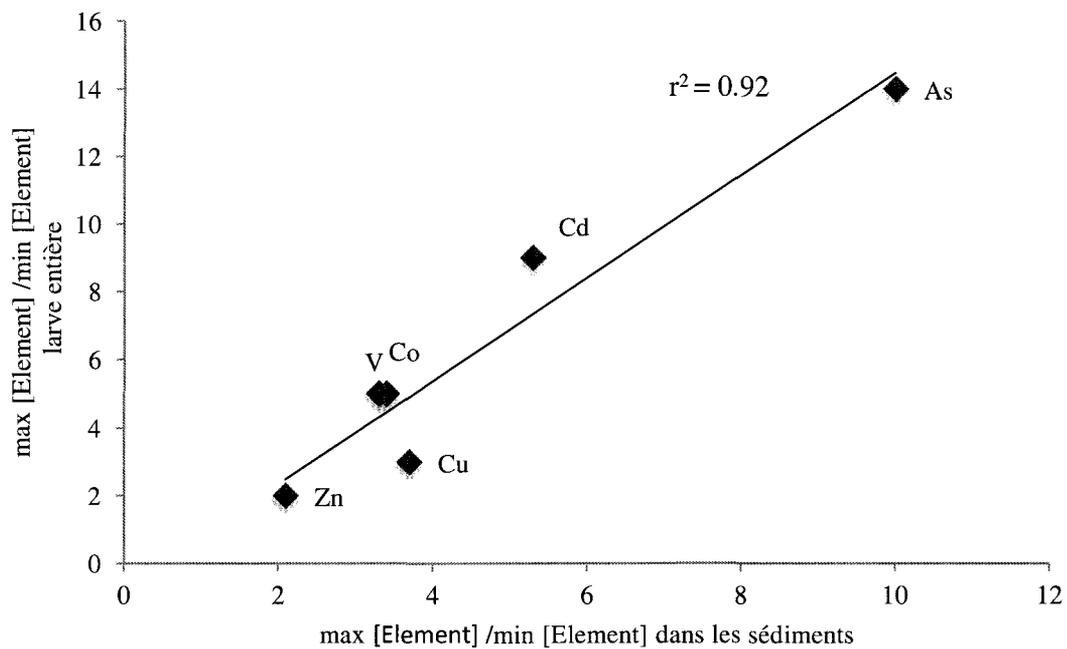


Figure 10. Relation entre les rapports max [Élément]/min [Élément] pour les concentrations en As, Cd, Co, Cu, V et Zn dans les larves entières et dans les sédiments de surface (0 – 0.5 cm).

5.2 Variations temporelles

Les émissions atmosphériques provenant des industries minières situées à Rouyn-Noranda ont grandement diminué au cours des dernières décennies (Figure 1). Cette diminution des émissions atmosphériques pourrait se traduire par de plus faibles concentrations mesurées chez notre biomoniteur. Des mesures de métaux traces chez *H. limbata*, durant et après ces changements, nous permettront de déterminer si l'exposition des animaux aquatiques aux métaux traces a aussi diminué dans les lacs qui eux sont soumis à l'influence des émissions provenant des raffineries à Rouyn-Noranda. Des mesures de Cd, Cu et Zn ont été réalisées dans les mêmes lacs au cours de la période 1987-1992 (L. Hare, données non-publiées; Hare et Tessier, 1998) et en 2009 (cette étude). Des échantillons d'eau et de larves disséquées ont été traités de manières identiques, ce qui nous permet de comparer ces valeurs. Les concentrations en métaux traces dans les sédiments de surface (oxiques) peuvent être comparées bien que la méthode de digestion partielle utilisée fût légèrement différente entre les deux époques. Nous avons comparé nos valeurs à celle des 4 premières étapes de la digestion séquentielle utilisée lors du premier échantillonnage qui correspondent tous deux à la fraction des métaux potentiellement assimilables par les organismes benthiques. Les réactifs que nous avons utilisés pour la digestion des sédiments (acide nitrique et peroxyde d'hydrogène) correspondent aux métaux libérés par les 4 premières étapes de la digestion séquentielle de Tessier et al. (1979). En effet, l'étape 5 de la digestion séquentielle correspond à l'extraction des métaux liés à la matrice sédimentaire. Il est cependant reconnu que les organismes ne peuvent assimiler les métaux très fortement liés aux particules sédimentaires même avec les conditions prévalant dans le tractus intestinal, ce qui explique le choix de notre méthode de digestion pour les sédiments. Il existe peu de données historiques des concentrations dans l'eau, les sédiments et les larves de *Hexagenia*. Une revue de la littérature a permis de recenser les données existantes (Hare et Tessier 1998; Croteau et al., 2002; Borgmann et al. 2004; Perceval et al., 2006) mais vu les différences méthodologiques, surtout celles ayant trait à la digestion des échantillons, nous avons comparé nos valeurs avec celles ayant la même méthodologie.

5.2.1 Variations temporelles dans les concentrations du Cd

Les concentrations en Cd total dissous dans l'eau ont diminué dans tous les lacs sauf pour le lac Adeline où une très légère augmentation fût mesurée (de 0.29 à 0.31 nmol/L). Les concentrations ont diminué en moyenne de 38% pendant la vingtaine d'année s'étant

écoulée entre les 2 prises de mesures (Tableau 14 en Annexe). Cette diminution dans les valeurs mesurées dans l'eau reflète bien la diminution des émissions en Cd de la fonderie à Rouyn-Noranda entre les 2 prises de mesure (Figure 1). Lorsque l'on calcule la valeur de l'ion libre (Cd^{2+}) du Cd, nous obtenons une diminution des concentrations pour 8 des 11 lacs (Figure 11; Tableau 14 en Annexe). La variation moyenne pour l'ion libre entre les 2 prises de données est une augmentation de 20% des concentrations mais cette valeur est fortement influencée par la hausse des concentrations en ion libre du Cd pour le lac Bousquet où une augmentation de 379% fût calculée. Si on retire la valeur du lac Bousquet, la variation moyenne pour les lacs est une diminution de 16% de l'ion libre du Cd, ce qui suggère que globalement la biodisponibilité du Cd dans l'eau des lacs a aussi diminué entre 1987-1992 et 2009.

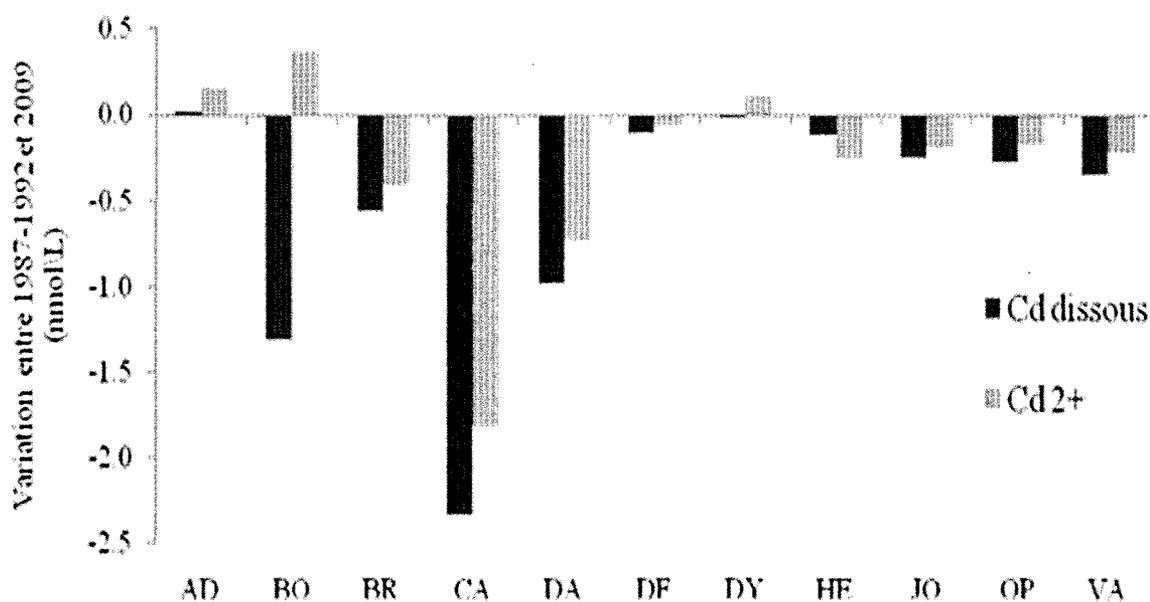


Figure 11. Variations des concentrations (nmol/L) en Cd dissous et en Cd^{2+} pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

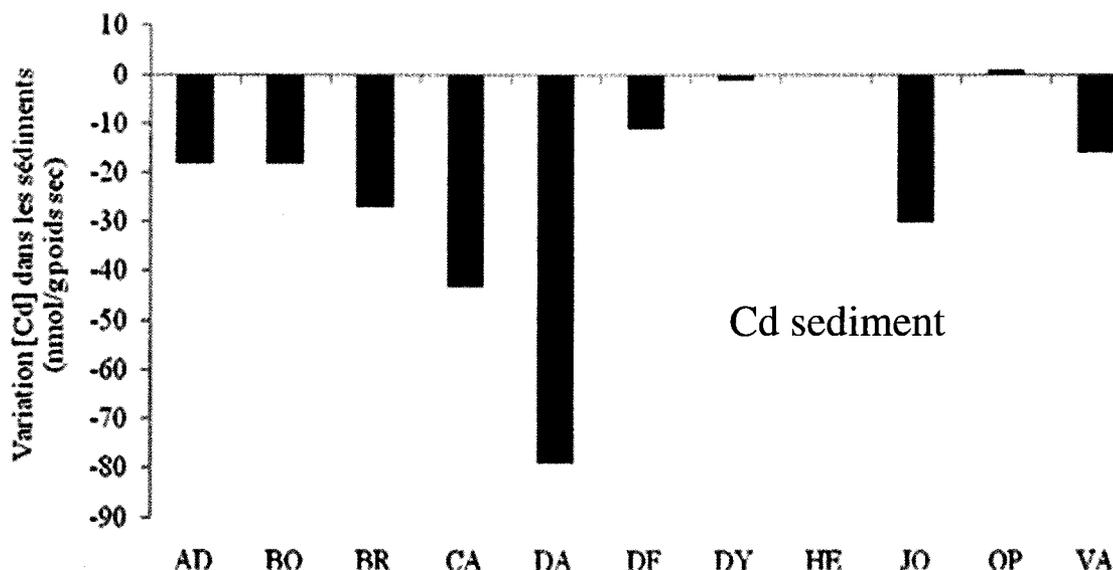


Figure 12. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cd dans les sédiments oxiques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

Les concentrations en Cd dans les sédiments de surface (0-0.5 cm) oxiques ont diminué pour tous les lacs sauf le lac Opasatica où une très faible augmentation fût mesurée (Figure 12). Un très faible changement dans le lac Opasatica est cohérent avec son utilisation fréquente comme lac témoin (Kraemer et al., 2006; Cooper et al., 2010) dû à son emplacement en amont de la fonderie (par rapport aux vents dominants). La moyenne de réduction des concentrations en Cd pour les lacs est de 55%. L'ingestion de sédiments étant la principale voie d'entrée du Cd chez les larves de *Hexagenia*, une diminution des concentrations devrait être mesurée dans les larves entières ainsi que dans le site d'entrée, le tractus digestif.

Chez les larves entières de *H. limbata*, les changements dans leurs concentrations en Cd sont moins unidirectionnels (Figure 13). Il y a eu diminution pour 6 des 10 lacs (moyenne de 69 nmol/g ou 43%), avec une diminution particulièrement importante pour les lacs BR (-124 nmol/g ou 38%) et DY (-91 nmol/g ou 58%). Pour 4 des 10 lacs, de faibles augmentations (moyenne de 18 nmol/g ou 30%) ont été mesurées. Cependant, toutes ces variations temporelles ne sont pas significatives ($p > 0.05$; tous les tests sur les variations temporelles ont été réalisés avec un test t de Student et lorsque la condition d'égalité des variances n'était pas respectée, nous avons procédé à un test de Mann-Whitney) bien que la probabilité (p) que la diminution des concentrations en Cd chez les larves entières soit près de la limite (0.05; t de Student) pour les lacs Bruyère (0.053), Caron (0.065), Dufay (0.081) et

Héva (0.077). Dans le cas des changements de concentrations en Cd dans les différentes parties des larves, les diminutions des concentrations en Cd sont plus importantes dans les branchies (85%; diminution dans tous les lacs) et le tractus (19%) que pour le reste du corps (7%) (Tableau 13 en Annexe; excluant le lac HE). Les diminutions de concentrations dans les branchies sont significatives ($p < 0.05$; test de Mann-Whitney) pour tous les lacs sauf pour les lacs Dufay et Dufresnoy où $p = 0.095$ (test de Mann-Whitney). Les diminutions sont aussi significatives pour les concentrations mesurées dans le tractus digestif pour les lacs Bruyère et Caron ($p = 0.032$ et 0.048 respectivement; Mann-Whitney). Les lacs Adeline et Joannès ont aussi des probabilités près de la limite ($p = 0.05$) avec une valeur de p de 0.084 (t de Student). Il y a aussi diminutions significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) des concentrations mesurées dans le reste du corps des larves pour les lacs Bousquet, Caron, D'Alembert, Dufresnoy et Dufay. Bien qu'il y ait augmentation de la moyenne de certaines valeurs entre les 2 périodes, aucune d'entre elles ne sont significatives. La diminution des concentrations en Cd dans les organes d'entrée (branchies et tractus) est cohérente avec la diminution des concentrations en Cd dans les compartiments correspondants, c'est-à-dire l'eau et les sédiments, ainsi que la diminution des émissions atmosphériques. De plus, il y a diminution dans 7 des 10 lacs de la concentration en Cd des sédiments présents dans le tractus digestif des larves (Tableau 16, en Annexe). La diminution des émissions atmosphériques en Cd s'est donc reflétée dans les concentrations mesurées dans l'eau (total dissoute et ion libre), les sédiments, les sédiments du tractus et les larves de *H. limbata* entre la période 1987-1992 et cette étude (2009).

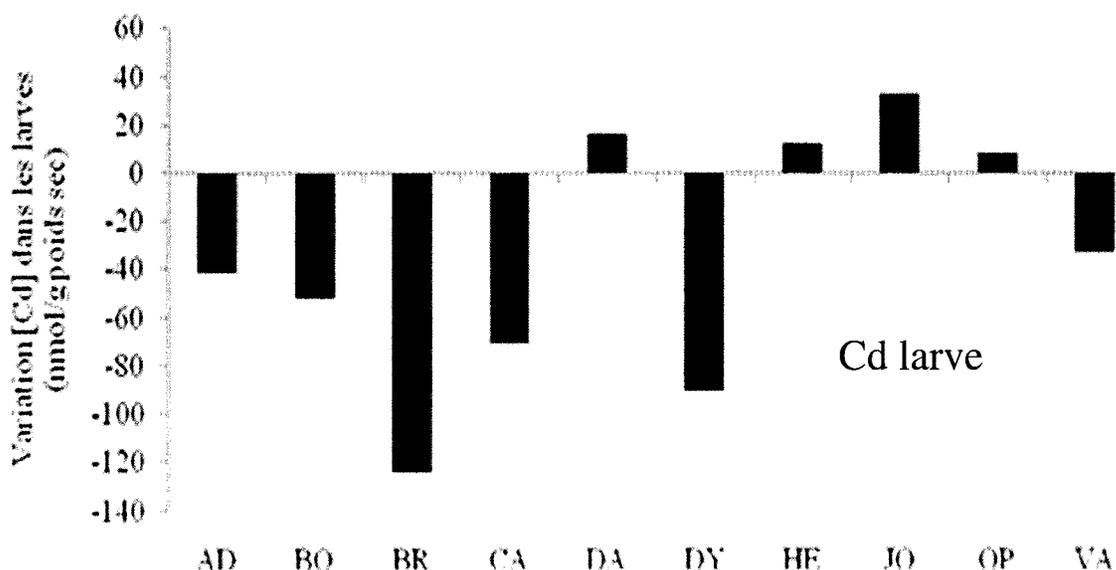


Figure 13. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cd dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

5.2.2 Variations temporelles dans les concentrations du Cu

Les concentrations en Cu total dissous ont augmenté pour la majorité des lacs (8 sur 11) avec une augmentation moyenne de 13% pour l'ensemble des lacs. Cette augmentation proportionnelle est faible comparée aux concentrations en Cu^{2+} qui ont aussi augmenté pour 7 des 11 lacs avec une augmentation moyenne de 658% (Figure 14; Tableau 14 en Annexe). Il faut cependant noter que le logiciel de spéciation chimique utilisé (WHAM IV, Tipping, 2002) surestime les liaisons du cuivre avec la matière organique dissoute (DOM), ce qui résulte en une sous-estimation de la valeur de l'ion libre surtout à de faibles concentrations en cuivre total dissous (Fortin et al., 2010). En effet, la détermination de l'ion libre du cuivre est très sensible à la concentration de la DOM, car, selon WHAM VI, la presque totalité du cuivre se trouve liée à la matière organique et seulement une très faible proportion se retrouve sous la forme de l'ion libre ((moyenne±SD) de $0.17\pm 0.28\%$ dans le cas de nos lacs) contrairement au cadmium et au zinc où la majorité de ces métaux se trouve sous la forme de l'ion libre ((moyennes±SD) de $67\pm 26\%$ et $63\pm 29\%$, respectivement, dans le cas de nos lacs). Donc, l'ampleur de l'augmentation moyenne proportionnelle du $[\text{Cu}^{2+}]$ (658%) est trompeuse, car les valeurs de $[\text{Cu}^{2+}]$ sont extrêmement faibles et donc des augmentations mineures dans les valeurs absolues peuvent occasionner des augmentations proportionnelles très importantes. Nous suggérons donc que la faible augmentation (18%) des concentrations en cuivre total dissous soit plus représentative du changement des concentrations qui peut être attendu dans les larves de *H. limbata* que l'augmentation de la concentration de l'ion libre calculée (Figure 16; Tableau 13 en Annexe).

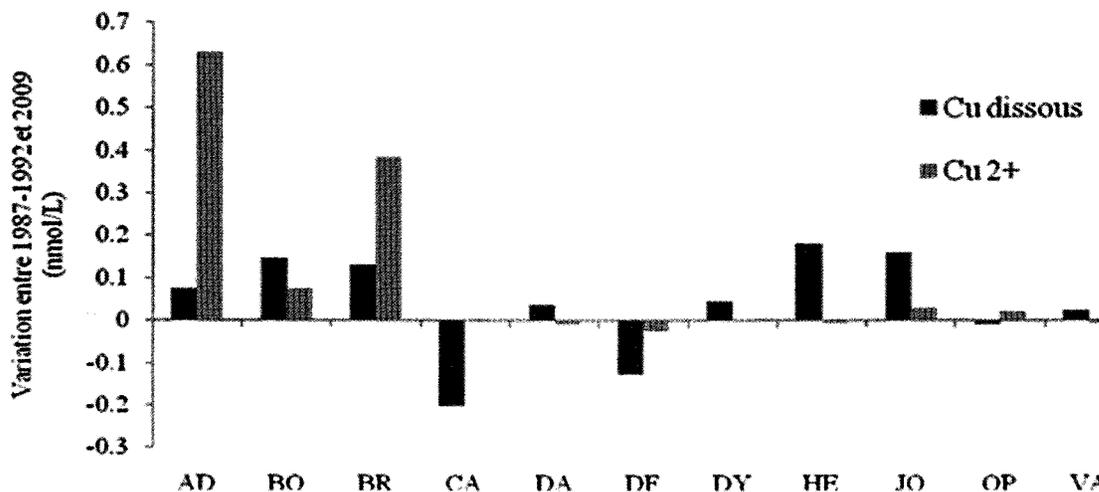


Figure 14. Variations dans les concentrations (nmol/L) en Cu dissous et Cu^{2+} ($\times 100$) pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

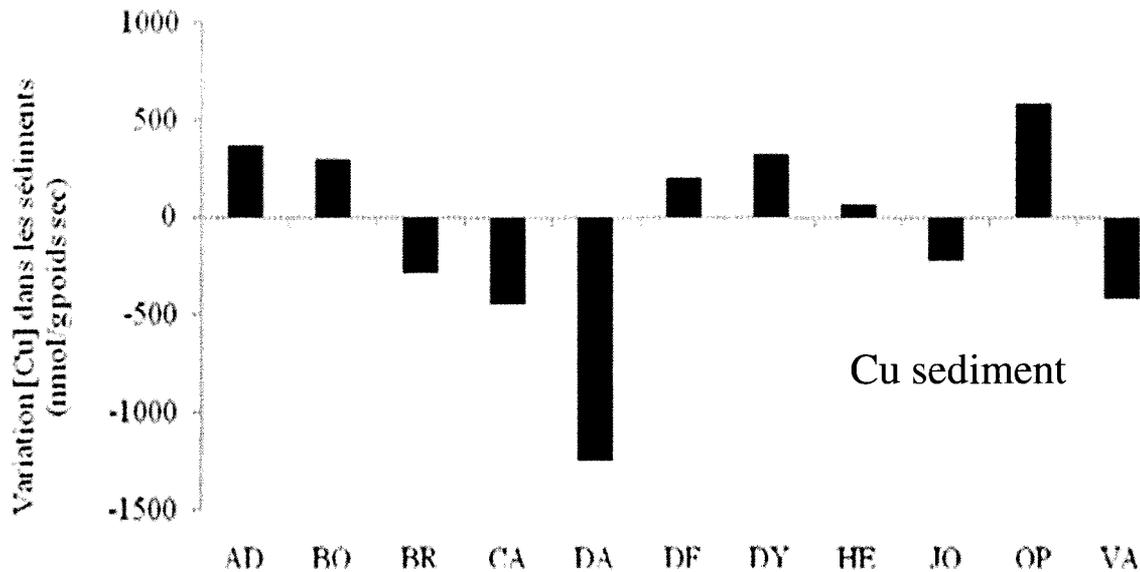


Figure 15. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Cu dans les sédiments oxiques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs est à la figure 4.

Les concentrations en cuivre dans les sédiments oxiques de surface ont augmenté pour 6 des 11 lacs (Figure 15). Les concentrations ont augmenté en moyenne de 101%, principalement dû aux augmentations relatives très importantes (725 et 355%) dans les concentrations mesurées dans les sédiments du lac OP et DY respectivement, qui sont considérés comme lacs témoins vu leur faibles concentrations mesurées. Si on élimine ces deux lacs « propres », la variation temporelle est négligeable (augmentation de 4%).

Contrairement aux variations dans les concentrations du Cu mesurées dans l'eau et les sédiments, la variation dans les concentrations du Cu chez la larve reconstituée de *H. limbata* est plutôt unidirectionnelle, et négative, avec seulement une augmentation non-significative ($p > 0.05$, Mann-Whitney) dans les larves du lac Vaudray (VA; Figure 16). Les diminutions des concentrations mesurées en Cu dans les larves entières reconstituées sont significatives ($p < 0.05$; t de Student) pour les lacs Adeline, Caron, Dufresnoy, Joannès et Opasatica, significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) pour le lac Héva et sont près du seuil pour le lac Dufay ($p = 0.095$; Mann-Whitney). Dans les parties des larves (branchies, tractus, reste du corps), aucune des augmentations apparentes dans les concentrations en Cu (Tableau 13 en Annexe) n'est significative, exceptée celle de la [Cu] dans les branchies des larves du lac Bousquet ($p = 0.007$; t de Student). Par contre, il y a diminution significative ($p < 0.05$; Mann-Whitney) des [Cu] dans les branchies pour les lacs Caron ($p = 0.003$) et Opasatica ($p = 0.004$) et diminution près du seuil ($p = 0.05$; Mann-Whitney) pour les lacs

Dufresnoy ($p = 0.095$), Héva ($p = 0.106$) et Joannès ($p = 0.126$). Dans le cas du tractus digestif, les diminutions sont significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) pour les lacs Adeline, Caron, Dufresnoy, Dufay (t de Student car non significatif avec le test de Mann-Whitney), Héva et Opasatica et ont approché le seuil pour le lac Joannès ($p = 0.126$; Mann-Whitney). Les concentrations dans le reste du corps ont diminué significativement pour les lacs Adeline ($p = 0.002$; t de Student) et Caron ($p = 0.008$; t de Student) et ont approché le seuil ($p = 0.05$; Mann-Whitney) pour les lacs Dufay ($p = 0.095$) et Opasatica ($p = 0.052$). Donc, bien que la concentration en Cu dans l'eau (total dissous et ion libre) ait augmenté, les concentrations mesurées dans les larves ont globalement diminuées. Tout comme les concentrations dans les sédiments oxiques, la diminution des concentrations mesurées dans les larves est cohérente avec la diminution des concentrations mesurées dans les sédiments du tractus digestif pour 9 des 10 lacs (Tableau 16, en Annexe).

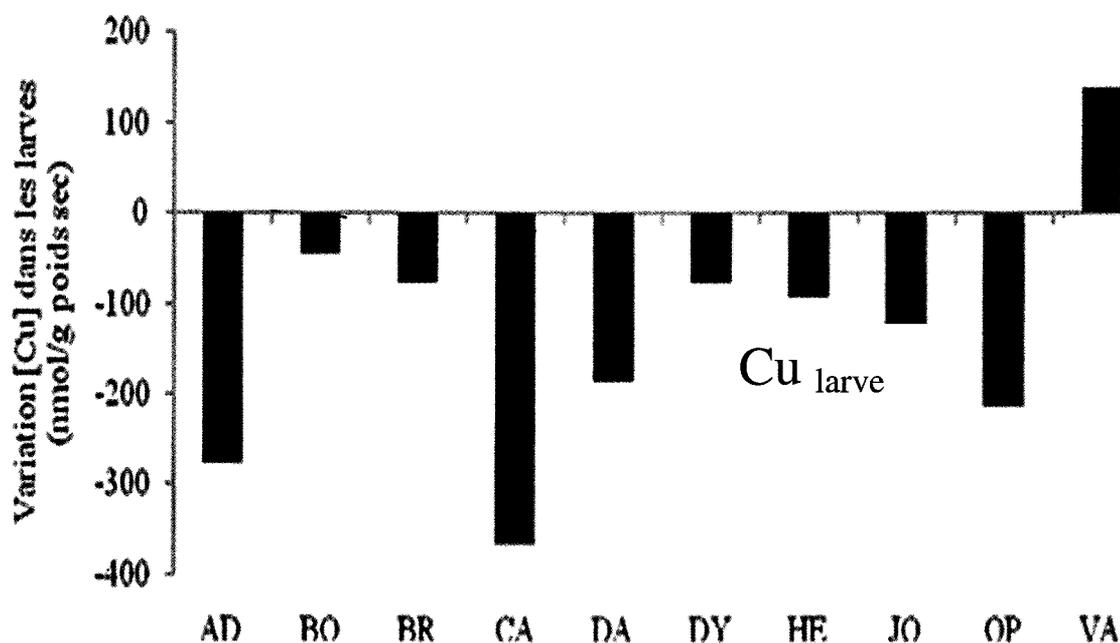


Figure 16. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

5.2.3 Variations temporelles dans les concentrations du Zn

Dans le cas du Zn aqueux, il y a eu augmentation des concentrations totales dissoutes dans la majorité des lacs (9 sur 11; Figure 17, Tableau 14 en Annexe). Cependant, les changements temporels en [Zn] aqueux sont généralement faibles, à part les augmentations importantes mesurées dans le lac Bruyère et les diminutions très importantes mesurées dans le lac Caron (Figure 17, Tableau 14 en Annexe).

Dans les sédiments de surface, les changements dans les [Zn] ne sont pas unidirectionnels, avec des augmentations dans 6 des 11 lacs (Figure 18, Tableau 15 en Annexe). La très forte augmentation (de 1045 %) au lac Opasatica est plutôt attribuable à la faible concentration du Zn sédimentaire mesurée durant la période 1987-1992 qu'à la valeur mesurée dans notre étude (Tableau 15 en Annexe). Outre cette augmentation, la variation moyenne des lacs de la concentration en zinc des sédiments fût une très légère augmentation de 9 % (Tableau 15 en Annexe).

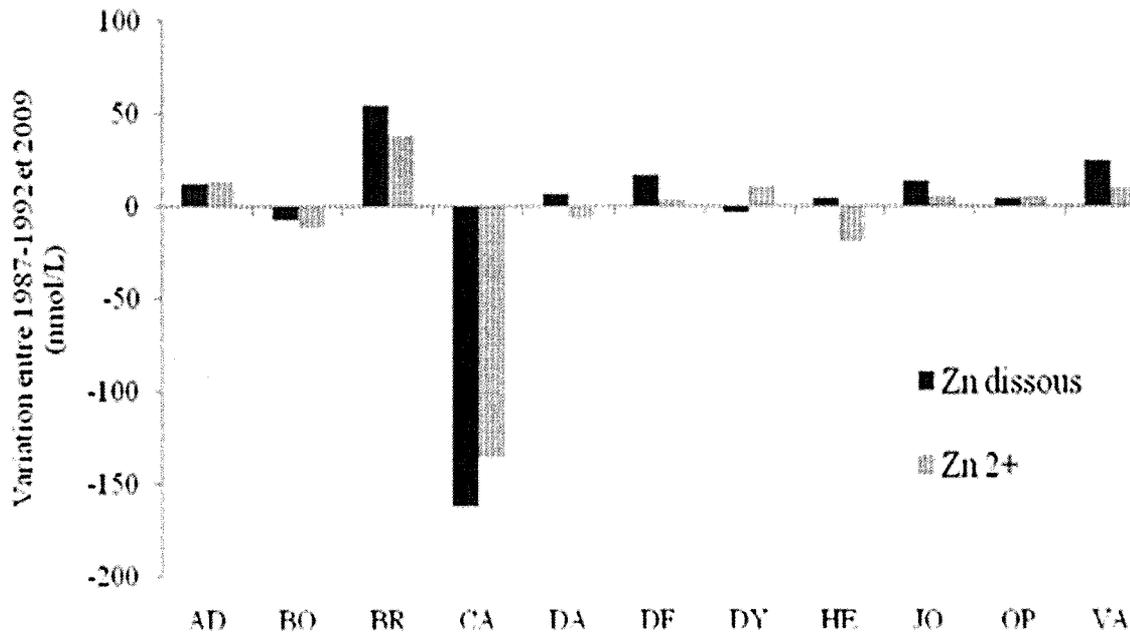


Figure 17. Variations dans les concentrations (nmol/L) en Zn dissous et Zn ²⁺ pour les lacs de Rouyn-Noranda entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la Figure 4.

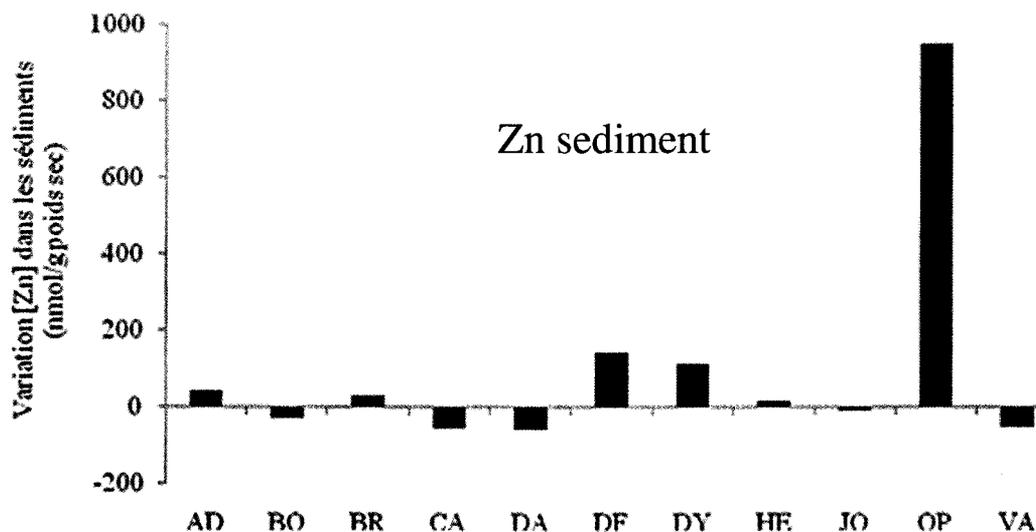


Figure 18. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Zn dans les sédiments oxyques de surface (0-0.5 cm) pour les lacs de Rouyn-Noranda. Le nom des lacs est à la figure 4.

Les [Zn] chez les larves entières de *H. limbata* ont diminuées dans tous les lacs, excepté le lac Adeline (Figure 19), avec une diminution moyenne de 19 %. L'augmentation apparente mesurée dans les larves du lac Adeline est non-significative ($p = 0.45$; t de Student). Les diminutions des concentrations dans les larves entières sont significatives ($p < 0.05$; t de Student) pour les lacs Bruyère, Caron et Héva et près du seuil de significativité pour les lacs Bousquet ($p = 0.071$; t de Student) et Opasatica ($p = 0.089$; t de Student). Il y a une diminution importante des concentrations mesurées dans le tractus (46%) et les branchies (40%) mais aucune variation notable (diminution de 9%) dans les concentrations du reste du corps (Tableau 13 en Annexe). Le Zn étant un élément essentiel, il est cohérent d'observer peu de changement dans les concentrations mesurées dans le reste du corps. Les diminutions mesurées dans les branchies sont significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) pour tous les lacs sauf pour les lacs Bruyère ($p = 0.151$), Dufay et Dufresnoy ($p = 0.095$) où les probabilités sont près du seuil. Les diminutions des concentrations dans le tractus digestif sont significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) pour les lacs Caron, Héva et Vaudray et près de la limite pour les lacs Bruyère ($p = 0.056$) et Joannès ($p = 0.082$). Les diminutions dans les concentrations mesurées dans le reste du corps sont significatives ($p < 0.05$; Mann-Whitney) pour les lacs Caron et D'Alembert et près de la limite pour le lac Bousquet ($p = 0.063$). Donc, contrairement aux concentrations du Zn mesurées dans l'eau et les sédiments qui ont augmenté dans plusieurs lacs au cours des vingt années entre les 2 prises de mesure, les concentrations dans les larves de *Hexagenia limbata* ont diminué dans la majorité des lacs. Les concentrations du Zn dans les sédiments du tractus ont diminué entre la période 1987-

1992 et cette étude, 2009 (Tableau 16 en Annexe). En effet, cette concentration reflète davantage l'exposition réelle des larves aux métaux des sédiments que les concentrations dans les sédiments environnants.



Figure 19. Variations des concentrations (nmol/g poids sec) en Zn dans les larves entières reconstituées de *Hexagenia limbata* entre les périodes 1987-1992 et 2009. Le nom des lacs est à la figure 4.

6. CONCLUSION

6.1 Variations temporelles

Les concentrations en Cd, Cu et Zn chez les larves de *Hexagenia limbata* ont généralement diminué entre 1987-1992 et 2009 (Figures 12, 15, 18). Cette diminution est probablement une conséquence de la diminution des émissions atmosphériques provenant de la fonderie située à Rouyn-Noranda (Figure 1). Comme les larves de *Hexagenia* peuvent être une proie importante pour les poissons (Hunt, 1953), la diminution des concentrations mesurées a probablement eu une influence sur les concentrations en Cd des maillons supérieurs des chaînes alimentaires de ces lacs qui ont dû diminuer. Les concentrations en Cu et en Zn chez ces prédateurs ont probablement aussi diminué, au moins chez les animaux qui ne sont pas capables de maintenir constantes les concentrations de ces métaux essentiels. Dans le cas du Cd, les diminutions des concentrations mesurées dans l'eau (Figure 11) et les sédiments (Figure 12) se sont reflétées par une diminution mesurée dans les larves entières (Figure 13). Les concentrations ont davantage diminué dans les organes d'entrée, tractus digestif et branchies, que dans le reste du corps. Donc, bien que nous ayons statué que les larves de *Hexagenia* effectuent un tri des particules sédimentaires ingérées, la diminution des concentrations mesurées dans les sédiments avoisinants entre les 2 études semble refléter la diminution de l'exposition au Cd pour les larves. Dans le cas du Cu, la diminution mesurée des concentrations dans les larves entières suggère une diminution dans l'exposition des larves. Les augmentations relatives apparentes des concentrations des ions libres du Cu dans certains lacs pourraient s'expliquer par la très faible proportion du cuivre se trouvant sous la forme de l'ion libre (0.17%). Avec des valeurs aussi faibles, des petites différences absolues peuvent occasionner de forts changements proportionnels. De plus, la faiblesse de ces valeurs est à mettre en doute, car dans le logiciel WHAM VI, les constantes de complexation du Cu avec la matière organique dissoute sont reconnues pour être trop fortes. Pour le Zn, la diminution des concentrations mesurées dans les larves, malgré les augmentations des concentrations en Zn dissous et de son ion libre, peut s'expliquer par le fait que le Zn accumulé par les larves vient des sédiments par la voie de l'alimentation. Par contre, les concentrations des sédiments oxiques en Zn ont changé peu (+ 9%) entre les 2 prises de données. Cependant, comme nos mesures suggèrent que les larves tri des particules de sédimentaires ingérées, les concentrations en Zn dans les sédiments ambiants ne sont pas forcément représentatives de l'exposition des larves par la voie alimentaire.

6.2 Variations spatiales

Les larves de *Hexagonia limbata* sont des biomoniteurs prometteurs des éléments traces surtout pour les éléments non-essentiels (As et Cd). En effet, des relations significatives ont été observées entre les concentrations en As dans l'eau, les sédiments oxiques et les concentrations dans les sites d'entrée (branchies et tractus digestif) et les larves entières. Dans le cas du Cd, les concentrations mesurées dans les différentes parties de la larve ont démontré que plus de 75% de la charge totale se trouve dans le tractus digestif. Ceci suggère que le tractus digestif, via l'ingestion de matériel sédimentaire, est la voie principale d'entrée de ce métal pour les larves. De plus, les concentrations mesurées en Cd dans les sédiments du tractus digestif montrent qu'il y a sélection des particules sédimentaires car les concentrations mesurées dans les sédiments présents dans le tractus digestif sont en moyenne ~9 fois plus élevées que celles mesurées dans les sédiments oxiques. De la même façon, les concentrations mesurées dans les tissus du tractus digestif sont ~9 fois plus élevées que celles des sédiments présents dans le tractus digestif, ce qui appuie davantage l'idée de l'entrée et le stockage de ce métal dans cette partie des larves. Ces informations expliquent pourquoi les corrélations entre les concentrations du Cd mesurées dans les sédiments du tractus et celles des tissus du tractus digestif et des larves entières sont significatives contrairement aux corrélations entre le Cd chez les larves et les sédiments oxiques avoisinants.

Les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence le fait que les larves font une sélection des particules sédimentaires avant de les ingérer avec comme conséquence un enrichissement des concentrations en Cd et en Zn dans leur nourriture (Figure 7). Par contre, les concentrations en As, Cu, Mn et V sont peu différentes entre les sédiments du tractus et les sédiments oxiques. Il a été déjà avancé que les larves effectuaient un tri des particules sédimentaires selon la taille des particules et leur qualité nutritionnelle (Zimmerman et Wissing, 1980). Une étude plus approfondie sur la sélection des particules sédimentaires devrait permettre de comprendre les différences notées entre les différents éléments.

7. RÉFÉRENCES

- Arafat, N.M., 1985. The impact of mining and smelting on trace metal distribution in lake sediments around Rouyn-Noranda, Quebec. *Water Pollut. Res. J. Canada* 20 : 1-8
- Bachteram, A.M., K.A. Mazurek, & J.J.H. Ciborowski, 2005. Sediment suspension by burrowing mayflies (*Hexagenia* spp., Ephemeroptera: Ephemeridae). *J. Great Lakes Res.* 31 : 208-222
- Bartsch, M.R., W.G. Cope & R.G. Rada, 1999. Effects of cadmium-spiked sediment on cadmium accumulation and bioturbation by nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia bilineata*. *Water, Air Soil Pollut.* 109 : 277-292
- Beauvais, S.L., J.G. Wiener & G.J. Atchison, 1995. Cadmium and mercury in sediment and burrowing mayfly nymphs (*Hexagenia*) in the upper Mississippi River, USA. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 28 : 178-183
- Borgmann, U., W.P. Norwood, T.B. Reynoldson & F. Rosa, 2001. Identifying cause in sediment assessments: bioavailability and the Sediment Quality Triad. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58 : 950-960
- Borgmann, U., N. Nowierski, L.C. Grapentine & D.G. Dixon, 2004. Assessing the cause of impacts on benthic organisms near Rouyn-Noranda, Quebec. *Environ. Pollution* 129 : 39-48
- Campbell, P.G.C., 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms : A critique of the free-ion activity model. In Tessier A. and Turner D. (eds), Trace metal speciation and bioavailability in aquatic systems, pp. 45-102. John Wiley & Sons, New-York, NY
- Chapman, P .H., H.E. Allen, K. Godtfredsen & M.N. Zraggen, 1996. Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. *Environ. Sci. Technol.* 30 : 448-452
- Charbonneau, P. & L. Hare, 1998. Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 17 : 239-249
- Ciutat, A., M. Gerino & A. Boudou, 2007. Remobilization and bioavailability of cadmium from historically contaminated sediments: Influence of bioturbation by tubificids. *Ecotox. Environ. Safety* 68 : 108-117
- Cooper, S., L. Hare & P.G.C. Campbell, 2010. Modeling cadmium uptake from water and food by the freshwater bivalve *Pyganodon grandis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 67 : 1874-1888
- Corkum, L.D., J.J.H. Ciborowski & R. Lazar, 1997. The distribution and contaminant burdens of adults of the burrowing mayfly, *Hexagenia*, in Lake Erie. *J. Great Lakes Res.* 23 : 383-390
- Craig, A., L. Hare, P.-M. Charest & A. Tessier, 1998. Effect of exposure regime on the internal distribution of cadmium in *Chironomus staegeri* larvae (Insecta, Diptera). *Aquat. Toxicol.* 41 : 265-275
- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier, 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* 32 : 1348-1352
- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier, 2002. Increases in food web cadmium following reductions in atmospheric inputs to some lakes. *Environ. Sci. Technol.* 36 : 3079-3082
- Croteau, M.-N. & S. N. Luoma, 2009. Predicting Dietborne Metal Toxicity from Metal Influxes. *Environ. Sci. Technol.* 43 : 4915-4921
- Currie, R.S., W.L. Fairchild & D.C.G. Muir, 1997. Remobilization and export of cadmium from lake sediments by emerging insects. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 : 2333-2338
- De Jonge, M., F. Dreesen, J. De Paepe, R. Blust & L. Bervoets, 2009. Do acid volatile sulfides (AVS) influence the accumulation of sediment-bound metals to benthic invertebrates under natural field conditions? *Environ. Sci. Technol.* 43 : 4510-4516

- Di Toro, D.M., J.D. Mahony, D.J. Hansen, K.J. Scott, A.R. Carlson & G.T. Ankley, 1992. Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments. *Environ. Sci. Technol.* 26 : 96-101
- Di Toro, D.M., J.A. McGrath, D.J. Hansen, W.J. Berry, P.R. Paquin, R. Mathew, K.B. Wu & R.C. Santore, 2005. Predicting sediment metal toxicity using a sediment biotic ligand model: methodology and initial application. *Environ. Toxicol. Chem.* 24 : 2410-2427.
- Edmunds, G.F., S.L. Jensen & L. Berner, 1976. The Mayflies of North and Central America. University of Minnesota Press, Minneapolis, MN
- Edsall, T.A., B.A. Manny, D.W. Schloesser, S.J. Nichols & A.M. Frank, 1991. Production of *Hexagenia limbata* nymphs in contaminated sediments in the upper Great Lakes connecting channels. *Hydrobiol.* 219 : 353-361
- Edsall, T.A., C.P. Madenjian & B.A. Manny, 1999. Burrowing mayflies in Lake Erie - a review. In : M. Munawar, T. Edsall & I. Munawar (eds), *State of Lake Erie - Past, Present, and Future*, p. 218-231. Ecovision World Monograph Series. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, 550 pp.
- Edsall, T.A., 2001. Burrowing mayflies (*Hexagenia*) as indicators of ecosystem health. *Aquat. Ecosys. Health Management* 4 : 283-292
- Fortin, C., Y. Couillard, B. Vigneault & P.G.C. Campbell, 2010. Determination of free Cd, Cu and Zn concentrations in lake waters by in situ diffusion followed by column equilibration ion-exchange. *Aquat. Geochem.* 16 : 151-172
- Gallon, C., L. Hare & A. Tessier, 2008. Surviving in anoxic surroundings: how burrowing aquatic insects create an oxic microhabitat. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 27 : 570-580
- Gosselin, A. & L. Hare, 2004. Effect of sedimentary cadmium on the behavior of a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*). *Environ. Toxicol. Chem.* 23 : 383-387
- Gunn, J.M. & W. Keller, 1990. Biological recovery of an acid lake after reductions in industrial emissions of sulphur. *Nature* 345 : 431-432
- Hare, L., P.G.C. Campbell, A. Tessier & N. Belzile, 1989. Gut sediment in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to animal trace element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46 : 451-456
- Hare, L., A. Tessier & P.G.C. Campbell, 1991a. Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48 : 1481-1491
- Hare, L., E. Saouter, P.G.C. Campbell, A. Tessier, F. Ribeyre & A. Boudou, 1991b. Dynamics of cadmium, lead, and zinc exchange between nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia rigida* (Ephemeroptera) and the environment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48 : 39-47
- Hare, L., 1992. Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 22 : 327-369
- Hare, L. & A. Tessier, 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* 43 : 1850-1859
- Hare L., A. Tessier & L. Warren, 2001. Cadmium accumulation by invertebrates living at the sediment-water interface. *Environ. Toxicol. Chem.* 20 : 880-889
- Hare, L., A. Tessier & M.-N. Croteau, 2008. A biomonitor for tracking changes in the availability of lakewater cadmium over space and time. *Human Ecol. Risk Assess.* 14 : 229-242
- Hare, L. INRS-ETE. Données non-publiées
- 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

- Hopkin, S.P., 1989. Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science, London, UK
- Hunt, B.P., 1953. The life history and economic importance of a burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*, in southern Michigan lakes. *Michigan State Department of Conservation, Bulletin of the Institute for Fisheries Research* No. 4. DeKleine Company, Lansing, Michigan.
- Keller, W.B. & N.D. Yan, 1991. Recovery of crustacean zooplankton species richness in Sudbury area lakes following water quality improvements. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48 : 1635-1644
- Keltner, J. & W.P. McCafferty, 1986. Functional morphology of burrowing mayflies *Hexagenia limbata* and *Pentagenia vittigera*. *Zool. J. Linnean Soc.* 87 : 139-163
- Kolar, C.S., P.L. Hudson & J.F. Savino, 1997. Conditions for the return and simulation of the recovery of burrowing mayflies in western Lake Erie. *Ecol. Applic.* 7 : 665-676
- Kraemer, L.D., P.G.C. Campbell, L. Hare & J.-C. Auclair, 2006. A field study examining the relative importance of food and water as sources of cadmium for juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63 : 549-557
- Krieger, K.A., M.T. Bur, J.J.H Ciborowski, D.R. Barton & D.W. Schloesser, 2007. Distribution and abundance of burrowing mayflies (*Hexagenia spp.*) in Lake Erie, 1997-2005. *J. Great Lakes Res.* Supplement 1 : 20-33
- Laflièche, M.R., C. Dupuy & J. Dostal, 1991. Archaean orogenic ultrapotassic magmatism: an example from the southern Abitibi greenstone belt. *Precambrian Res.* 52 : 71-96
- Lee, J.-S., B.-G. Lee, H. Yoo, C.-H. Koh & S.N. Luoma, 2001. Influence of reactive sulphide (AVS) and supplementary food on Ag, Cd and Zn bioaccumulation in the marine polychaete *Neanthes arenaceodentata*. *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 216 : 129-140
- Lofts, S. and Tipping, E. 2011. Assessing WHAM / Model VII against field measurements of free metal ion concentrations: model performance and the role of uncertainty in parameters and inputs. *Environ. Chem.*, 8 : 501-516
- Luoma, S.N., 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms- a review. *Sci Total Environ.* 28 : 1-22
- Luoma, S.N., 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiol.* 176/177 : 379-396
- Luoma, S.N. & P.S. Rainbow, 2008. Metal Contamination in Aquatic Environments. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Masson, S., Y. Couillard, P.G.C. Campbell, C. Olsen, B. Pinel-Alloul & O. Perceval, 2010. Responses of two sentinel species (*Hexagenia limbata*- mayfly; *Pyganodon grandis*- bivalve) along spatial cadmium gradients in lakes and rivers in northwestern Québec. *J. Environ. Monitoring* 12 : 143-158
- Matisoff, G. & X. Wang, 2000. Particle mixing by freshwater infaunal bioirrigators: Midges (Chironomidae: Diptera) and mayflies (Ephemeroidea: Ephemeroptera). *J. Great Lakes Res.* 26 : 174-182
- Michaud, A.L., L. Hare & P.G.C. Campbell, 2005. Exchange rates of cadmium between a burrowing mayfly and its surroundings in nature. *Limnol. Oceanogr.* 50 : 1707-1717
- Nguyen, L.T.H., G.A. Burton Jr., C.E. Schlekot & C.R. Janssen, 2011. Field measurement of nickel sediment toxicity: role of acid volatile sulphide. *Environ. Toxicol. Chem.* 30 : 162-172
- Nriagu, J.O. & J.M. Pacyna, 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333 : 134-139

Opfer, S.E., J.R. Farver, J.G. Miner & K. Krieger. 2011. Heavy metals in sediments and uptake by burrowing mayflies in western Lake Erie basin. *J. Great Lakes Res.* 37 : 1-8.

Paquin, P.R., V. Zoltay, R.P. Winfield, K.B. Wu, R. Mathew, R.C. Santore & D.M. Di Toro. 2002. Extension of the biotic ligand model of acute toxicity to a physiologically-based model of the survival time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver. *Comp. Biochem. Physiol.-C Toxicol. Pharmacol.* 133 : 305-343

Perceval, O., Y. Couillard, B. Pinel-Alloul, E. Bonneris, and P.G.C. Campbell, 2006. Long-term trends in accumulated metals (Cd, Cu and Zn) and metallothionein in bivalves from lakes within a smelter-impacted region. *Science of the Total Environment* 369 : 403–418

Phillips, D.J.H. & P.S. Rainbow, 1993. *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*. Elsevier, London

Proulx, I. & L. Hare, 2007. Why bother to identify animals used for contaminant monitoring? *Integr. Environ. Assess. Managm.* 4 : 125-132

Proulx, I. INRS-ETE. Données non-publiées

Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ. Pollution* 120 : 497-507

Rasmussen, J.B. 1988. Habitat requirements of burrowing mayflies (Ephemeroidea: *Hexagenia*) in lakes, with special reference to the effects of eutrophication. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 7 : 51-64

Roy, I. & L. Hare, 1998. Eastward range extension in Canada of the alderfly *Sialis velata* (Megaloptera : Sialidae), and the potential of the genus as a contaminant monitor. *Ent. News.* 109 : 285-287

Schloesser, D.W., K.A. Krieger, J.J.H. Ciborowski & L.D. Corkum, 2000. Recolonization and possible recovery of burrowing mayflies (Ephemeroptera: Ephemeroidea: *Hexagenia* spp.) in Lake Erie of the Laurentian Great Lakes. *J. Aquat. Ecosys. Stress Recovery* 8 : 125-141

Strom, D., S.L. Simpson, G.E. Batley & D.F. Jolley, 2011. The influence of sediment particle size and organic carbon on toxicity of copper to benthic invertebrates in oxic/suboxic sediments. *Environmental toxicology and chemistry.* 30(7): 1599-1610

Tessier, A., P.G.C. Campbell & M. Bisson, 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51 : 844-851

Tessier, A., Y. Couillard, P.G.C. Campbell & J.C. Auclair, 1993. Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnology and Oceanography* 38 (1): 1-17

Tipping, E., 2002. *Cation binding by humic substances*, Cambridge University Press, Cambridge

Wang, D., Y. Couillard, P.G.C. Campbell & P. Jolicoeur, 1999. Changes in subcellular metal partitioning in the gills of freshwater bivalves (*Pyganodon grandis*) living along an environmental cadmium gradient. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56 : 774-784

Wang, F., A. Tessier & L. Hare, 2001. Oxygen measurements in the burrows of freshwater insects. *Freshwat. Biol.* 46 : 317-327

Wang, F. & A. Tessier, 2009. Zero-valent sulfur and metal speciation in sediment porewaters of freshwater lakes. *Environ. Sci. Technol.* 43 : 7252-7257

Yan, N.D., R. Girard, J.H. Heneberry, W.B. Keller, J.M. Gunn & P.J. Dillon, 2004. Recovery of copepod, but not cladoceran, zooplankton from severe and chronic effects of multiple stressors. *Ecol. Letters* 7 : 452-460

Zimmerman, M.C. & T.E. Wissing, 1980. The nutritional dynamics of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*. In: *Advances Ephemeroptera Biology* (eds J.F. Flannagan & K.E. Marshall), pp. 231-257. Plenum Press, New-York, NY

8. ANNEXE

Tableau 7. Concentrations en cations et anions majeurs, carbone organique dissous (COD), ainsi que les valeurs de pH dans de l'eau surnageant filtrée des lacs échantillonnés. Les concentrations en acides humiques (HA) et fulviques (FA) sont estimées à partir du COD en présumant que les substances humiques sont faits de 50% de carbone, que tout le COD est sous forme de substances humiques, et que la proportion relative des HA à des FA est de 1 à 9. Le nom des lacs se trouve à la figure 4. (s.l.d.; sous la limite de détection)

LACS	pH	COD (mg/L)	HA (mol/L)	FA (mol/L)	CO ₃ (mol/L)	SO ₄ (mol/L)	NO ₃ (mol/L)
AD	7.6	5.21	1.04E-03	9.38E-03	3.00E-04	8.22E-05	3.87E-06
BO	6.5	14.31	2.86E-03	2.58E-02	8.92E-05	6.81E-05	1.08E-05
BR	7.8	8.03	1.61E-03	1.44E-02	4.64E-04	5.18E-04	5.31E-05
CA	7.2	10.59	2.12E-03	1.91E-02	3.01E-04	6.98E-04	6.99E-05
DA	7.5	8.74	1.75E-03	1.57E-02	2.15E-04	6.47E-05	1.46E-05
DF	6.8	8.82	1.76E-03	1.59E-02	3.24E-04	4.81E-05	7.96E-06
DY	7.6	9.44	1.89E-03	1.70E-02	9.27E-05	7.04E-05	2.35E-05
HE	6.5	10.23	2.05E-03	1.84E-02	3.31E-05	2.50E-04	1.08E-04
JO	7.2	11.59	2.32E-03	2.09E-02	2.26E-04	8.82E-05	1.73E-05
OP	7.6	7.17	1.43E-03	1.29E-02	3.89E-04	1.18E-04	1.71E-05
VA	6.8	9.09	1.82E-03	1.64E-02	6.34E-05	7.76E-05	1.11E-05

LACS	Na (mol/L)	Mg (mol/L)	K (mol/L)	Ca (mol/L)	Cl (mol/L)	F (mol/L)
AD	4.21E-05	7.30E-05	1.35E-05	1.63E-04	1.24E-05	4.91E-06
BO	4.38E-05	3.70E-05	7.80E-06	8.72E-05	5.02E-05	4.91E-06
BR	2.33E-04	1.29E-04	3.48E-05	3.16E-04	7.88E-04	1.57E-05
CA	1.31E-04	9.65E-05	2.35E-05	2.86E-04	3.24E-04	1.95E-05
DA	7.16E-05	4.74E-05	8.80E-06	1.53E-04	1.13E-04	4.42E-06
DF	1.51E-04	7.68E-05	1.65E-05	1.84E-04	3.08E-04	4.63E-06
DY	3.74E-05	4.33E-05	8.93E-06	6.57E-05	8.84E-06	5.16E-06
HE	3.93E-05	3.01E-05	1.10E-05	5.10E-05	4.04E-04	s.l.d.
JO	3.90E-05	6.09E-05	1.14E-05	1.59E-04	1.75E-05	5.23E-06
OP	1.17E-04	1.03E-04	2.63E-05	2.07E-04	1.85E-04	5.12E-06
VA	2.82E-05	3.34E-05	7.01E-06	7.85E-05	1.24E-05	4.91E-06

Tableau 8. Concentrations (nmol/L) de l'ion libre des métaux traces dans de l'eau surnageant filtrée qui a été récoltée en 2009. Ces valeurs ont été calculées à l'aide du logiciel WHAM VI. Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	Cd²⁺	Co²⁺	Cu²⁺	Mn²⁺	Ni²⁺	Pb²⁺	Zn²⁺
AD	0.30	0.99	0.649	55.70	6.12	134.00	18.30
BO	0.46	2.59	0.088	222.00	8.67	38.80	46.40
BR	0.68	2.50	0.419	153.00	15.90	78.20	51.10
CA	0.56	1.39	0.022	137.00	11.00	1.31	38.40
DA	0.38	0.95	0.004	87.50	4.57	manquante	26.00
DF	0.16	0.48	0.070	23.50	4.07	11.20	11.30
DY	0.18	0.46	0.003	58.70	5.33	0.66	14.90
HE	0.04	1.00	0.002	44.20	3.48	1.76	4.92
JO	0.65	1.26	0.031	194.00	9.01	3.80	36.80
OP	0.09	0.53	0.023	37.30	10.80	3.21	7.86
VA	0.46	0.26	0.038	41.20	6.68	5.35	54.80

Tableau 9. Concentrations (moyenne±écart-type; nmol/g poids sec) des éléments traces dans la couche oxygène (0-0.5 cm) des sédiments (Surface) et dans les 5 premiers centimètres des sédiments (Carotte). s.l.d.; sous la limite de détection avant correction pour la taille de particules (lacs HE et VA; voir texte). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	As		Cd		Co		Cu	
	Surface	Carotte	Surface	Carotte	Surface	Carotte	Surface	Carotte
AD	49±3	36±5	18±0.5	16±3.1	173±60	163±19	979±72	.
BO	81±9	105±4	17±3.9	28±2.0	214±20	246±11	611±10	.
BR	67±10	25±7	11±1.0	3±2.4	176±6	210±30	777±107	.
CA	95±9	94±15	11±1.4	16±2.2	203±9	186±21	494±23	.
DA	76±9	86±7	23±1.5	28±5.6	101±5	105±5	899±86	.
DF	99±18	46±11	7±0.3	8±0.7	210±10	195±20	532±27	.
DY	30±4	32±4	9±0.9	12±0.9	166±10	148±11	410±12	.
HE	73±55	68±43	s.l.d	s.l.d	336±124	386±147	264±38	.
JO	292±74	83±3	32±3.1	23±2.7	208±20	160±9	674±33	.
OP	42±6	30±1	6±0.3	6±0.5	221±10	208±11	660±55	.
VA	148±12	135±15	22±3.7	19±3.7	310±23	276±24	458±16	.

LACS	Mn		V		Zn	
	Surface	Carotte	Surface	Carotte	Surface	Carotte
AD	8850±1101	5118±758	530±38	499±22	1640±228	1406±186
BO	7762±1136	4056±398	324±12	365±43	1810±198	2377±306
BR	14625±1230	8806±1705	473±29	671±55	1884±187	1949±93
CA	16415±780	6632±1848	534±24	463±38	2310±194	2833±63
DA	7442±489	5716±203	276±26	265±25	1254±71	1417±181
DF	24689±6235	6989±1253	573±28	584±59	2364±206	2277±281
DY	15899±1377	6125±498	364±32	360±53	1543±141	1557±15
HE	6701±4264	7316±3471	191±44	217±91	1533±907	2273±1758
JO	44771±1891	5724±158	447±40	397±34	2665±245	2150±171
OP	26491±3483	10310±886	647±52	551±55	2161±91	2116±104
VA	16571±5435	5850±528	561±33	607±17	1843±108	1588±185

Tableau 10. Concentrations (moyenne±écart-type) en éléments traces dans les différentes parties de la larve de *Hexagenia limbata* (nmol/g poids sec). « tractus » réfère aux tissus du tractus digestif. Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	As			Cd		
	tractus	reste corps	branchies	tractus	reste corps	branchies
AD	23±7	11±6	7±4	1670±441	154±129	3.9±1.8
BO	50±7	97±56	28±20	285±124	5±3	1.3±0.5
BR	29±5	35±20	22±21	1890±1037	78±82	4.1±1.3
CA	33±5	39±14	14±6	486±170	11±12	1.4±0.5
DA	48±18	28±11	11±3	1329±660	10±6	2.7±0.5
DF	35±10	15±4	7±1	1030±447	12±6	2.0±1.2
DY	15±4	11±9	6±3	636±504	14±20	1.2±0.5
HE	34±12	47±24	14±5	256±172	18±19	1.0±0.3
JO	56±12	172±46	36±19	1498±870	65±57	3.6±1.6
OP	18±3	15±3	13±3	775±238	26±24	2.2±1.0
VA	31±8	38±14	25±21	625±223	19±20	3.4±1.1
Moyenne	34±14	46±48	17±10	953±568	37±34	2±1
max/min	4	16	6	7	5	4

LACS	Co			Cu		
	tractus	reste corps	branchies	tractus	reste corps	branchies
AD	14.3±5.7	8.4±4.6	4.0±2.6	557±203	267±34	349±284
BO	54.1±14.1	15.1±3.3	6.5±2.2	871±230	218±34	543±73
BR	28.0±5.1	29.6±6.3	14.7±12.0	1772±417	362±45	557±147
CA	15.9±5.2	15.8±7.6	4.8±2.2	718±411	225±42	400±78
DA	13.0±4.2	8.4±3.5	2.6±0.4	507±168	191±148	355±142
DF	16.9±6.5	14.0±2.7	4.4±1.4	287±68	173±5	133±15
DY	26.7±15.7	8.4±2.5	4.8±1.6	370±91	211±44	358±98
HE	39.6±10.4	13.9±2.2	6.8±1.6	361±50	214±38	244±82
JO	15.9±4.3	21.9±2.2	5.1±2.6	653±274	314±32	597±242
OP	40.6±14.8	41.4±7.4	40.6±21.4	408±169	211±19	348±64
VA	20.3±5.5	12.6±4.1	4.2±0.9	1190±460	264±39	1198±272
Moyenne	26±13	17±10	9±11	699±443	241±56	462±280
max/min	4	5	16	6	2	9

LACS	Mn			Zn		
	tractus	reste corps	branchies	tractus	reste corps	branchies
AD	836±448	1762±1935	787±1237	13017±3871	3233±1087	787±61
BO	2113±1217	592±237	146±74	10137±3543	2153±132	703±83
BR	2423±915	11762±3426	7016±7318	13433±6280	2384±396	932±246
CA	1109±315	2872±2126	516±112	10427±2485	2078±135	710±133
DA	1913±854	6356±2977	1012±205	24070±9003	2011±538	867±84
DF	1474±793	7625±2452	1661±820	18765±6031	1942±156	929±131
DY	1116±374	1241±525	471±196	15348±10447	2322±356	895±95
HE	664±222	277±110	124±72	7097±3420	2357±535	731±93
JO	1550±320	8160±1723	1504±1463	11913±3356	2405±304	664±126
OP	5070±5166	25388±4111	30235±22443	11788±4100	2165±351	807±76
VA	1611±1113	2820±1135	271±105	10529±2521	2150±442	804±132
Moyenne	1807±1207	6260±7337	3985±8952	13320±4677	2291±349	803±94
max/min	8	92	245	3	2	1

LACS	Se			V		
	tractus	reste corps	branchies	tractus	reste corps	branchies
AD	55±6	57±5	55±5	61±42	20±10	17±9
BO	63±21	58±19	66±21	79±21	123±53	63±38
BR	61±11	58±6	66±12	69±15	46±19	35±22
CA	57±6	93±17	89±20	36±9	33±10	22±10
DA	65±12	49±4	57±9	27±11	26±9	16±7
DF	42±11	26±3	35±4	35±17	29±5	12±4
DY	65±6	59±10	69±9	32±11	39±33	30±10
HE	65±15	58±9	57±13	56 ±12	61±23	31±13
JO	82±17	91±4	76±12	33±5	126±38	40±15
OP	49±10	40±4	48±6	54±23	55±4	69±23
VA	89±24	83±23	89±27	22±9	44±16	36±35
Moyenne	63±13	61±21	64±16	46±19	55±37	34±18
max/min	2	2	3	4	6	6

Tableau 11. Concentrations des éléments traces (moyenne±écart-type ; nmol/g poids sec) dans les sédiments du tractus digestif des larves de *Hexagenia limbata*. Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	As	Cd	Co	Cu	Mn	V	Zn
AD	60±4	180±209	112±11	858±67	7736±922	300±46	3661±2058
BO	95±26	67±31	173±51	509±109	8109±4101	171±62	4333±993
BR	94±8	216±208	143±18	1210±278	13591±4347	324±54	4329±1456
CA	157±46	94±107	189±36	612±129	12912±4124	331±33	5183±2313
DA	109±19	113±82	77±13	849±129	14470±6164	194±68	3638±1493
DF	65±10	86±65	131±40	425±49	14957±5687	301±63	3407±1598
DY	31±7	57±43	98±25	381±157	12620±5573	170±70	2762±1449
HE	70±9	80±62	122±28	282±94	3772±1136	164±63	3625±1539
JO	216±31	123±93	142±24	526±126	26549±4453	278±53	2968±1184
OP	40±8	125±92	148±29	561±72	18926±5715	413±75	4247±1636
VA	50±9	50±18	59±6	278±54	5634±1709	125±11	1329±407
max/min	7.0	4.3	3.2	4.4	7.0	3.3	3.9

Tableau 12. Concentrations (±écart-type; µmol/g poids sec) des SEM (« Simultaneously Extracted Metal ») pour chacun de 5 métaux ainsi que le SEM total (la somme des 5 métaux). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	SEM _{Cd}	SEM _{Cu}	SEM _{Ni}	SEM _{Pb}	SEM _{Zn}	SEM total
AD	0.0217±0.0053	0.4543±0.0805	0.0945±0.0584	0.1507±0.0392	0.5115±0.1157	1.2327±0.2991
BO	0.0386±0.0068	0.3013±0.0635	0.1067±0.0166	0.1413±0.0338	1.8413±0.6697	2.4292±0.7904
BR	0.0081±0.0020	0.3514±0.0893	0.1866±0.0696	0.0690±0.0211	0.4437±0.0923	1.0587±0.2743
CA	0.0199±0.0079	0.3441±0.1053	0.1054±0.0397	0.0646±0.0181	0.9208±0.3228	1.4548±0.4938
DA	0.0323±0.0009	0.3916±0.0334	0.0288±0.0084	0.1812±0.0065	0.8207±0.0559	1.4546±0.1051
DF	0.0116±0.0028	0.2752±0.0441	0.1350±0.1139	0.1555±0.0368	0.5867±0.0955	1.1641±0.2930
DY	0.0178±0.0023	0.2365±0.0324	0.1058±0.0418	0.1200±0.0182	0.7185±0.0755	1.1986±0.1702
HE	0.0028±0.0004	0.0660±0.0100	0.2384±0.3224	0.0572±0.0128	0.2872±0.0912	0.6514±0.4371
JO	0.0271±0.0120	0.2940±0.1020	0.0478±0.0108	0.1854±0.0568	1.1377±0.4264	1.6920±0.6080
OP	0.0068±0.0006	0.3139±0.0261	0.3138±0.1702	0.0654±0.0056	0.6435±0.1415	1.3435±0.3439
VA	0.0200±0.0008	0.1772±0.0312	0.1128±0.1140	0.0868±0.0092	0.8860±0.0200	1.2828±0.1754

Tableau 13. Variations temporelles dans les concentrations moyennes (\pm écart-type; nmol/g poids sec) en Cd, Cu et Zn dans les différentes parties des larves de *Hexagenia limbata* et la somme de ces concentrations (larve entière). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

Cd	BRANCHIES		TRACTUS		RESTE CORPS		LARVE ENTIÈRE	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	45 \pm 17	3.9 \pm 1.8	2972 \pm 787	1670 \pm 441	116 \pm 56	125 \pm 104	284 \pm 73	243 \pm 56
BO	25 \pm 8	1.3 \pm 0.5	670 \pm 306	285 \pm 124	18 \pm 6	5 \pm 2	79 \pm 35	27 \pm 9
BR	48 \pm 17	4.1 \pm 1.3	3207 \pm 1081	1890 \pm 1037	57 \pm 15	68 \pm 70	325 \pm 93	201 \pm 74
CA	20 \pm 7	1.4 \pm 0.5	1090 \pm 119	486 \pm 170	41 \pm 7	10 \pm 10	129 \pm 29	59 \pm 18
DA	50 \pm 8	2.7 \pm 0.5	813 \pm 502	1329 \pm 660	44 \pm 4	10 \pm 4	89 \pm 32	105 \pm 49
DY	12 \pm 3	1.2 \pm 0.5	1477 \pm 65	636 \pm 504	53 \pm 14	15 \pm 17	157 \pm 56	66 \pm 48
HE	8 \pm 3	1.0 \pm 0.3	70 \pm 46	256 \pm 172	7 \pm 2	16 \pm 16	17 \pm 11	29 \pm 15
JO	7 \pm 3	3.6 \pm 1.6	1905 \pm 497	1498 \pm 870	27 \pm 11	55 \pm 52	207 \pm 87	240 \pm 104
OP	28 \pm 5	2.2 \pm 1.0	555 \pm 238	775 \pm 238	27 \pm 3	24 \pm 23	69 \pm 17	78 \pm 14
VA	10 \pm 3	3.4 \pm 1.1	616 \pm 394	625 \pm 223	26 \pm 23	19 \pm 18	124 \pm 103	91 \pm 30

Cu	BRANCHIES		TRACTUS		RESTE CORPS		LARVE ENTIÈRE	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	322 \pm 87	349 \pm 284	1043 \pm 378	557 \pm 203	575 \pm 161	267 \pm 34	572 \pm 153	295 \pm 36
BO	339 \pm 131	543 \pm 73	597 \pm 257	871 \pm 230	293 \pm 32	218 \pm 34	330 \pm 11	287 \pm 35
BR	457 \pm 93	557 \pm 147	1920 \pm 902	1772 \pm 417	402 \pm 61	362 \pm 45	541 \pm 142	464 \pm 75
CA	834 \pm 116	400 \pm 78	2055 \pm 905	718 \pm 411	489 \pm 57	225 \pm 42	650 \pm 145	285 \pm 63
DA	953 \pm 478	355 \pm 142	812 \pm 306	507 \pm 168	360 \pm 108	191 \pm 148	410 \pm 165	224 \pm 15
DY	268 \pm 4	358 \pm 98	592 \pm 52	370 \pm 91	277 \pm 27	211 \pm 44	308 \pm 27	232 \pm 44
HE	516 \pm 402	244 \pm 82	966 \pm 255	361 \pm 50	270 \pm 51	214 \pm 38	315 \pm 78	224 \pm 38
JO	1385 \pm 516	597 \pm 242	1908 \pm 895	653 \pm 274	326 \pm 40	314 \pm 32	517 \pm 74	376 \pm 75
OP	698 \pm 24	348 \pm 64	942 \pm 368	408 \pm 169	353 \pm 64	211 \pm 19	445 \pm 57	232 \pm 26
VA	378 \pm 62	1198 \pm 272	1165 \pm 786	1190 \pm 460	282 \pm 183	264 \pm 39	312 \pm 181	451 \pm 20

Zn	BRANCHIES		TRACTUS		RESTE CORPS		LARVE ENTIÈRE	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	1665 \pm 325	787 \pm 61	24192 \pm 6407	13017 \pm 3871	2699 \pm 417	3233 \pm 1087	3504 \pm 493	3902 \pm 667
BO	1358 \pm 267	703 \pm 83	19387 \pm 6276	10137 \pm 3543	2869 \pm 442	2153 \pm 132	4262 \pm 895	2692 \pm 348
BR	1714 \pm 513	932 \pm 246	22430 \pm 6450	13433 \pm 6280	2528 \pm 403	2384 \pm 396	4245 \pm 257	3131 \pm 445
CA	1318 \pm 309	710 \pm 133	25496 \pm 6942	10427 \pm 2485	3017 \pm 251	2078 \pm 135	4760 \pm 644	2829 \pm 264
DA	1713 \pm 108	867 \pm 84	25529 \pm 12366	24070 \pm 9003	2868 \pm 181	2011 \pm 538	4020 \pm 693	3547 \pm 760
DY	1365 \pm 31	895 \pm 95	28024 \pm 13874	15348 \pm 10447	2436 \pm 578	2322 \pm 356	4051 \pm 335	3413 \pm 991
HE	1240 \pm 263	731 \pm 93	16858 \pm 3757	7097 \pm 3420	2273 \pm 145	2357 \pm 535	3314 \pm 423	2534 \pm 405
JO	1469 \pm 231	664 \pm 126	16482 \pm 4289	11913 \pm 3356	2546 \pm 140	2405 \pm 304	3701 \pm 213	3509 \pm 353
OP	1839 \pm 617	807 \pm 76	14701 \pm 6645	11788 \pm 4100	2529 \pm 126	2165 \pm 351	3437 \pm 578	2815 \pm 314
VA	1126 \pm 20	804 \pm 132	20350 \pm 7127	10529 \pm 2521	2115 \pm 210	2150 \pm 442	3806 \pm 865	2920 \pm 426

Tableau 14. Concentrations (nmol/L) de Cd, Cu et Zn dissous ainsi que les valeurs de l'ion libre, dans l'eau surnageant avec la variation temporelle et le % de variation. Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	Cd		Variation	Variation	Cd ²⁺		Variation	Variation
	1987-1992	2009		%	1987-1992	2009		%
AD	0.29	0.31	0.02	6	0.15	0.30	0.15	97
BO	2.37	1.06	-1.31	-55	0.10	0.46	0.36	379
BR	1.27	0.71	-0.56	-44	1.09	0.68	-0.41	-38
CA	3.14	0.80	-2.34	-74	2.38	0.56	-1.82	-76
DA	1.55	0.57	-0.98	-63	1.11	0.38	-0.73	-66
DF	0.31	0.20	-0.11	-35	0.22	0.16	-0.06	-28
DY	0.32	0.31	-0.01	-5	0.07	0.18	0.11	157
HE	0.67	0.55	-0.12	-17	0.29	0.04	-0.25	-86
JO	1.13	0.88	-0.25	-22	0.83	0.65	-0.18	-22
OP	0.37	0.09	-0.28	-75	0.26	0.09	-0.17	-66
VA	1.19	0.81	-0.38	-32	0.67	0.46	-0.21	-32
	Cu		Variation	Variation	Cu ²⁺		Variation	Variation
	1987-1992	2009		%	1987-1992	2009		%
AD	59.60	66.46	6.86	12	0.020	0.649	0.629	3145
BO	43.50	57.29	13.79	32	0.014	0.088	0.074	515
BR	113.00	125.41	12.41	11	0.034	0.419	0.385	1122
CA	108.00	87.31	-20.69	-19	0.019	0.022	0.003	13
DA	88.40	92.36	3.96	4	0.012	0.004	-0.008	-66
DF	58.70	46.68	-12.02	-20	0.096	0.070	-0.026	-27
DY	33.60	36.60	3.00	9	0.001	0.003	0.002	129
HE	25.90	42.48	16.58	64	0.009	0.002	-0.007	-77
JO	50.90	66.47	15.57	31	0.003	0.031	0.028	799
OP	44.90	43.93	-0.97	-2	0.001	0.023	0.022	1697
VA	49.60	51.58	1.98	4	0.044	0.038	-0.006	-14
	Zn		Variation	Variation	Zn ²⁺		Variation	Variation
	1987-1992	2009		%	1987-1992	2009		%
AD	8.46	21.30	12.84	152	4.91	18.30	13.39	273
BO	117.00	106.61	-10.39	-9	57.40	46.40	-11.00	-19
BR	15.30	69.03	53.73	351	13.20	51.10	37.90	287
CA	228.00	70.03	-157.97	-69	174.00	38.40	-135.60	-78
DA	44.90	55.31	10.41	23	32.50	26.00	-6.50	-20
DF	10.20	14.48	4.28	42	7.90	11.30	3.40	43
DY	16.00	32.89	16.89	106	4.35	14.90	10.55	243
HE	45.30	48.95	3.65	8	23.60	4.92	-18.68	-79
JO	42.10	56.56	14.46	34	31.90	36.80	4.90	15
OP	3.50	10.19	6.69	191	2.61	7.86	5.25	201
VA	68.80	97.35	28.55	42	44.80	54.80	10.00	22

Tableau 15. Variations temporelles dans les concentrations (moyenne±écart-type) en Cd, Cu et Zn dans les sédiments oxiques de surface pour chacun des métaux (nmol/g poids sec) (s.l.d. signifie : sous la limite de détection dans les lacs HE et VA où il y a eu correction pour la taille des particules). Le nom des lacs se trouve à la figure 4.

LACS	Cd		Cu		Zn	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	36	18.4±0.5	615	979±72	1166	1640±228
BO	35	17.3±3.9	319	611±10	2477	1810±198
BR	38	10.8±1.0	1065	777±107	1468	1884±187
CA	54	10.5±1.4	937	494±23	5274	2310±194
DA	102	22.7±1.5	2145	899±86	3195	1331±71
DF	18	6.8±0.3	334	532±27	1005	2440±206
DY	10	9.0±0.9	90	410±12	759	1620±141
HE	10	s.l.d.	203	264±38	1575	1838±906
JO	62	32.0±3.1	895	674±33	2977	2741±245
OP	5	6±0.3	80	660±55	214	2161±91
VA	38	22.0±3.6	868	458±16	4389	2148±108

Tableau 16. Variations temporelles dans les concentrations (moyenne±écart-type) en Cd, Cu et Zn dans les sédiments du tractus digestif des larves pour chacun des métaux (nmol/g poids sec) (pas d'écart-type pour les lacs BR, DF, DY et OP car n=1; il n'y a pas de valeur disponible pour le lac VA pour la période 1987-1992). Le nom des lacs se trouve à la figure 4. (* différence significative)

LACS	Cd		Cu		Zn	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	596±271	180±209	2257±907	858±67 *	6392±3019	3661±2058
BO	143±62	67±31	848±243	509±109	4761±1138	4333±993
BR	293	216±208	898	1210±278	8156	4329±1456
CA	292±239	94±107	2030±350	612±129 *	9791±1772	5183±2313
DA	281±189	113±82	1657±433	849±129 *	3641±795	3638±1493
DF	369	86±65	898	425±49	6618	3407±1598
DY	49	57±43	1069	381±157	2888	2762±1449
HE	30±19	80±62	628±163	282±94 *	3587±2029	3625±1539
JO	176±49	123±93	2140±1529	526±126	3825±734	2968±1184
OP	93	125±92	1130	561±72	4360	4247±1636
VA	.	50±18	.	278±54	.	1329±407

Deuxième Partie

Article

Using trace element concentrations in water, sediments, and the burrowing mayfly *Hexagenia limbata* to evaluate spatial and temporal trends in these contaminants

Julien Lacharité¹ and Landis Hare²

Institut national de la recherche scientifique, Centre Eau Terre Environnement (INRS-ETE), Université du Québec, Quebec City, Quebec, G1K 9A9, Canada

¹Present address: Département de chimie-biologie, UQTR, Trois-Rivières, QC, G9A5H7, Canada

²Corresponding author (landis@ete.inrs.ca)

Running head: Mayfly for evaluating trace elements in lakes

Acknowledgments

Funding was provided by the National Sciences and Engineering Research Council of Canada. Our thanks to Jan Ciborowski and Peter Campbell for their comments on the manuscript, André Tessier for data on sediment metal concentrations, and Dominic Ponton, Isabelle Proulx, and Maikel Rosabal for their help in the field.

Abstract

We set out to evaluate the distribution and bioavailability of trace elements in lakes situated at various distances from a major Canadian metals smelter by measuring As, Cd, Co, Cu, Ni, V, and Zn in lake water, sediments, and the burrowing mayfly *Hexagenia limbata*. Measurements of these contaminants in various parts of *H. limbata* (body, gills, gut tissues and gut contents), suggest that nymphs take up a substantial proportion of their Cd and Zn from the sediments they consume as food. Furthermore, because nymphs feed selectively on sediment particles based on size and nutritional quality, Cd and Zn concentrations in oxic sediments underestimate those to which these insects are exposed. Lakes upwind from the metal smelter had lower trace element concentrations in water, sediments, and *H. limbata* than did those situated downwind. Gradients for As, Cd, Co, Mn, and Zn were generally stronger than those for Cu, Ni, and V. On the one hand, these gradients persist in spite of the fact that smelter emissions were sharply curtailed in the 1970's. On the other hand, comparisons between our values and those from samples collected 2 decades ago suggest that Cd (but not Cu and Zn) concentrations have declined in all media. Thus, although some improvements have occurred, our data suggest that local recovery from historical smelter emissions is incomplete.

Introduction

Societies undergoing rapid industrial development usually do so aggressively and with little regard for contaminants released into the environment. As the negative effects of contaminants on aquatic and terrestrial life become apparent, societies seek to minimize contaminant release and to monitor contaminant concentrations in the environment before and after environmental mitigation. In aquatic ecosystems, contaminant monitoring can involve measurements in water, sediments or organisms. The utility of measurements in each medium depends on the question to be answered. For example, determining the geographical extent of trace metal contamination near a mine or a smelter can be reasonably assessed by measuring contaminants in water or sediment. However, environmental risk assessments require more than this; they also demand estimates of contaminant exposure to organisms (Chapman and Wang 2000). Measurements in water and sediment alone may not suffice because total trace element concentrations in these media include trace elements that are bound to ligands or materials such as organic matter and oxyhydroxides making them partially or completely unavailable to organisms. Thus, trace element speciation in water (Campbell 2005) or sediment (Tessier et al. 1993)

as well as the concentrations of ions competing with trace elements at biological uptake sites (Hare and Tessier 1998; Paquin et al. 2002) may need to be considered to reliably predict the exposure of organisms to these contaminants. A more direct means of evaluating contaminant exposure is to measure trace elements in aquatic organisms. Organisms used in this way are referred to as biomonitors (Luoma and Rainbow 2008) or sentinels (Beeby 2001).

We set out to evaluate the present-day distribution and availability of trace elements in 11 lakes situated at various distances from a Canadian metals smelter that has been in operation for nearly a century. To achieve this goal, we measured 13 trace elements in lake water, in sediments, and in the burrowing mayfly *Hexagenia limbata*. From these we selected 7 trace elements for which we detected a clear environmental gradient, that is, arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), copper (Cu), manganese (Mn), vanadium (V), and zinc (Zn).

To consider trace element availability in lake water, we measured total dissolved trace elements in samples filtered in situ and then calculated concentrations of free metal ions. For sediments, we used a partial digestion method designed to liberate trace elements that are most likely to be available to organisms, that is, digestion in nitric acid followed by hydrogen peroxide (Borgmann et al., 2004; Martin et al. 2008).

We chose the insect *H. limbata* for our study because it has many qualities of an ideal sentinel since it is widespread in North America (McCafferty 1975), identifiable to species (McCafferty 1975), and sufficiently large to allow trace metal measurements in the whole animal and in its organs (Hare et al. 1991a,b; Michaud et al. 2005). We estimated the major environmental compartment (water versus sediment) from which *H. limbata* nymphs are likely to take up trace elements by dissecting nymphs and measuring trace elements in their gills and in their gut tissues. Furthermore, we measured trace elements in nymph gut contents for comparison with concentrations of these contaminants in the surrounding sediments to determine if measurements in bulk sediments are likely to represent the sediment on which these insects feed and thus their exposure to trace elements. We also compared trace element concentrations in nymphs to those in the surrounding water and sediments.

Lastly, we compared trace metal (Cd, Cu, and Zn) concentrations in water, sediments and *H. limbata* collected in 2009 with those collected two decades earlier, shortly after metal-rich and acidic emissions from the smelter had been drastically reduced (Croteau et al. 2002), to determine if metal concentrations in these media have shown a corresponding decline.

Methods

Study sites and sample collection—The Rouyn-Noranda region, located on the Precambrian Shield in western Quebec, is the site of two geological faults rich in metal deposits that have been exploited for nearly a century (Lafleche et al. 1992). Many of the lakes in the region have been contaminated (Hare and Tessier 1998; Borgmann et al. 2004) by atmospheric emissions from the smelter complex located in the city of Rouyn-Noranda and by others local sources. The influence of historic

smelter emissions is detectable in the sediments of lakes located up to 150 km downwind (Gallon et al. 2006).

In early June 2009, we collected sediment, water and *H. limbata* nymphs at a single site (1 to 4.5 m depth) in each of 11 lakes (Fig. 1). On the first visit, 3 acrylic diffusion samplers (peepers) were placed at ≈ 0.5 m below the water surface where they were left to equilibrate for 3 days. Diffusion samplers consisted of a series of 4-mL cells that had been filled with ultrapure water, covered with a polysulfone membrane (Pall Gelman Sciences, HT-200; 0.2 μm) and sealed individually in clean plastic bags filled with ultrapure water for transport to the lakes (Croteau et al. 1998). On collection, samples (1 mL) for organic and inorganic carbon determinations were removed using a syringe and injected through a septum into pre-evacuated and pre-washed glass tubes. Samples (1.5 mL) for the measurement of major anions (Cl, F, NO_2 , NO_3 , SO_4) were removed using a plastic-tipped pipette and injected into pre-washed microcentrifuge tubes (1.5 mL; high-density polyethylene, HDPE). Samples for major cations (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na) and trace elements (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Se, Tl, V, Zn) were removed using a Pipetman pipette (P5000) fitted with an acid-washed plastic tip and injected into pre-washed and pre-acidified (40 μL of 2 mol L^{-1} Seastar HNO_3) 4-mL HDPE vials. All samples were stored at 4 $^\circ\text{C}$ prior to analysis. Measurements of pH were made both in three diffusion sampler cells and in lake water at the same depth as the diffusion samples.

Sediments were collected by gently lowering and raising an Ekman grab, so that the sediments it contained would not be disturbed. In the boat, overlying water was allowed to run off by gravity and the integrity of the sample was noted based on the present of a light-colored surface layer. If intact, three samples of oxic sediment were obtained by removing the topmost 0.5 cm with a plastic card. Other intact grab samples were used to obtain three 5-cm long cores using 2.5-cm diameter syringes that had been cut at the distal end. All sediment samples were stored in Whirlpak bags at 4 $^\circ\text{C}$ prior to metal analyses.

Nymphs (22 ± 3 mm) were collected by Ekman grab, separated from the sediment by sieving through a 0.5-mm mesh-aperture net, and placed in 4-L plastic bags containing lake water. On return to our field laboratory, nymphs were immobilized by holding them in carbonated water for ≈ 1 minute, rinsed with lake water, and their body length, head width and gender were determined under a dissecting microscope. The body surface was gently scraped clean of any adhering iron/manganese oxide deposits and nymphs were placed in insect physiological saline (Pantin 1969) and dissected into gills, gut and remaining body parts (Hare et al. 1989). The gut was opened and cleared of its contents, which were analyzed separately. To obtain sufficient mass, the corresponding parts of 3 nymphs were pooled (males and females were included in each sample) and placed on pieces of acid-washed Teflon sheeting held in polypropylene tubes that were then frozen at -20 $^\circ\text{C}$.

Analyses—All labware to be used for metal measurements was washed in 15% (vol/vol) HNO_3 for 24 h, rinsed seven times with ultrapure water, and dried in a laminar flow hood prior to use.

In lake water, dissolved organic carbon (DOC) was measured using a Shimadzu VPCH and dissolved inorganic carbon (DIC) was measured on a Combioal 3800. Major anions were analyzed by ion chromatography (Dionex Autolon system DX 300). Major cations and trace elements were analysed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, Thermo Electron Corp., model X7) and inductively coupled plasma absorption emission spectrometry (ICP-AES, Varian Vista AX) (Michaud et al. 2005).

Concentrations of free metal ions were estimated using the Windermere Humic Aqueous Model (WHAM VI, Tipping 1998, Lofts and Tipping, 2011). Concentrations of fulvic and humic acids required as input data to the WHAM computer code were estimated from our measurements of dissolved organic carbon by assuming that humic substances contain 50% carbon, that the ratio of humic to fulvic acids is 1:9 and that all dissolved organic carbon is present as humic substances (Hare and Tessier 1998).

Samples of surface oxic sediments, stirred sediment cores, body parts of nymphs and gut contents were first freeze dried and digested in 15-mL HDPE vials using concentrated nitric acid (Optima purity; 100 μ L acid per mg dry weight), at room temperature, for 3-5 days. Hydrogen peroxide (Optima purity) was added (40 μ L per mg dry weight) 1-3 days prior to final dilution with ultrapure water (860 μ L per mg dry weight). Samples of lobster hepatopancreas (TORT-1, National Research Council of Canada) were also subjected to the same protocol so as to verify the efficacy of this digestion method for insect samples. Values obtained for TORT-1 fell within the range of certified values for all trace elements. Trace elements in digested samples of sediments and *H. limbata* were analyzed by ICP-MS and ICP-AES.

Sediments in all but two of the study lakes were composed of very fine clay and silt particles. Exceptionally, in two of the study lakes (HE and VA), the sediment samples contained a high proportion of sand, which acted to increase their mass but not their trace element contents. To compensate for this bias, we sieved sediment from lakes HE and VA to determine the mass of the silt fraction (<20 μ m particle size) and used this proportion to correct trace element values for these lakes. Where initial uncorrected values fell below the element detection limit, the correction was not applied and these values are reported as <d.l.

Statistical analyses were performed using Systat version 11.

Results and Discussion

Trace elements in lake water—Data on lake water chemistry, including trace element concentrations, are presented in Table 1. Concentrations of major ions (required to calculate free metal ion concentrations) are presented in supplementary Table S1. The ratios of values measured for total dissolved Cd, Co, Mn and Zn were greater than 10, which confirms the existence of strong gradients in these samples among the study lakes. In contrast, the ranges of values for As, Cu and V were 4 or less. In terms of free metal ion concentrations, the trend was similar for all metals except Cu for which free ion concentrations ranged very widely among lakes. The vast majority of the dissolved Cu was likely bound to DOC making Cu^{2+}

concentrations in lake water vanishingly small and highly variable depending on the concentration and the quality of the DOC present (Fortin et al. 2010).

Lakes upwind from the metal smelter in Rouyn-Noranda (AD, DY, OP; Fig. 1) generally had lower trace element concentrations in water than did those situated downwind (Table 1). This geographical gradient exists in spite of the fact that stack emissions were strongly reduced beginning in the 1980's (Croteau et al. 2002). Thus the current trend likely represents historical loadings, whether in the drainage basins or in lake sediments, that continue to influence trace element concentrations in the overlying water of the study lakes.

To determine if there has been some improvement in lake water quality over the last two decades, we compared our data for lake water concentrations of Cd^{2+} , Cu^{2+} , and Zn^{2+} in 2009 with those for water samples collected 2 decades ago (1989-1992; Hare and Tessier 1998, Hare unpublished). Detailed data on temporal changes in the concentrations of total dissolved metals and free metal ions are given in supplementary Table S2. Free Cd ion concentrations were lower in 9 of the 11 lakes, with the strongest decline occurring in Lake CA. Declines in Cd are noteworthy since this nonessential metal is generally more toxic to aquatic animals than are the essential metals Cu and Zn (Borgmann et al. 1998). Concentrations of Cu^{2+} and Zn^{2+} changed little in the majority of lakes (Fig. 2), with the exception of lake CA where there was a substantial decrease in $[\text{Zn}^{2+}]$ and in lakes AD and BR where marked increases were measured for both of these essential metals.

Trace elements in sediments—Concentrations of trace elements in surface oxic sediments (0-0.5 cm) are presented in Table 2. Values for whole sediment cores (0-5 cm) were similar to those for oxic sediments (Table S3). Exceptionally, mean Mn concentrations were almost 3 times higher in oxic sediments than in sediment cores (Table S3), which is to be expected given the recognized diagenetic mobility of Mn in sediments and its tendency to concentrate in surface oxic sediments. Borgmann et al. (2004) also reported that differences in trace element concentrations were minor between surface (0-0.5 cm) and deep (0-5 cm) sediments collected from lakes in the study area.

Strong differences among sampling sites in surface sediment trace element concentrations were measured for As, Mn, and Cd (max/min 10, 6.7, and 5.3 respectively), whereas those for Co, Cu, V, and Zn were smaller (Table 2). Exceptionally, the range in As concentrations in surface sediments (10) was greater than that for As concentrations in water (4.0). However, this high range is due to a single lake (JO) that when removed gives a range of 4.9, which is similar to the ranges of As concentrations in water (4.0) and sediment cores (4.5; Table S3). The wide range in Mn concentrations in surface oxic sediments (6.7) was likely due to the lake to lake differences in the geochemical conditions favoring the formation of Mn oxides near the oxic-anoxic interface (Belzile et al. 1989), an explanation that is supported by the much lower range measured for Mn in the sediment cores (2.7; Table S3).

As is the case for lake water, the existence of geographical gradients among lakes sediments suggests that local recovery from historical smelter emissions is likely incomplete. In the case of Cd, low concentrations were measured in sediments

from lakes OP and DY, which are situated upwind from the smelter, and in lake DF, which is situated to the north of the smelter (Table 2).

Historical trends in surface sediment Cd, Cu, and Zn concentrations (Fig. 3) agree with those for lake water (Fig. 2) in suggesting that there has been a widespread decline in Cd concentrations among lakes, whereas those of Cu and Zn have showed less consistent changes. It should be noted that the partial digestion techniques used in the two studies differed somewhat, although they both involved the use of nitric acid and hydrogen peroxide. However, if there had been a consistent bias towards extracting more or less metal, then we would not have expected the trend in sedimentary Cd concentrations to differ from those of Cu and Zn (Fig. 3). Overall, these results suggest that whereas the concentrations of Cd in sedimenting particles has declined in the study lakes, the trends for Cu and Zn vary among lakes depending on processes in their individual drainage basins.

Trace elements in insects—Trace element concentrations in various nymph parts (gills, gut, and body; supplementary Table S5) were used to calculate the concentrations of these contaminants in whole *H. limbata* (Table 3). Lake to lake variations in the range of insect trace element concentrations paralleled those measured in water and sediments in that they were greatest for Mn, As, and Cd (83, 14, and 9, respectively), intermediate for Co and V (5) and smallest for Cu (3) and Zn (2).

Knowing trace element concentrations in nymph parts allows us to explain the great variability measured in nymph Mn and As concentrations among lakes. The lake to lake ranges in Mn concentrations for the body (92) and the gills (245) far exceeded that for gut tissues (8). Likewise, corresponding ratios for As were 16, 6, and 4, respectively (Table S5). These trends contrast with that for Cd, for which the range in values was highest in the gut (Table S5). The fact that the body and gills are covered with cuticle that is exposed to the external environment, whereas the gut is not, suggests that much of the Mn and As measured in *H. limbata* nymphs is on their surface, likely in association with deposits of iron and manganese oxides. Hare et al. (1991a) reported that the bulk of the lead (Pb) measured in *Hexagenia rigida* nymphs was associated with deposits of iron oxyhydroxides on the nymph surface and that variability in Pb concentrations among nymphs was due to the extent of this covering, which is likely related to the age of the exoskeleton. Geochemical differences among sediments in the study lakes (e.g., the chemistry of interstitial water) likely explain their propensity for promoting, or not, the deposition of oxidized deposits on nymphs. We conclude that the large majority of the Mn and As measured in *H. limbata* nymphs was not truly bioaccumulated since it did not cross a biological membrane. This fact is important to consider when using concentrations of these elements in *Hexagenia* nymphs, or other burrowing invertebrates, to make inferences about trace element exposure or toxic effects on such animals or when using them as sentinels for these trace elements (Beeby 2001; Luoma and Rainbow 2008). However, metals associated with such deposits would be toxicologically important if they are assimilated by predators such as fish; experimental studies on this subject are lacking.

There is a striking gradient among elements in terms of the relative importance of gut tissues to whole insect burdens (Fig. 4). Cadmium load was present largely in gut tissues (76%), as was a substantial proportion of Zn load (35%) and, to a lesser

extent, Cu (19%) and Co (13%). These percentages are much greater than that of the mass of the gut (8%) in relation to that of the whole insect (Fig. 4), which suggests that these metals are taken up in part from the insect's food (Hare et al. 1991a,b). This idea is supported by the laboratory experiments of Hare et al. (1991a) who showed that Cd and Zn can enter *Hexagenia rigida* nymphs via their gut. Likewise, in a field experiment, Cd was shown to enter and exit nymphs of *H. limbata* via their gut (Michaud et al. 2005). Indeed, Cd is reported to be largely associated with the gut tissues of many aquatic invertebrates and notable proportions of Zn and Cu have been measured in the gut tissues of several types of aquatic insects (Hare et al. 1991b). As would be expected, concentrations of Cd, Co, Cu, and Zn were higher in the gut than in other insect parts (Table S5).

Gills of *H. limbata* appear to have little importance as trace element storage sites (Fig. 4) with the possible exception of Cu for which a slightly higher mean percentage ($9 \pm 3\%$) was found in this organ than would be expected based on its mass ($6 \pm 3\%$). Overall, these data suggest that water is not the major source of trace elements for nymphs. However, we cannot discount the possibility that metals taken up by the gills are transferred to the rest of the body. Since little V was present in the gills or in gut tissues, our data cannot be used to suggest its source.

Relating trace element concentrations in insects to those in water and sediment—Given the potential importance of water as a source of Cu, and of sediment (the nymph's food) as a source of Cd, Co, Cu, and Zn, we compared trace element concentrations in *H. limbata* to those in lake water and sediment. Such comparisons can serve as the basis for demonstrating the utility of a species as a sentinel for aqueous or sedimentary trace elements (Beeby 2001, Luoma and Rainbow 2008).

Although Cu was present in a slightly higher proportion in gills ($9 \pm 3\%$) than might be expected given the contribution of gills to insect weight ($6 \pm 3\%$; Fig. 4) there was no correlation ($p > 0.05$) between the Cu concentrations in gills and those in lake water (whether total dissolved or Cu^{2+}), which suggests that the uptake of Cu from lake water is negligible. Likewise, no significant relationships ($p > 0.05$) were observed between the concentrations of other metals (Cd, Co, Cu, Mn, Zn) in lake water and those in the gills or in other nymph parts. Exceptionally, total dissolved concentrations of the metalloid As were correlated ($p < 0.05$) with As concentrations in both gills ($r^2 = 0.55$) and in whole nymphs ($r^2 = 0.65$; Fig. 6).

A similar trend was observed for sediments in that there were no significant correlations ($p > 0.05$) between trace element concentrations in oxic sediments and those in nymphs with the exception of the metalloid As, for which a significant correlation was observed with As in sediments and in gut tissues ($r^2 = 0.70$). Opfer et al. (2011) also reported a significant relationship between sedimentary As concentrations and whole *Hexagenia* sp. As concentrations in the Laurentian Great Lakes. However, because they did not remove sediments from the gut of their nymphs the correlations they obtained could be biased. Because much of the As associated with nymphs is likely on the exoskeleton (as discussed above), we assume that correlations between As concentrations in nymphs and those in their surroundings are controlled by lake geochemistry rather than by biological uptake.

To explain the lack of significant relationships between trace element concentrations in oxic sediment and those in nymphs, in spite of the fact that large

fractions of some metals load were located in gut tissues (76% of Cd, 35% of Zn, 19% of Cu), we examined the possibility that metal concentrations in the sediment particles consumed by nymphs differed from those in the host oxic sediment. The ratio of trace element concentrations in gut contents to those of oxic sediments was close to unity for several elements (Fig. 7; 0.64 for Co, 0.84 for Mn, 0.95 for Cu and 1.05 for As) such that their concentrations in oxic sediments were correlated with those in gut contents ($p < 0.05$ for As, Cu, Mn, and V). These data suggest that concentrations of these elements in the surrounding oxic sediment represent a reasonable surrogate for the particles actually consumed by nymphs. However, we note that although a fifth of nymph Cu was in gut tissues, sediment Cu concentrations were not correlated with those in gut tissues.

In contrast to the above elements, the comparable ratio for Co (0.64) was markedly lower than unity and those for Zn (1.95) and Cd (9.36) were substantially higher than unity (Fig. 7) such that concentrations of these elements in oxic sediments were not correlated with those in gut contents ($p > 0.05$). These results suggest that exposure to Cd and Zn via sediment is likely to be underestimated using Cd and Zn concentrations in surrounding oxic sediment, with the reverse being the case for Co. Marked differences between trace element concentrations in oxic sediments and those in gut contents can be explained in two ways: either nymphs do not feed on oxic sediment or they select the particles of oxic sediment on which they feed. On the one hand, the observational data of Charbonneau and Hare (1998), as well as those of Gallon et al. (2008), suggest that nymphs do indeed feed on the oxic sediment that lines their burrows. On the other hand, the observations of Zimmerman and Wissing (1980) and Keltner and MacCafferty (1986) indicate that *Hexagenia* nymphs sort sediment particles prior to ingestion both with respect to particle density and quality. Our data suggest that the particles consumed by nymphs are richer in Cd and Zn, but poorer in Co, than those available in the bulk oxic sediment on which they feed.

Cadmium concentrations in gut contents were correlated ($p < 0.01$) with those in both gut tissues ($r^2 = 0.71$) and in whole nymphs ($r^2 = 0.56$), which supports the idea that ingested particles are the major source of Cd for *Hexagenia* nymphs. Furthermore, Cd concentrations in gut tissues and whole nymphs were much higher than those in gut contents (Fig. 7b; ratios of 8.8 and 7.3, respectively), which suggests that nymphs are a net depository for this metal. The product of the behavioural selection of Cd-rich particles and of Cd storage in gut tissues results in an enrichment factor of ≈ 80 between Cd concentrations in gut tissues and those in oxic sediments.

Zinc concentrations in gut contents were not correlated ($p > 0.05$) with those in nymphs. However, like Cd, a high proportion of nymph Zn is located in gut tissues (35%) and Zn concentrations in gut tissues and whole nymphs are much higher than those in gut contents (Fig. 7; ratios of 4.1 and 1.6, respectively), which suggests that nymphs take up a substantial proportion of Zn from ingested sediment. Although these lower values suggest that ingested sediments are a somewhat less important source of Zn than of Cd, the difference between the two metals may be explained in part by the fact that Zn is likely transferred in part to other nymph parts (Hare et al. 1991), where it is used as an essential element in biochemical reactions, whereas the non-essential metal Cd is not.

Although our results suggest that *H. limbata* nymphs could be used as sentinels to estimate bioavailable Cd concentrations in sediments, the case for other trace elements is less clear. For some of the elements that we studied, the small range in concentrations among lakes likely precludes our ability to detect a strong relationship between concentrations in sediment or water and those in this sentinel insect. Thus this insect might still be a useful sentinel for such elements if the environmental gradient under study is sufficiently large. To compare the potential of nymphs as sentinels of trace elements in lake water or in sediments for all of the elements studied, we compared the lake-specific ratios of maximum to minimum trace element concentrations in nymphs to the corresponding ratios in either oxic sediments or lake water (free ion concentrations). There was a strong positive correlation between ratios in nymphs and in oxic sediments (Fig. 8; $r^2 = 0.92$, $p < 0.05$) but not between ratios in nymphs and in lake water ($p > 0.05$), which suggests that the greatest potential of *Hexagenia* nymphs lies in their role as sentinels of contaminants in sediments rather than in the water column.

References

- Beeby, A. 2001. What do sentinels stand for? *Environ. Pollut.* **112**: 285-298.
- Belzile, N., R. R. De Vitre, and A. Tessier. 1989. In situ collection of diagenetic iron and manganese oxyhydroxides from natural sediments. *Nature* **340**: 376-377.
- Borgmann, U., N. Nowierski, L.C. Grapentine, and D.G. Dixon. 2004. Assessing the cause of impacts on benthic organisms near Rouyn-Noranda, Quebec. *Environ. Pollut.* **129**: 39-48.
- Campbell, P.G.C. 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the free-ion activity model. In Tessier A. and Turner D. (eds), *Trace metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, pp. 45-102, Wiley.
- Charbonneau, P. & L. Hare, 1998. Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects. *J. N. Amer. Benthol. Soc.* **17**: 239-249
- Croteau, M.-N., L. Hare, and A. Tessier. 2002. Increases in food web cadmium following reductions in atmospheric inputs to some lakes. *Environ. Sci. Technol.* **36**: 3079-3082.
- Fortin, C., Y. Couillard, B. Vigneault & P.G.C. Campbell, 2010. Determination of free Cd, Cu and Zn concentrations in lake waters by in situ diffusion followed by column equilibration ion-exchange. *Aquat. Geochem.* **16** : 151-172
- Gallon, C., L. Hare & A. Tessier, 2008. Surviving in anoxic surroundings: how burrowing aquatic insects create an oxic microhabitat. *J. N. Amer. Benthol. Soc.* **27**: 570-580
- Gallon, C., A. Tessier, C. Gobeil, and R. Carignan. 2006. Historical perspective of industrial lead emissions to the atmosphere from a Canadian smelter. *Environ. Sci. Technol.* **40**: 741-747.
- Hare, L., P.G.C. Campbell, A. Tessier, and N. Belzile. 1989. Gut sediment in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to animal trace element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**: 451-456.
- Hare, L., E. Saouter, P.G.C. Campbell, A. Tessier, F. Ribeyre, and A. Boudou. 1991a. Dynamics of cadmium, lead, and zinc exchange between nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia rigida* (Ephemeroptera) and the environment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**: 39-47.
- Hare, L., A. Tessier, and P.G.C. Campbell. 1991b. Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**: 1481-1491.
- Hare, L., and A. Tessier. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1850-1859.
- Keltner, J. & W.P. McCafferty, 1986. Functional morphology of burrowing mayflies *Hexagenia limbata* and *Pentagenia vittigera*. *Zool. J. Linnean Soc.* **87** : 139-163.
- Lafleche, M.R., C. Dupuy, and J. Dostal. 1991. Archaean orogenic ultrapotassic magmatism: an example from the southern Abitibi greenstone belt. *Precambrian Res.* **52**: 71-96.
- Lofts, S. and Tipping, E. 2011. Assessing WHAM / Model VII against field measurements of free metal ion concentrations: model performance and the role of uncertainty in parameters and inputs. *Environ. Chem.*, **8** : 501-516
- Luoma, S.N., and P.S. Rainbow. 2008. *Metal Contamination in Aquatic Environments*. Cambridge University Press.
- Martin, S., I. Proulx, and L. Hare. 2008. Explaining metal concentrations in sympatric *Chironomus* species. *Limnology and Oceanography*. **53**: 411-419

McCafferty, W.P. 1975. The burrowing mayflies (Ephemeroptera: Ephemeroidea) of the United States. *Amer. Entomol. Soc.* **101**: 447-504.

Michaud, A.L., L. Hare, and P.G.C. Campbell. 2005. Exchange rates of cadmium between a burrowing mayfly and its surroundings in nature. *Limnol. Oceanogr.* **50**: 1707-1717.

Pantin, C.F.A., 1969. Notes on microscopical technique for zoologists. Cambridge University Press. London. 77 p.

Paquin, P.R., V. Zoltay, R.P. Winfield, K.B. Wu, R. Mathew, R.C. Santore & D.M. Di Toro. 2002. Extension of the biotic ligand model of acute toxicity to a physiologically-based model of the survival time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver. *Comp. Biochem. Physiol.-C Toxicol. Pharmacol.* **133** : 305-343

Tipping, E. 2002. Cation binding by humic substances, Cambridge University Press.

Table 1. Mean (\pm SD) concentrations (nmol L^{-1}) of trace elements dissolved in water that was collected by in-situ filtration from lakes located in the vicinity of a metals smelter. Corresponding free ion concentrations (nmol L^{-1}) are given for the cations. Also presented are lake water pH and DOC (mg L^{-1}). Lake names are given in Figure 1.

Lake	pH	DOC	As	Cd	Cd ²⁺	Co	Co ²⁺	Cu	Cu ²⁺	Mn	Mn ²⁺	V	Zn	Zn ²⁺
AD	7.6	5.2	8 \pm 0.1	0.31 \pm 0.01	0.30	1.1 \pm 0.5	1.0	67 \pm 2	0.649	65 \pm 8	56	13.0 \pm 1.7	21 \pm 8	18
BO	6.5	14.3	18 \pm 0.3	1.06 \pm 0.09	0.46	5.8 \pm 0.3	2.6	58 \pm 2	0.088	510 \pm 15	222	16.4 \pm 3.4	110 \pm 11	46
BR	7.8	8.1	13 \pm 1.0	0.71 \pm 0.12	0.68	3.6 \pm 0.9	2.5	126 \pm 8	0.419	207 \pm 89	153	21.9 \pm 8.6	70 \pm 23	51
CA	7.2	10.6	16 \pm 0.4	0.80 \pm 0.03	0.56	1.7 \pm 0.1	1.4	88 \pm 2	0.022	249 \pm 3	137	10.1 \pm 2.2	66 \pm 1	38
DA	7.5	8.7	15 \pm 0.4	0.57 \pm 0.03	0.38	0.8 \pm 0.1	0.8	92 \pm 6	0.004	235 \pm 112	87	12.8 \pm 4.5	52 \pm 19	26
DF	6.8	8.8	11 \pm 0.1	0.20 \pm 0.01	0.16	0.6 \pm 0.1	0.5	46 \pm 1	0.070	31 \pm 3	23	10.4 \pm 1.9	27 \pm 9	11
DY	7.6	9.4	7 \pm 0.3	0.31 \pm 0.06	0.18	0.9 \pm 0.4	0.5	38 \pm 5	0.003	143 \pm 27	59	8.9 \pm 1.2	13 \pm 5	15
HE	6.5	10.2	12 \pm 0.3	0.56 \pm 0.08	0.04	3.6 \pm 0.1	1.0	44 \pm 15	0.002	253 \pm 2	44	11.6 \pm 2.8	50 \pm 5	5
JO	7.2	11.6	20 \pm 0.1	0.88 \pm 0.01	0.65	1.7 \pm 0.4	1.3	67 \pm 1	0.031	310 \pm 14	194	9.5 \pm 2.0	56 \pm 1	37
OP	7.6	7.2	5 \pm 0.1	0.10 \pm 0.01	0.09	0.6 \pm 0.1	0.5	44 \pm 2	0.023	51 \pm 6	37	10.5 \pm 3.5	8 \pm 3	8
VA	6.8	9.1	13 \pm 0.3	0.85 \pm 0.07	0.46	0.4 \pm 0.1	0.3	52 \pm 3	0.038	74 \pm 8	41	7.7 \pm 2.3	94 \pm 30	55
max/min		2.8	4.0	10.6	17.0	14.5	10.0	3.3	324	16.5	9.7	2.8	13.8	11.1

Table 2. Mean (\pm SD) concentrations (nmol g⁻¹ dry weight) of trace elements in surface oxic sediments collected from lakes located in the vicinity of a metals smelter. Lake names are given in Figure 1. <d.l. = below detection limit

Lakes	As	Cd	Co	Cu	Mn	V	Zn
AD	49 \pm 3	18.4 \pm 0.5	173 \pm 60	979 \pm 72	8850 \pm 1101	530 \pm 38	1640 \pm 228
BO	81 \pm 9	17.3 \pm 3.9	214 \pm 20	611 \pm 10	7762 \pm 1136	324 \pm 12	1810 \pm 198
BR	67 \pm 10	10.8 \pm 1.0	176 \pm 6	777 \pm 107	14625 \pm 1230	473 \pm 29	1884 \pm 187
CA	95 \pm 9	10.5 \pm 1.4	203 \pm 9	494 \pm 23	16415 \pm 780	534 \pm 24	2310 \pm 194
DA	76 \pm 9	22.7 \pm 1.5	101 \pm 5	899 \pm 86	7442 \pm 489	276 \pm 26	1254 \pm 71
DF	99 \pm 18	6.8 \pm 0.3	210 \pm 10	532 \pm 27	24689 \pm 6235	573 \pm 28	2364 \pm 206
DY	30 \pm 4	9.0 \pm 0.9	166 \pm 10	410 \pm 12	15899 \pm 1377	364 \pm 32	1543 \pm 141
HE	73 \pm 55	<d.l.	336 \pm 124	264 \pm 38	6701 \pm 4264	191 \pm 44	1533 \pm 907
JO	292 \pm 74	32.0 \pm 3.1	208 \pm 20	674 \pm 33	44771 \pm 1891	447 \pm 40	2665 \pm 245
OP	42 \pm 6	5.9 \pm 0.3	221 \pm 10	660 \pm 55	26491 \pm 3483	647 \pm 52	2161 \pm 91
VA	148 \pm 12	22.0 \pm 3.6	310 \pm 23	458 \pm 16	16571 \pm 5435	561 \pm 33	1843 \pm 108
max/min	10.0	5.3	3.3	3.7	6.7	3.4	2.1

Table 3. Mean concentrations (\pm SD; nmol g⁻¹ dry weight) of trace elements in reconstituted larvae of *Hexagenia limbata* collected from lakes located in the vicinity of a metals smelter. Lake names are given in Figure 1.

Lake	As	Cd	Co	Cu	Mn	V	Zn
AD	12 \pm 5	243 \pm 56	9 \pm 4	295 \pm 36	1671 \pm 1772	24 \pm 8	3902 \pm 667
BO	89 \pm 48	27 \pm 9	18 \pm 4	287 \pm 35	683 \pm 249	116 \pm 47	2692 \pm 348
BR	34 \pm 19	201 \pm 74	29 \pm 6	464 \pm 75	10847 \pm 3292	47 \pm 17	3131 \pm 445
CA	37 \pm 12	59 \pm 18	15 \pm 7	285 \pm 63	2551 \pm 1792	33 \pm 9	2829 \pm 264
DA	28 \pm 6	105 \pm 49	8 \pm 2	224 \pm 15	5250 \pm 1871	25 \pm 7	3547 \pm 760
DF	16 \pm 4	85 \pm 29	14 \pm 2	181 \pm 13	6341 \pm 3113	28 \pm 5	3133 \pm 434
DY	11 \pm 8	66 \pm 48	10 \pm 3	232 \pm 44	1057 \pm 604	38 \pm 30	3413 \pm 991
HE	44 \pm 22	29 \pm 15	15 \pm 2	224 \pm 38	291 \pm 100	59 \pm 21	2534 \pm 405
JO	149 \pm 39	240 \pm 104	20 \pm 2	376 \pm 75	6886 \pm 1332	108 \pm 31	3509 \pm 353
OP	15 \pm 3	78 \pm 14	41 \pm 6	232 \pm 26	24119 \pm 4065	56 \pm 3	2815 \pm 314
VA	42 \pm 4	91 \pm 30	14 \pm 3	451 \pm 20	2801 \pm 746	38 \pm 14	2920 \pm 426
max/min	14	9	5	3	83	5	2

Figure Captions

Fig. 1. The study area in western Quebec, Canada, showing the location of the 11 study lakes with respect to the metals smelter located in Rouyn-Noranda (modified from Borgmann et al., 2004). The two-letter identification code for each lake is used throughout.

Fig. 2. Differences in free ion concentrations (nmol L^{-1}) of Cd, Cu, and Zn in lake water collected in 1987-1992 and in 2009.

Fig. 3. Differences in the concentrations (nmol g^{-1} dry weight) of Cd, Cu, and Zn in surface oxic sediments collected in 1987-1992 and in 2009.

Fig. 4. Mean percentages ($\pm\text{SD}$) of trace elements in various parts of *Hexagenia limbata* larvae collected from 11 lakes situated in the vicinity of a metals smelter.

Fig. 5. Differences in Cd, Cu, and Zn concentrations (nmol g^{-1} dry weight) in nymphs of *Hexagenia limbata* collected in 1987-1992 and in 2009.

Fig. 6. Relationship between mean ($\pm\text{SD}$) arsenic concentrations in reconstituted *Hexagenia limbata* larvae and those in lake water.

Fig. 7. Mean ($\pm\text{SD}$) ratios of the concentrations of trace elements in (a) sediments removed from the gut of *Hexagenia limbata* and surface oxic sediments and (b) gut tissues of *H. limbata* and sediments removed from its gut.

Fig. 8. Relationship between the ratios of maximum and minimum concentrations of various trace elements in *Hexagenia limbata* nymphs and comparable ratios for surface oxic sediments.

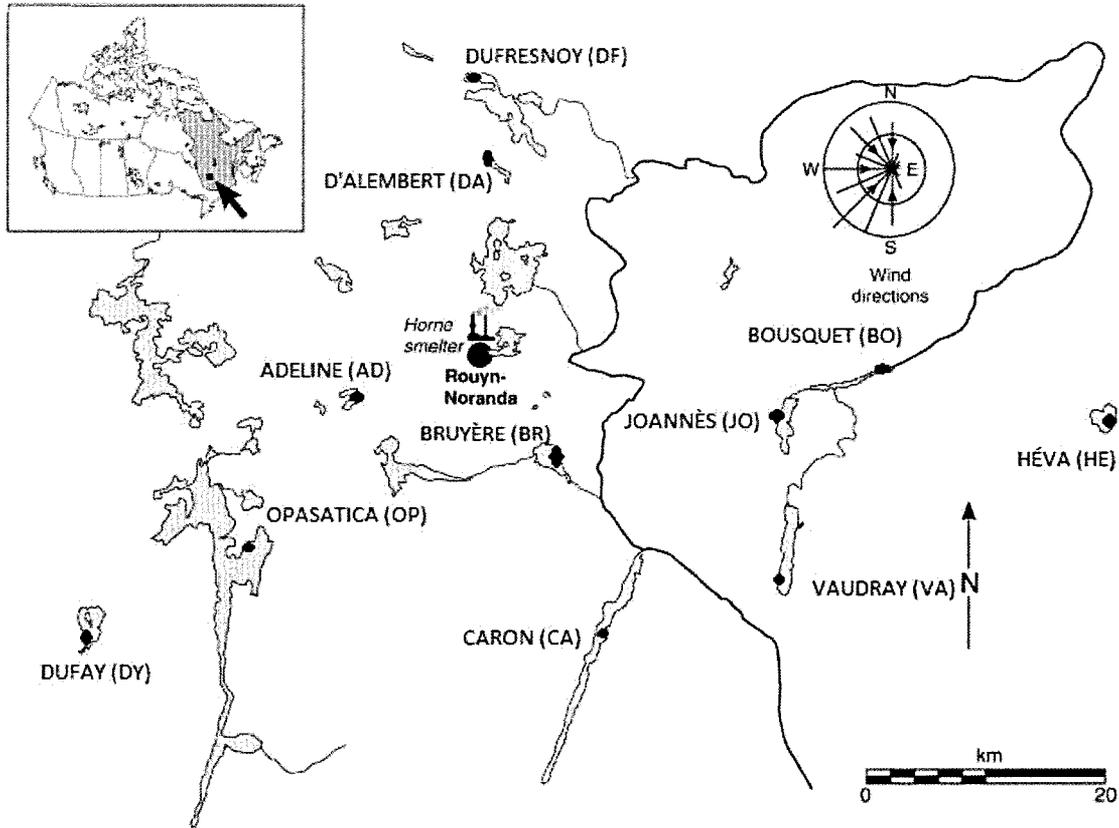


Figure 1

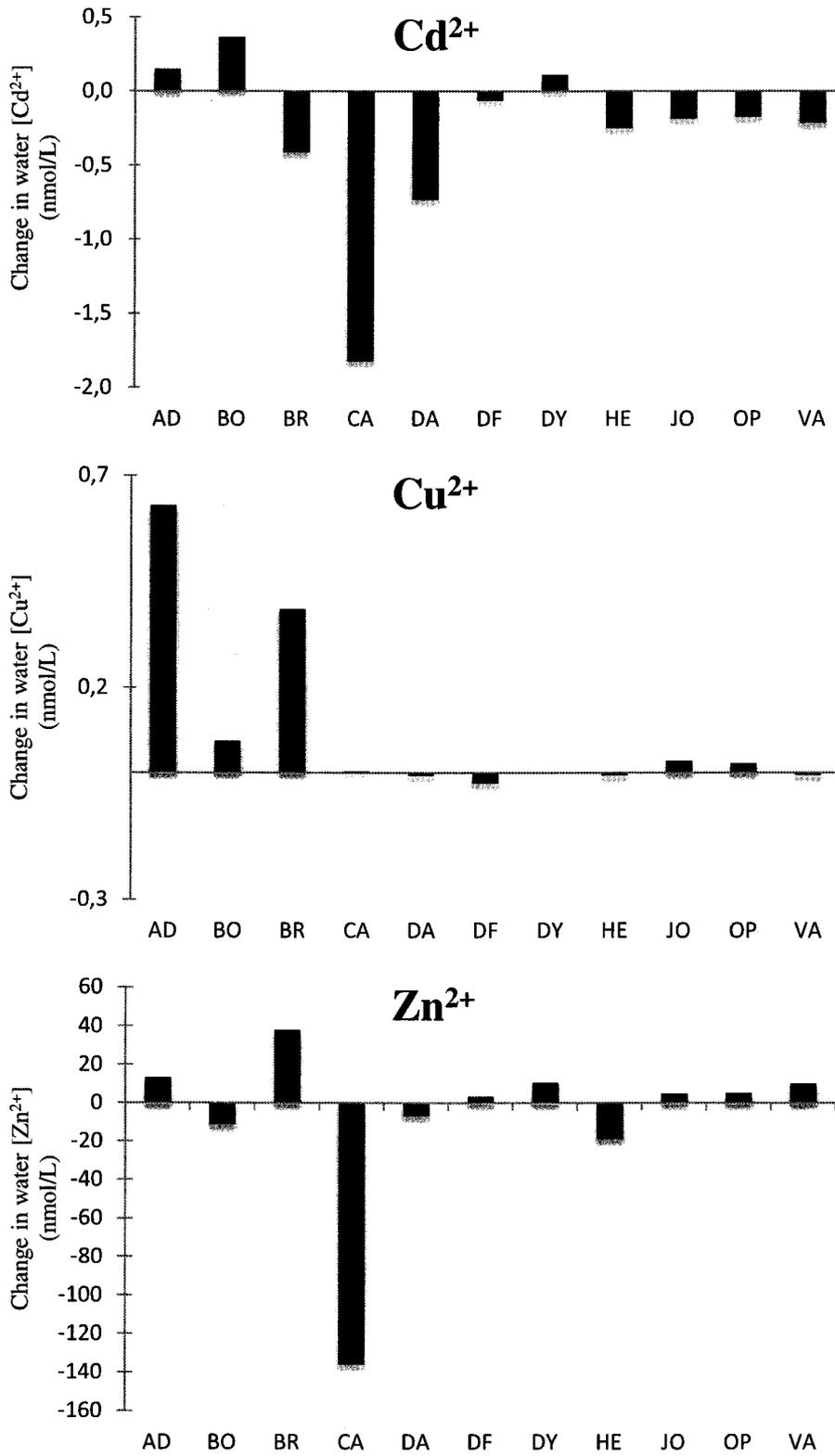


Figure 2

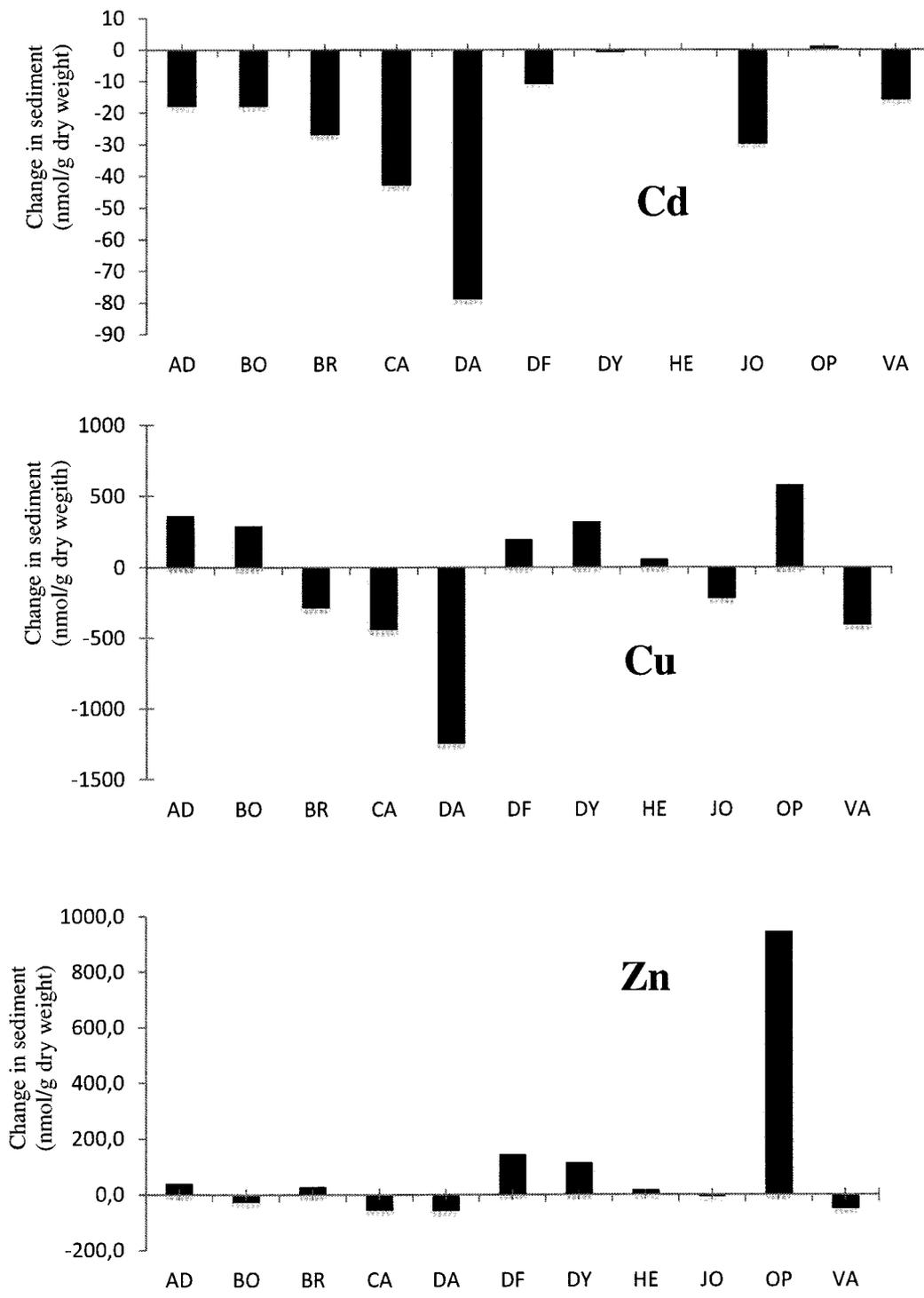
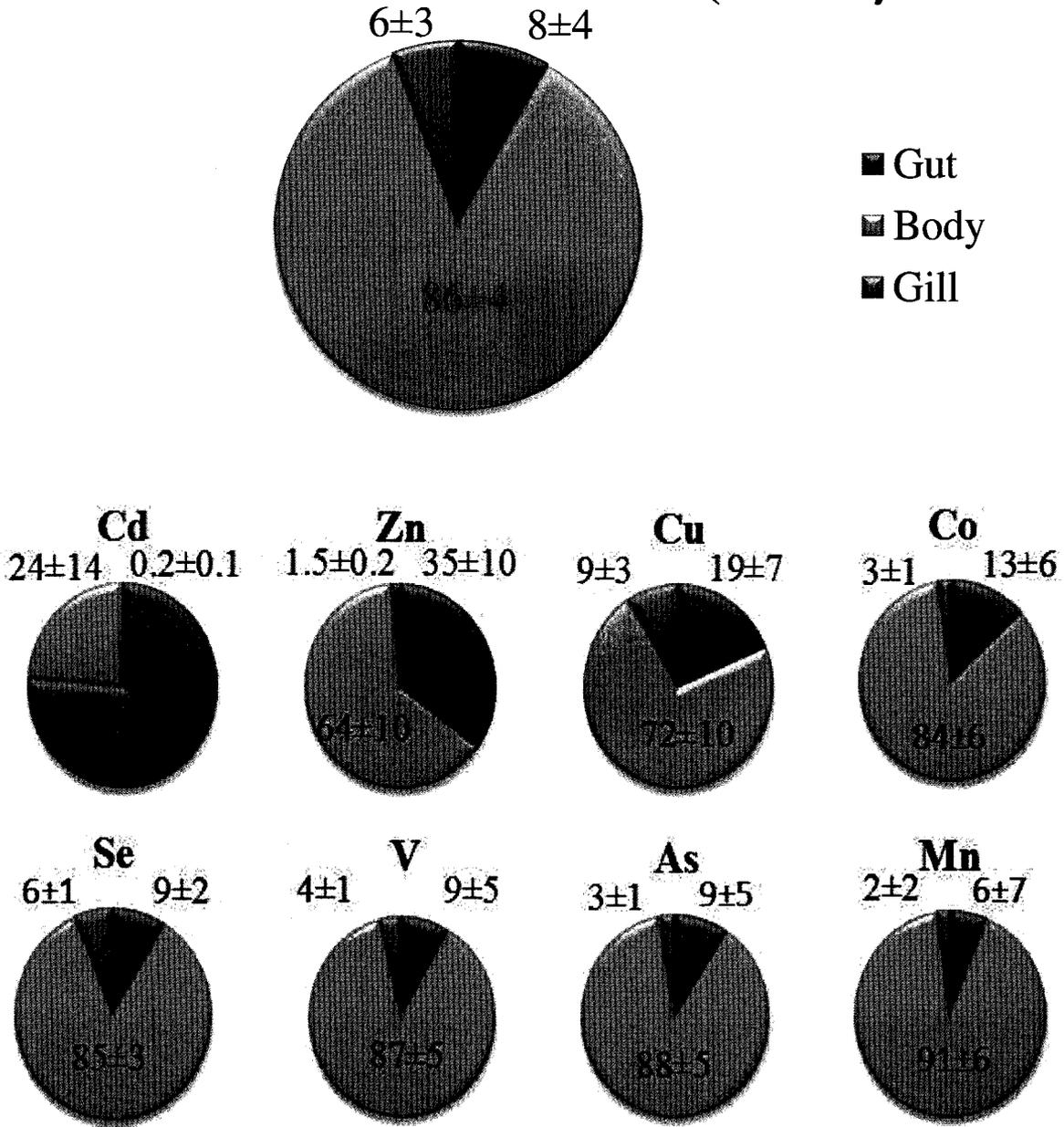


Figure 3

Distribution of mass (% ±SD)



Distribution of trace elements (% ±SD)

Figure 4

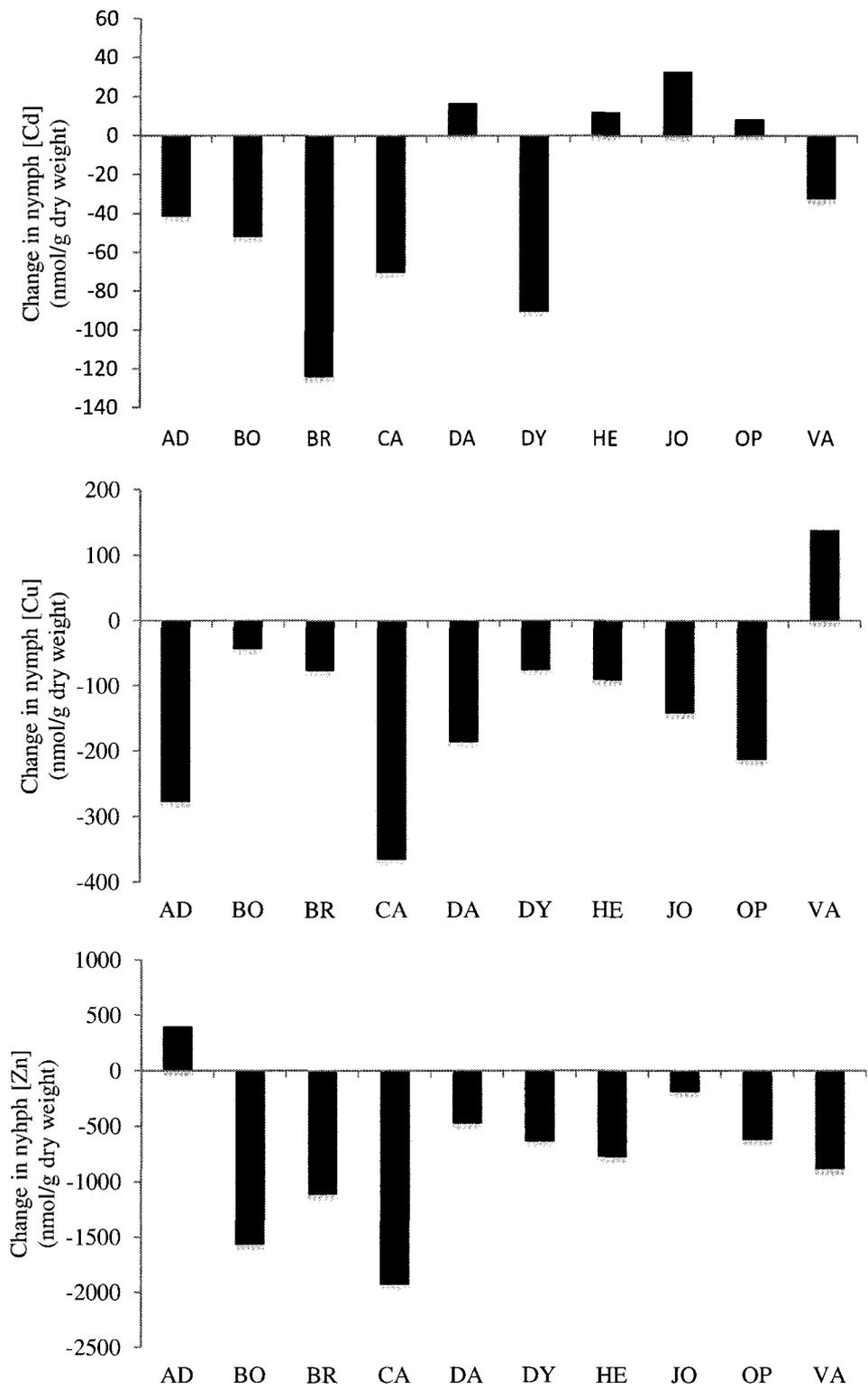


Figure 5

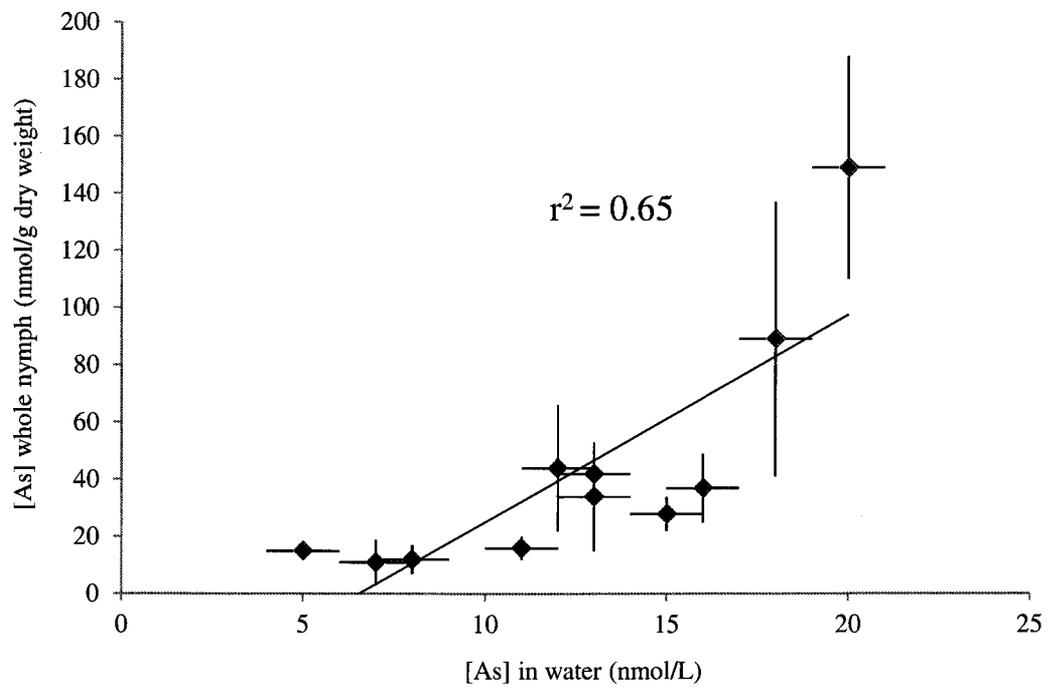


Figure 6

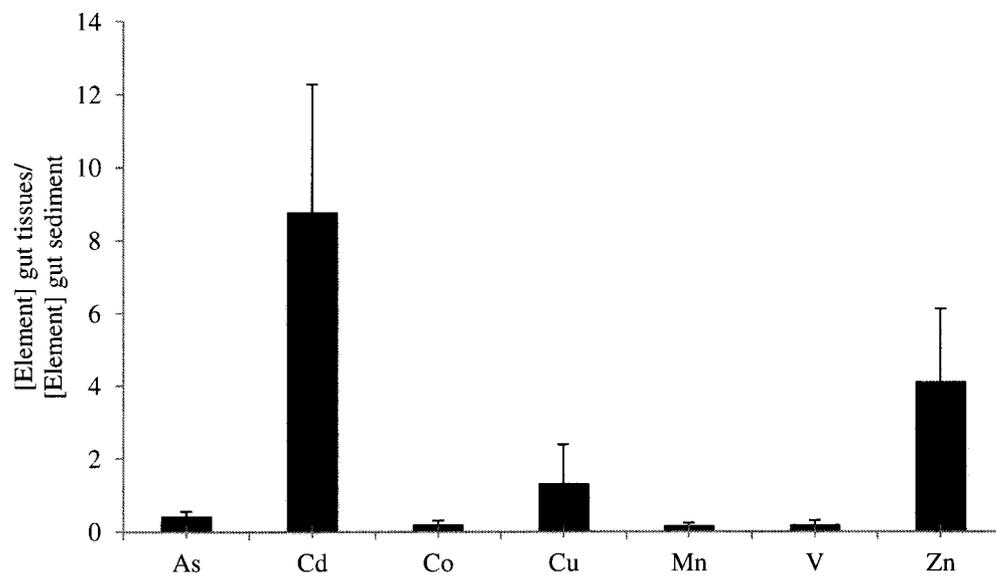
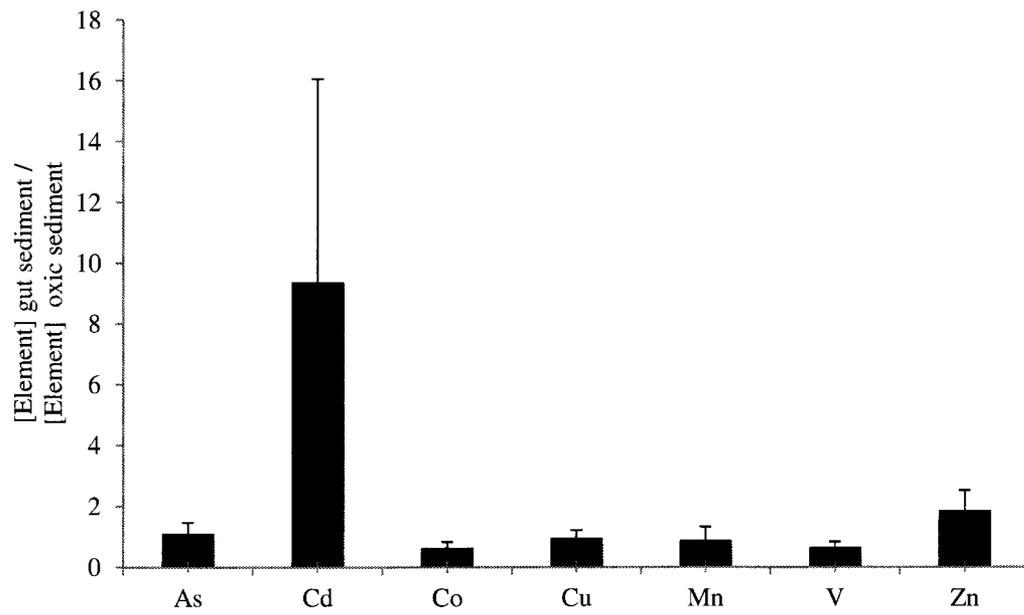


Figure 7

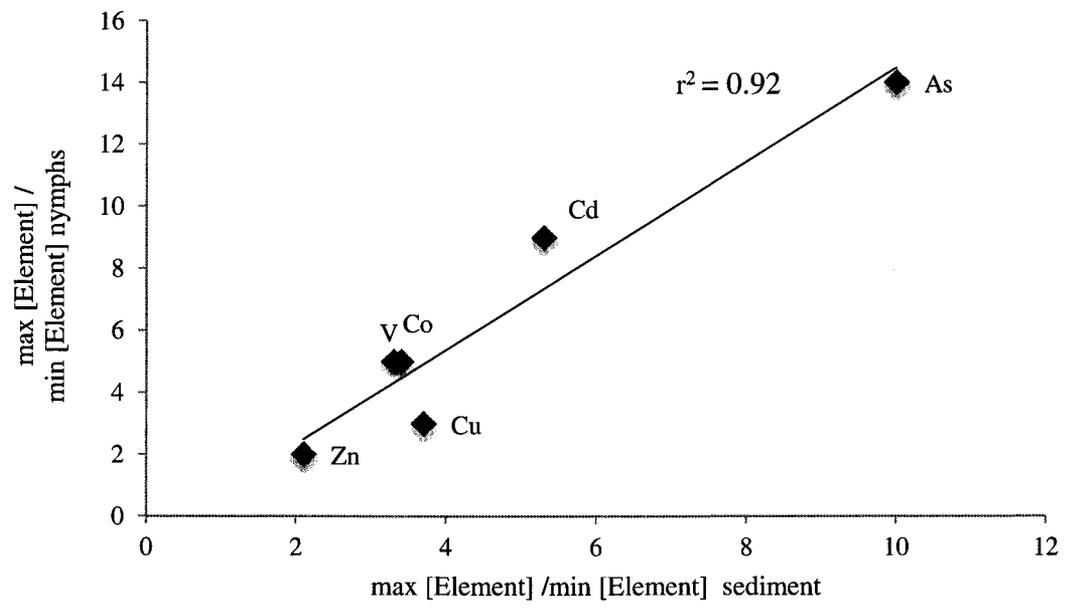


Figure 8

Supplementary Table S1. Concentrations (mol L⁻¹) of major ions in filtered lake water. Lake names are given in Figure 4. (<d.l.; below detection limit)

Lake	CO ₃	SO ₄	NO ₃	Na	Mg	K	Ca	Cl	F
AD	3.00E-04	8.22E-05	3.87E-06	4.21E-05	7.30E-05	1.35E-05	1.63E-04	1.24E-05	4.91E-06
BO	8.92E-05	6.81E-05	1.08E-05	4.38E-05	3.70E-05	7.80E-06	8.72E-05	5.02E-05	4.91E-06
BR	4.64E-04	5.18E-04	5.31E-05	2.33E-04	1.29E-04	3.48E-05	3.16E-04	7.88E-04	1.57E-05
CA	3.01E-04	6.98E-04	6.99E-05	1.31E-04	9.65E-05	2.35E-05	2.86E-04	3.24E-04	1.95E-05
DA	2.15E-04	6.47E-05	1.46E-05	7.16E-05	4.74E-05	8.80E-06	1.53E-04	1.13E-04	4.42E-06
DF	3.24E-04	4.81E-05	7.96E-06	1.51E-04	7.68E-05	1.65E-05	1.84E-04	3.08E-04	4.63E-06
DY	9.27E-05	7.04E-05	2.35E-05	3.74E-05	4.33E-05	8.93E-06	6.57E-05	8.84E-06	5.16E-06
HE	3.31E-05	2.50E-04	1.08E-04	3.93E-05	3.01E-05	1.10E-05	5.10E-05	4.04E-04	<d.l.
JO	2.26E-04	8.82E-05	1.73E-05	3.90E-05	6.09E-05	1.14E-05	1.59E-04	1.75E-05	5.23E-06
OP	3.89E-04	1.18E-04	1.71E-05	1.17E-04	1.03E-04	2.63E-05	2.07E-04	1.85E-04	5.12E-06
VA	6.34E-05	7.76E-05	1.11E-05	2.82E-05	3.34E-05	7.01E-06	7.85E-05	1.24E-05	4.91E-06

Supplementary Table S2. Changes in Cd, Cu and Zn concentrations (nmol L⁻¹) in lake water between 1987-1992 and 2009. Lake names are given in Figure 4.

Lake	dissolved [Cd]		difference	percentage difference	[Cd ²⁺]		difference	percentage difference
	1987-1992	2009			1987-1992	2009		
AD	0.29	0.31	0.02	6	0.15	0.30	0.15	97
BO	2.37	1.06	-1.31	-55	0.10	0.46	0.36	379
BR	1.27	0.71	-0.56	-44	1.09	0.68	-0.41	-38
CA	3.14	0.80	-2.34	-74	2.38	0.56	-1.82	-76
DA	1.55	0.57	-0.98	-63	1.11	0.38	-0.73	-66
DF	0.31	0.20	-0.11	-35	0.22	0.16	-0.06	-28
DY	0.32	0.31	-0.01	-5	0.07	0.18	0.11	157
HE	0.67	0.55	-0.12	-17	0.29	0.04	-0.25	-86
JO	1.13	0.88	-0.25	-22	0.83	0.65	-0.18	-22
OP	0.37	0.09	-0.28	-75	0.26	0.09	-0.17	-66
VA	1.19	0.81	-0.38	-32	0.67	0.46	-0.21	-32
Lake	dissolved [Cu]		difference	percentage difference	[Cu ²⁺]		difference	percentage difference
	1987-1992	2009			1987-1992	2009		
AD	59.6	66.5	6.9	12	0.020	0.649	0.629	3145
BO	43.5	57.3	13.8	32	0.014	0.088	0.074	515
BR	113.0	125.4	12.4	11	0.034	0.419	0.385	1122
CA	108.0	87.3	-20.7	-19	0.019	0.022	0.003	13
DA	88.4	92.4	4.0	4	0.012	0.004	-0.008	-66
DF	58.7	46.7	-12.0	-20	0.096	0.070	-0.026	-27
DY	33.6	36.6	3.0	9	0.001	0.003	0.002	129
HE	25.9	42.5	16.6	64	0.009	0.002	-0.007	-77
JO	50.9	66.5	15.6	31	0.003	0.031	0.028	799
OP	44.9	43.9	-1.0	-2	0.001	0.023	0.022	1697
VA	49.6	51.6	2.0	4	0.044	0.038	-0.006	-14
Lake	dissolved [Zn]		difference	percentage difference	[Zn ²⁺]		difference	percentage difference
	1987-1992	2009			1987-1992	2009		
AD	8.5	21.3	12.8	152	4.9	18.3	13.4	273
BO	117.0	106.6	-10.4	-9	57.4	46.4	-11.0	-19
BR	15.3	69.0	53.7	351	13.2	51.1	37.9	287
CA	228.0	70.0	-158.0	-69	174.0	38.4	-135.6	-78
DA	44.9	55.3	10.4	23	32.5	26.0	-6.5	-20
DF	10.2	14.5	4.3	42	7.9	11.3	3.4	43
DY	16.0	32.9	16.9	106	4.3	14.9	10.6	243
HE	45.3	50.0	3.7	8	23.6	4.9	-18.7	-79
JO	42.1	56.6	14.5	34	31.9	36.8	4.9	15
OP	3.5	10.2	6.7	191	2.6	7.9	5.3	201
VA	68.8	97.3	28.5	42	44.8	54.8	10.0	22

Supplementary Table S3. Mean concentrations (\pm SD; nmol g⁻¹ dry weight) of trace elements in surface oxic sediment (0-0.5 cm) and in sediment cores (0-5 cm). Lake names are given in Figure 4. <d.l.; below detection limit (see methods for explanation).

Lake	As		Cd		Co		Cu	
	surface	core	surface	core	surface	core	surface	core
AD	49 \pm 3	36 \pm 5	18 \pm 0.5	16 \pm 3.1	173 \pm 60	163 \pm 19	979 \pm 72	.
BO	81 \pm 9	105 \pm 4	17 \pm 3.9	28 \pm 2.0	214 \pm 20	246 \pm 11	611 \pm 10	.
BR	67 \pm 10	25 \pm 7	11 \pm 1.0	3 \pm 2.4	176 \pm 6	210 \pm 30	777 \pm 107	.
CA	95 \pm 9	94 \pm 15	11 \pm 1.4	16 \pm 2.2	203 \pm 9	186 \pm 21	494 \pm 23	.
DA	76 \pm 9	86 \pm 7	23 \pm 1.5	28 \pm 5.6	101 \pm 5	105 \pm 5	899 \pm 86	.
DF	99 \pm 18	46 \pm 11	7 \pm 0.3	8 \pm 0.7	210 \pm 10	195 \pm 20	532 \pm 27	.
DY	30 \pm 4	32 \pm 4	9 \pm 0.9	12 \pm 0.9	166 \pm 10	148 \pm 11	410 \pm 12	.
HE	73 \pm 55	68 \pm 43	<d.l.	<d.l.	336 \pm 124	386 \pm 147	264 \pm 38	.
JO	292 \pm 74	83 \pm 3	32 \pm 3.1	23 \pm 2.7	208 \pm 20	160 \pm 9	674 \pm 33	.
OP	42 \pm 6	30 \pm 1	6 \pm 0.3	6 \pm 0.5	221 \pm 10	208 \pm 11	660 \pm 55	.
VA	148 \pm 12	135 \pm 15	22 \pm 3.7	19 \pm 3.7	310 \pm 23	276 \pm 24	458 \pm 16	.
mean	96 \pm 19	68 \pm 10	15.6 \pm 1.7	15.8 \pm 2.4	211 \pm 27	208 \pm 28	614 \pm 44	.
max/min	10.0	5.3	5.4	9.0	3.3	3.7	3.7	.

Lake	Mn		V		Zn	
	surface	core	surface	core	surface	core
AD	8850 \pm 1101	5118 \pm 758	530 \pm 38	499 \pm 22	1640 \pm 228	1406 \pm 186
BO	7762 \pm 1136	4056 \pm 398	324 \pm 12	365 \pm 43	1810 \pm 198	2377 \pm 306
BR	14625 \pm 1230	8806 \pm 1705	473 \pm 29	671 \pm 55	1884 \pm 187	1949 \pm 93
CA	16415 \pm 780	6632 \pm 1848	534 \pm 24	463 \pm 38	2310 \pm 194	2833 \pm 63
DA	7442 \pm 489	5716 \pm 203	276 \pm 26	265 \pm 25	1254 \pm 71	1417 \pm 181
DF	24689 \pm 6235	6989 \pm 1253	573 \pm 28	584 \pm 59	2364 \pm 206	2277 \pm 281
DY	15899 \pm 1377	6125 \pm 498	364 \pm 32	360 \pm 53	1543 \pm 141	1557 \pm 15
HE	6701 \pm 4264	7316 \pm 3471	191 \pm 44	217 \pm 91	1533 \pm 907	2273 \pm 1758
JO	44771 \pm 1891	5724 \pm 158	447 \pm 40	397 \pm 34	2665 \pm 245	2150 \pm 171
OP	26491 \pm 3483	10310 \pm 886	647 \pm 52	551 \pm 55	2161 \pm 91	2116 \pm 104
VA	16571 \pm 5435	5850 \pm 528	561 \pm 33	607 \pm 17	1843 \pm 108	1588 \pm 185
mean	17292 \pm 2493	6603 \pm 1064	447 \pm 33	461 \pm 44	1910 \pm 234	1995 \pm 304
max/min	6.7	2.5	3.4	3.1	2.1	2.0

Supplementary Table S4. Changes in Cd, Cu and Zn concentrations (nmol g⁻¹ dry weight) in surface oxic sediment between 1987-1992 and 2009. Lake names are given in Figure 4.

Lake	Cd		Cu		Zn	
	1987-1992	2009	1987-1992	2009	1987-1992	2009
AD	36	18	615	979	1166	1640
BO	35	17	319	611	2477	1810
BR	38	11	1065	777	1468	1884
CA	54	11	937	494	5274	2310
DA	102	23	2145	899	3195	1254
DF	18	7	334	532	1005	2364
DY	10	9	90	410	759	1543
HE	.	.	203	264	1575	1533
JO	62	32	895	674	2977	2665
OP	5	6	80	660	214	2161
VA	38	22	868	458	4389	1843

Supplementary Table S5. Mean concentrations (\pm SD; nmol g⁻¹ dry weight) of trace elements in parts (gut tissues, body, and gills) and in gut contents of nymphs of the mayfly *Hexagenia limbata*. Lake names are given in Figure 1.

Lake	As				Cd			
	gut	body	gills	gut cont.	gut	body	gills	gut cont.
AD	23 \pm 7	11 \pm 6	7 \pm 4	60 \pm 4	1670 \pm 441	125 \pm 104	3.9 \pm 1.8	180 \pm 209
BO	50 \pm 7	97 \pm 56	28 \pm 20	95 \pm 26	285 \pm 124	5 \pm 2	1.3 \pm 0.5	67 \pm 31
BR	29 \pm 5	35 \pm 20	22 \pm 21	94 \pm 8	1890 \pm 1037	68 \pm 70	4.1 \pm 1.3	216 \pm 208
CA	33 \pm 5	39 \pm 14	14 \pm 6	157 \pm 46	486 \pm 170	10 \pm 10	1.4 \pm 0.5	94 \pm 107
DA	48 \pm 18	28 \pm 11	11 \pm 3	109 \pm 19	1329 \pm 660	10 \pm 4	2.7 \pm 0.5	113 \pm 82
DF	35 \pm 10	15 \pm 4	7 \pm 1	65 \pm 10	1030 \pm 447	11 \pm 6	2.0 \pm 1.2	86 \pm 65
DY	15 \pm 4	11 \pm 9	6 \pm 3	31 \pm 7	636 \pm 504	15 \pm 17	1.2 \pm 0.5	57 \pm 43
HE	34 \pm 12	47 \pm 24	14 \pm 5	70 \pm 9	256 \pm 172	16 \pm 16	1.0 \pm 0.3	80 \pm 62
JO	56 \pm 12	172 \pm 46	36 \pm 19	216 \pm 31	1498 \pm 870	55 \pm 52	3.6 \pm 1.6	123 \pm 93
OP	18 \pm 3	15 \pm 3	13 \pm 3	40 \pm 8	775 \pm 238	24 \pm 23	2.2 \pm 1.0	125 \pm 92
VA	31 \pm 8	38 \pm 14	25 \pm 21	50 \pm 9	625 \pm 223	19 \pm 18	3.4 \pm 1.1	50 \pm 18
mean	34 \pm 14	46 \pm 48	17 \pm 10	90 \pm 16	953 \pm 568	33 \pm 37	2 \pm 1	108 \pm 92
max/min	4	16	6	7	7	25	4	4

Lake	Co				Cu			
	gut	body	gills	gut cont.	gut	body	gills	gut cont.
AD	14.3 \pm 5.7	8.4 \pm 4.6	4.0 \pm 2.6	112 \pm 11	557 \pm 203	267 \pm 34	349 \pm 284	858 \pm 67
BO	54.1 \pm 14.1	15.1 \pm 3.3	6.5 \pm 2.2	173 \pm 51	871 \pm 230	218 \pm 34	543 \pm 73	509 \pm 109
BR	28.0 \pm 5.1	29.6 \pm 6.3	14.7 \pm 12.0	143 \pm 18	1772 \pm 417	362 \pm 45	557 \pm 147	1210 \pm 278
CA	15.9 \pm 5.2	15.8 \pm 7.6	4.8 \pm 2.2	189 \pm 36	718 \pm 411	225 \pm 42	400 \pm 78	612 \pm 129
DA	13.0 \pm 4.2	8.4 \pm 3.5	2.6 \pm 0.4	77 \pm 13	507 \pm 168	191 \pm 148	355 \pm 142	849 \pm 129
DF	16.9 \pm 6.5	14.0 \pm 2.7	4.4 \pm 1.4	131 \pm 40	287 \pm 68	173 \pm 5	133 \pm 15	425 \pm 49
DY	26.7 \pm 15.7	8.4 \pm 2.5	4.8 \pm 1.6	98 \pm 25	370 \pm 91	211 \pm 44	358 \pm 98	381 \pm 157
HE	39.6 \pm 10.4	13.9 \pm 2.2	6.8 \pm 1.6	122 \pm 28	361 \pm 50	214 \pm 38	244 \pm 82	282 \pm 94
JO	15.9 \pm 4.3	21.9 \pm 2.2	5.1 \pm 2.6	142 \pm 24	653 \pm 274	314 \pm 32	597 \pm 242	526 \pm 126
OP	40.6 \pm 14.8	41.4 \pm 7.4	40.6 \pm 21.4	148 \pm 29	408 \pm 169	211 \pm 19	348 \pm 64	561 \pm 72
VA	20.3 \pm 5.5	12.6 \pm 4.1	4.2 \pm 0.9	59 \pm 6	1190 \pm 460	264 \pm 39	1198 \pm 272	278 \pm 54
mean	26 \pm 13	17 \pm 10	9 \pm 11	127 \pm 26	699 \pm 443	241 \pm 56	462 \pm 280	590 \pm 115
max/min	4	5	16	3	6	2	9	4

Lake	Mn			
	gut	body	gills	gut cont.
AD	836 ±448	1762 ±1935	787 ±1237	7736±922
BO	2113 ±1217	592 ±237	146 ±74	8109±4101
BR	2423 ±915	11762 ±3426	7016 ±7318	13591±4347
CA	1109 ±315	2872 ±2126	516 ±112	12912±4124
DA	1913 ±854	6356 ±2977	1012 ±205	14470±6164
DF	1474 ±793	7625 ±2452	1661 ±820	14957±5687
DY	1116 ±374	1241 ±525	471 ±196	12620±5573
HE	664 ±222	277 ±110	124 ±72	3772±1136
JO	1550 ±320	8160 ±1723	1504 ±1463	26549±4453
OP	5070 ±5166	25388 ±4111	30235 ±22443	18926±5715
VA	1611 ±1113	2820 ±1135	271 ±105	5634±1709
mean	1807±1207	6260±7337	3985±8952	12661±3994
max/min	8	92	245	7

Lake	V				Zn			
	gut	body	gills	gutcont.	gut	body	gills	gut cont.
AD	61±42	20±10	17±9	300±46	13017 ±3871	3233 ±1087	787 ±61	3661±2058
BO	79±21	123±53	63±38	171±62	10137 ±3543	2153 ±132	703 ±83	4333±993
BR	69±15	46±19	35±22	324±54	13433 ±6280	2384 ±396	932 ±246	4329±1456
CA	36±9	33±10	22±10	331±33	10427 ±2485	2078 ±135	710 ±133	5183±2313
DA	27±11	26±9	16±7	194±68	24070 ±9003	2011 ±538	867 ±84	3638±1493
DF	35±17	29±5	12±4	301±63	18765 ±6031	1942 ±156	929 ±131	3407±1598
DY	32±11	39±33	30±10	170±70	15348 ±10447	2322 ±356	895 ±95	2762±1449
HE	56 ±12	61±23	31±13	164±63	7097 ±3420	2357 ±535	731 ±93	3625±1539
JO	33±5	126±38	40±15	278±53	11913 ±3356	2405 ±304	664 ±126	2968±1184
OP	54±23	55±4	69±23	413±75	11788 ±4100	2165 ±351	807 ±76	4247±1636
VA	22±9	44±16	36±35	125±11	10529 ±2521	2150 ±442	804 ±132	1329±407
mean	46±19	55±37	34±18	252±54	13320±4677	2291±349	803±94	3589±1466
max/min	4	6	6	3	3	2	1	4