

Rapport COREM-CRSNG

L'influence de la ventilation branchiale
sur la prise en charge du cadmium
chez le bivalve d'eau douce
Pyganodon grandis

Sophie Cooper

Peter G.C. Campbell

Landis Hare

Université du Québec, INRS-ETE

Mars 2004

Table de matières

1. Introduction.....	1
2. Objectifs de recherche.....	3
3. Matériel et Méthodes	4
3.1 Échantillonnage et maintien en laboratoire	4
3.2 Indices de condition.....	5
3.3 Mesure des débits ventilatoires.....	5
3.4 Exposition au cadmium dissous	6
3.5 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous.....	8
4. Résultats.....	8
4.1 Indices de condition.....	8
4.2 Ventilation branchiale et débits ventilatoires	8
4.3 Exposition au cadmium dissous	10
4.4 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous.....	16
5. Discussion.....	16
5.1 Indices de condition.....	16
5.2 Variabilité des débits ventilatoires	20
5.3 Prise en charge du cadmium dissous	20
5.4 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous.....	22
6. Conclusions.....	24
7. Références.....	25

Résumé

Dans le domaine de l'écotoxicologie aquatique, l'utilisation des mollusques comme bioindicateurs se fait de plus en plus commun (*cf.* le programme "Mussel Watch" en milieu marin). Ces animaux peuvent bioconcentrer les métaux de leur environnement, facilitant ainsi leur détection, même à de faibles concentrations. *Pyganodon grandis*, un bivalve retrouvé dans plusieurs lacs et rivières sur le Bouclier canadien, a été identifié comme organisme sentinelle potentiel pour suivre la contamination métallique du milieu aquatique.

Afin d'examiner l'influence de la ventilation branchiale de ces bivalves sur la prise en charge du cadmium (Cd), des spécimens adultes de *P. grandis* ont été prélevés d'un lac non-contaminé de la région minière de Rouyn-Noranda. Les bivalves ont été transportés au laboratoire et maintenus en aquarium à 15 °C. Les indices de conditions ont été calculés tous les mois de captivité des bivalves et ont démontré une diminution d'environ 55% après 7 mois dans la condition des animaux. Les débits ventilatoires (mL/g poids humide/h) ont été estimés pour 10 bivalves à partir de la vitesse de disparition de cellules algales introduites dans leurs enceintes expérimentales. Les débits ventilatoires ont varié entre les individus (de < 2 à ~60 mL/g/h; moyenne = 26 ± 13 mL/g/h) et, pour un bivalve donné, de jour en jour. Pour déterminer l'influence de la concentration en Cd aqueux sur la vitesse d'accumulation du Cd, les bivalves ont été exposés à une gamme de concentrations en $^{109}\text{Cd}^{2+}$ pendant 3 jours (0,1 à 20 nM); ces animaux ont été nourris avec des algues non-contaminées. La quantité de Cd bioaccumulée augmentait en fonction de la concentration en Cd^{2+} dans le milieu d'exposition, avec une tendance évidente vers un plateau à des concentrations supérieures à 5 nM. Après 72 h d'exposition, ~50% du Cd accumulé était présent dans les branchies des bivalves et il y avait une corrélation faible mais statistiquement significative entre la [Cd]-branchiale et les débits ventilatoires.

Ces résultats suggèrent que la physiologie respiratoire de ces animaux puisse jouer un rôle important dans l'accumulation des métaux dissous. Il serait intéressant d'explorer plus profondément l'importance des débits ventilatoires dans l'accumulation du cadmium chez *P. grandis*. Cependant, pour ce faire il faudrait améliorer la méthodologie employée dans les expériences de prise en charge afin de pouvoir mieux tenir compte de la variabilité observée dans les débits ventilatoires.

Liste des Figures

- Figure 1. Schéma des étapes d'exposition au Cd^{2+} et d'alimentation des bivalves durant les expériences de prise en charge..... 7
- Figure 2. Diminution de l'indice de condition chez les bivalves en captivité au laboratoire (N = 10 pour chaque mois; IC = poids sec des organes/poids sec de la coquille)..... 9
- Figure 3. Variation entre bivalves dans la consommation d'algues (cellules/mL) dans le temps. Quatre bivalves et le témoin (chambre expérimentale sans bivalves) sont montrés ici afin de faciliter la lecture du graphique..... 11
- Figure 4. Distribution en pourcentage de la charge totale moyenne en cadmium observée dans les différentes organes des bivalves exposés au cadmium dissous..... 13
- Figure 5a. Relation entre la prise en charge du cadmium et la concentration en cadmium dissous. Valeurs observées (ligne solide) et calculées (ligne pointille) chez les bivalves exposés en laboratoire..... 14
- Figure 5b. Transformation des données de prise en charge selon l'équation Lineweaver-Burke..... 14
- Figure 6. Relation entre [Cd(branchiale)] et les débits ventilatoires des bivalves exposés à 0,1 et à 0,5 nM de cadmium dissous..... 17
- Figure 7. Relation entre [Cd(branchiale)] et les débits ventilatoires des bivalves exposés à 5 nM de cadmium dissous..... 18
- Figure 8. Concentrations de cadmium branchiales chez les bivalves exposés simultanément à 0,5 nM de Cd dissous et une gamme de concentrations de Mn dissous. Les bivalves dans les groupes <référence>, témoin 1 et 2 ont été exposés au Cd dissous, sans Mn. Le groupe <référence> correspond aux bivalves exposés antérieurement au cadmium (0,5 nM) – voir section 4.3.... 19
- Figure 9a. Relation entre [Cd(branchiale)] chez *P. grandis* recueillis dans la rivière Allard et le manganèse dissous..... 23
- Figure 9b. Relation entre [Cd(totale)] chez *H. limbata* recueillis dans la rivière Allard et le manganèse dissous..... 23

Liste des Tables

- Table 1. Composition de l'eau artificielle utilisée durant l'exposition des bivalves au Cd dissous et liste des solutions utilisées pour préparer l'eau artificielle (Concentrations (g/L) dans les solutions mères et volumes ajoutés au volume final de 6 L)..... 7
- Table 2. Débits ventilatoires journaliers et moyens (mL/h/g tissus frais) observés chez les bivalves (N = 10). Comparaison entre les débits ventilatoires de bivalve A, qui avait une ventilation relativement stable, et de bivalve J, qui avait une ventilation variable, durant le trois jours de l'expérience..... 12

1. Introduction

Dans le domaine de l'écotoxicologie aquatique, l'utilisation des mollusques comme bioindicateurs se fait de plus en plus commun (*cf.* le programme "Mussel Watch" en milieu marin)(O'Connor, 2002). Ces animaux peuvent bioconcentrer les métaux de leur environnement, facilitant ainsi leur détection, même à de faibles concentrations. Les mollusques sont utilisés pour évaluer l'étendue de la pollution métallique dans une région et pour déterminer son impact sur la qualité de l'eau et l'écosystème (Beckvar et al., 2000). Les mollusques sont aussi capables de reconnaître un changement brusque dans la qualité de l'eau de leur environnement. Par exemple, les techniques de valvométrie, employées dans l'écotoxicologie depuis 20 ans, exploitent l'habilité des mollusques de se fermer lorsqu'ils sont exposés à un contaminant, tout comme un signal d'alarme (Tran et al., 2003). Leur tolérance à des concentrations internes élevées de métaux a été attribuée à l'existence d'un mécanisme de détoxification impliquant la capture des espèces métalliques diffusant dans le cytosol par des ligands dédiés à cette fonction (ex. : métallothionéines) (Viarengo, 1989).

L'accumulation des métaux traces chez les mollusques peut se produire par l'une ou l'autre de deux voies : l'ingestion du métal par sa nourriture, suivie du transport membranaire du métal dans le système digestif, ou l'absorption du métal à partir de sa forme dissoute dans l'eau ambiante, c'est-à-dire par transport membranaire du métal au niveau des branchies (Fisher et al., 1996). Les contributions relatives de ces deux vecteurs à la teneur totale en métaux d'une espèce donnée sont incertaines, et, elles peuvent varier avec l'espèce. De plus, la prise en charge d'un métal dans l'eau par les organismes aquatiques dépend de sa spéciation (laquelle est déterminée en partie par le pH et la concentration en matière organique dissoute) ainsi que des conditions environnementales telles que la température. L'âge et le sexe de l'animal, ainsi que la carence alimentaire, affecteront aussi la prise en charge d'un métal (Borchardt, 1983).

Dans notre étude, nous avons étudié l'accumulation du cadmium chez le bivalve d'eau douce, *Pyganodon grandis*. Le cadmium est un élément généralement considéré comme non-essentiel et potentiellement toxique. Malgré son statut de métal non-essentiel, le

cadmium peut entrer par les voies réservées aux métaux essentiels et peut, de cette façon, s'accumuler dans les organismes aquatiques à des concentrations élevées (Cassini et al., 1986) et provoquer des effets délétères.

Nous avons choisi *P. grandis*, un organisme filtreur, pour nos études car c'est une espèce qu'on retrouve dans plusieurs lacs et rivières du Bouclier canadien, notamment, dans la région de nos études, en Abitibi, Québec. Son cycle de vie relativement long (jusqu'à 15 ans), ses habitudes sédentaires et sa facilité de récolte en font un animal intéressant pour cette étude.

Des études écotoxicologiques récentes sur *P. grandis* suggèrent qu'il possède la faculté de fortement bioconcentrer les métaux traces, tout en effectuant une détoxification efficace. En prélevant et en analysant des spécimens de *P. grandis* dans des lacs situés dans un gradient de contamination en métaux, Tessier et al. (1993) ont noté qu'il y avait une forte relation entre [Cd]-organisme et la concentration de l'ion libre de cadmium calculée ($[Cd^{2+}]$), suggérant que le cadmium dissous dans l'eau ambiante pourrait être une source importante dans l'accumulation de ce métal chez *P. grandis*. En parallèle, Couillard et al. (1993) ont mesuré la concentration de cadmium et de métallothionéine (MT) dans les tissus de *P. grandis*. Ils ont noté que [Cd]-organisme était considérablement plus élevée chez les bivalves recueillis dans les lacs contaminés en cadmium. Les concentrations tissulaires en MT augmentaient le long du gradient de concentration métallique, et les concentrations en MT étaient significativement corrélées avec celles de Cd bioaccumulé chez le bivalve.

2. Objectifs de recherche

Malgré les études précédentes, nous ne connaissons pas l'importance relative de l'eau et de la nourriture comme sources de cadmium pour *Pyganodon grandis*. Avant que *P. grandis* ne puisse être exploité comme un biomoniteur valide pour la contamination métallique d'un milieu naturel, il serait important de savoir si cette mollusque accumule les métaux par ingestion ou via l'eau ambiante (ou par les deux vecteurs). Le modèle que nous établissons pour cette étude doit pouvoir prédire l'importance de chaque vecteur, pour divers scénarios d'exposition. On peut s'attendre à ce que l'importance relative de l'eau et de la nourriture comme vecteurs d'accumulation varie d'un milieu d'exposition à un autre, et il importe de pouvoir prédire ces variations dans notre modèle.

Afin d'étudier l'importance relative de l'eau et la nourriture comme sources de cadmium, *P. grandis* devrait être exposé à une source de cadmium à la fois, c'est à dire :

- (1) une exposition des bivalves à une gamme de concentrations de Cd dissous, en absence de nourriture contaminée;
- (2) une exposition des bivalves en absence de Cd dissous à la nourriture (des algues) préalablement contaminée en Cd

Afin d'assurer que les deux séries d'expériences soient comparables, les algues devraient idéalement être exposées à un milieu de culture qui contient la même concentration en Cd dissous que celle déjà utilisée pour l'exposition des bivalves à l'eau ambiante contaminée.

Ces études devraient nous permettre aussi de déterminer lequel des organes (branchies, glande digestive, manteau, etc.) est important dans l'accumulation du Cd et si leurs concentrations relatives en Cd change selon la provenance / source du métal. Le projet global devraient donc impliquer des études sur : (1) l'accumulation du Cd à partir de l'eau ambiante, et l'influence de la ventilation branchiale sur cette accumulation; (2) l'efficacité d'assimilation du Cd algal ingéré par les bivalves; et (3) le comportement nutritionnel de *P. grandis* au laboratoire. Cependant, on ne traitera ici que les résultats obtenus lors de

l'exposition des bivalves au Cd dissous, dans des expériences visant à évaluer l'influence de la concentration en Cd aqueux et de la ventilation branchiale. D'autres expériences complémentaires, conçues pour déterminer l'efficacité d'assimilation du Cd ingéré sous forme algale, sont présentement en cours. Les résultats de ces expériences ne seront pas disponibles pour le présent rapport, mais ils seront communiqués ultérieurement à COREM.

3. Matériel et Méthodes

3.1 Échantillonnage et maintien en laboratoire

Pour cette étude, 750 spécimens adultes de *P. grandis* ont été recueillis dans le lac Opasatica (250 en mai 2002, 250 en octobre 2002 et 250 en mai 2003), un lac peu contaminé de la région minière de Rouyn-Noranda. Des plongeurs ont recueilli les bivalves à une profondeur de 4 mètres. À la surface, les bivalves ont été triés par espèce et taille. Seuls les animaux qui avaient une longueur entre 50 mm et 75 mm ont été conservés pour cette étude. Les bivalves ont été placés dans des glacières remplis de l'eau du lac et transportés au laboratoire.

À Québec, une «culture mère» a été établie dans une chambre environnementale à 15° C. Cette température correspond à celle mesurée lors de la récolte des bivalves. Cette culture a facilité l'étude de la physiologie de l'animal, son comportement en laboratoire (ex. : détermination des débits ventilatoires) ainsi que les changements dans la condition des animaux reliés à la captivité. Les bivalves ont été placés dans 8 aquariums qui contenaient chacun 5 cm de sédiments superficiels recueillis du lac Opasatica, recouverts de 50 L d'eau du robinet en provenance du fleuve St-Laurent, qui avait été traitée par bullage avec l'air environnante grâce à une pompe à air d'aquarium (Maxima®) afin d'éliminer le chlore. Avant de procéder à des expériences, nous avons laissé les bivalves s'acclimater pendant un mois. Ceci avait pour but de réduire le niveau de stress éprouvé par ces animaux et d'assurer que leur comportement au laboratoire serait le plus similaire possible à celui dans leur lac d'origine.

Durant leur séjour au laboratoire, les bivalves étaient nourris à tous les 2 jours d'un mélange 50/50 de *Selenastrum capricornutum*, une algue verte unicellulaire cultivée au laboratoire, et une nourriture commerciale d'algues marines (Phytoplex, Kent Marine). Les aquariums étaient nettoyés une fois par semaine et 50% de l'eau a été changée à chaque nettoyage afin d'éliminer les déchets métaboliques produits par les bivalves.

3.2 Indices de condition

La condition des bivalves en laboratoire a été étudiée tout au long de leur captivité, afin d'observer s'il y avait une dégradation dans la condition des animaux. À tous les mois, 10 bivalves ont été recueillis des aquariums, sacrifiés, pesés et séchés par lyophilisation afin de calculer l'indice de condition (Couillard et al., 1995) :

$$\text{I.C.} = \frac{\text{poids sec total des organes (g)}}{\text{poids total de la coquille (g)}}$$

Le but était de suivre l'indice de condition et de déterminer s'il demeurait relativement stable. Un changement dans la condition des bivalves pourrait avoir un effet sur l'accumulation du Cd chez les animaux; il importe ainsi de pouvoir démontrer que la condition des bivalves était comparable durant les expériences d'accumulation.

3.3 Mesure des débits ventilatoires

Nos premières expériences portaient sur le comportement nutritionnel et la ventilation branchiale de *P. grandis* au laboratoire, en mesurant l'activité ventilatoire. Dix bivalves ont été recueillis des aquariums et placés dans leur propre chambre expérimentale (2 L). Afin de réduire le stress éprouvé par les bivalves durant le transfert, les animaux ont bénéficié d'une période d'acclimatation d'une semaine après le transfert et avant l'expérience. Pour débiter l'expérience, les bivalves ont été nourris d'algues marines d'une densité initiale de 6×10^5 cellules/mL pendant une durée de 4 h. Durant la période d'alimentation, un échantillon de 1 mL a été pris à toutes les heures dans chaque chambre expérimentale afin de déterminer le nombre d'algues qui restaient en suspension. Des mesures de densité algale ont été faites avec un compteur de particules (Coulter Counter,

Multisizer 3, Beckman Coulter), un appareil qui compte électriquement le nombre d'algues qui ont une taille de 1,4 μm à 10 μm . Les débits ventilatoires ont été estimés à partir de la vitesse de disparition de cellules algales introduites dans la chambre expérimentale (Tran et al., 2000). Les débits ventilatoires ont été calculés pour trois périodes expérimentales successives de 4 h, étalées sur une période de 3 j.

3.4 Exposition au cadmium dissous

Ces expériences comprenaient l'exposition des bivalves à une gamme de concentrations de Cd dissous (0,1, 0,5, 5 et 20 nM). Pour chaque concentration nominale, quatre aquariums (3 expérimentaux + 1 témoin sans bivalves) de 6 L ont été remplis d'eau artificielle qui avait été contaminée avec du ^{109}Cd radioactif (tableau 1). L'utilisation de l'eau artificielle avait pour but de minimiser la présence de matière organique dans le milieu. Afin de réduire la variabilité dans nos données due aux variations dans les débits ventilatoires, trois bivalves ont été regroupés par aquarium. Chaque aquarium contenait un bivalve qui avait été identifié comme un filtreur élevé, moyen ou faible, ce qui assurait que les débits ventilatoires totaux pour chaque aquarium étaient semblables.

Les bivalves ont été exposés au Cd dissous pendant 20 h et nourris pendant 4 h. Afin de faciliter l'alimentation des animaux, chaque bivalve a été enlevé de son aquarium d'exposition après 20 h et mis à part dans une chambre expérimentale de 2 L, remplie d'eau non-contaminée, et nourri avec des algues non-contaminées (figure 1). Les débits ventilatoires des bivalves ont été mesurés durant chaque période d'alimentation. Après la période d'alimentation (4 h), les bivalves ont été remis dans leurs aquariums d'exposition, où la concentration en Cd dissous avait été remontée à sa concentration initiale, pour une autre période de 20 h. Après 72 h, les bivalves ont été dépurés pendant 12 h et sacrifiés. Les organes (branchies, glande digestive, manteau, pied, et les tissus restant) ont été séparés et rincés avec un agent complexant, l'éthylènediamine-tétra-acétate (EDTA, 10^{-3} M), pendant 20 minutes afin d'enlever le Cd absorbé à la surface. Les organes ont été pesés frais et placés au compteur Gamma (1480 Wizard Automatic Gamma Counter) afin d'analyser la concentration de Cd tissulaire. La fenêtre de

Table 1. Composition de l'eau artificielle utilisée durant l'exposition des bivalves au Cd dissous et liste des solutions utilisées pour préparer l'eau artificielle. (Concentrations (g/L) dans les solutions mères et volume (mL) ajoutés au volume finale de 6 L)

Élément	Concentrations finales dans l'eau artificielle (mg/L)	Solutions utilisées		
		Réactif	Concentration (g/L)	Volume (mL)
Ca	26	Ca(OH) ₂	2,6	60
Mg	3	MgSO ₄	3	6
K	2	NaCl	2	6
Na	3	Na ₂ CO ₃	5	6
SO ₄	28	NaNO ₃	0,17	6
NO ₃	0,17	KCl	2	6
CO ₃	5			
Cl	2			

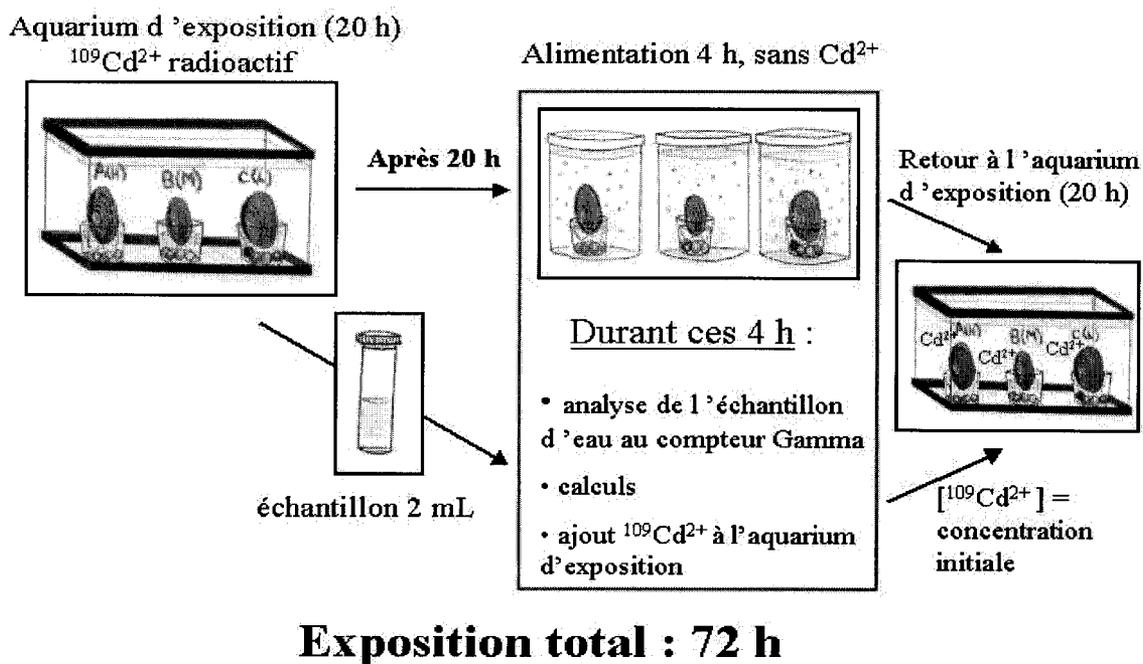


Figure 1. Schéma des étapes d'exposition au Cd²⁺ et d'alimentation des bivalves durant les expériences de prise en charge.

comptage allait de 16 à 32 keV, et le temps de comptage a été fixé à 2000 s (~33 min), ce qui assurait un minimum de ~8000 comptes (erreur de comptage d'environ 1%).

3.5 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous

L'expérience comprenait l'exposition simultanée des bivalves à une gamme de concentrations de Mn dissous (10, 30, 90, 150 et 300 µg/L) et à une concentration stable de Cd dissous (0,5 nM). Le but de cette expérience était d'observer si le Mn dissous réduisait l'accumulation du Cd chez les bivalves. Sept aquariums (5 expérimentaux + 2 témoins sans Mn) de 6 L ont été remplis d'eau artificielle qui avait été contaminée avec du ¹⁰⁹Cd radioactif. Comme pour les expériences de prise en charge du Cd dissous, trois bivalves ont été regroupés par aquarium. Le protocole d'exposition et d'alimentation était semblable à celui décrit dans la section 3.4. En tout, l'expérience a duré 96 h, avec 80 h d'exposition et 12 h d'alimentation.

4. Résultats

4.1 Indices de condition

L'indice de condition initial moyen pour les bivalves était de $0,121 \pm 0,011$ (écart-type de la moyenne, σ/\sqrt{N})¹ (N = 10; figure 2). Les résultats démontrent une dégradation de l'indice de condition dans le temps. L'indice a diminué de 0,121 à $0,098 \pm 0,005$ pendant le premier mois de captivité, une dégradation de 20%. Après 7 mois, l'indice avait diminué de 55% (soit $0,067 \pm 0,003$) mais il est demeuré stable pendant la période subséquente.

4.2 Ventilation branchiale et débits ventilatoires

Pour déterminer les débits de ventilation, nous avons suivi la vitesse à laquelle les mollusques réussissaient à enlever le phytoplancton suspendu dans leur milieu

¹ Sauf avis contraire, la variabilité sera toujours exprimée comme l'écart-type de la moyenne (σ/\sqrt{N}).

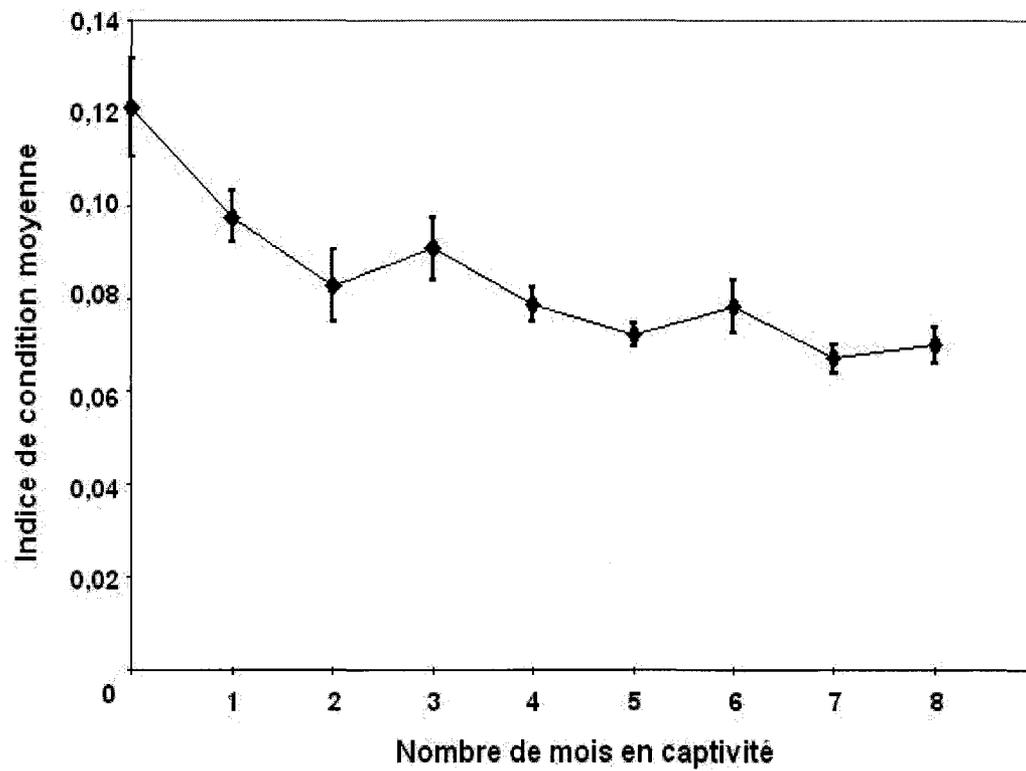


Figure 2. Diminution de l'indice de condition chez les bivalves en captivité au laboratoire (N = 10 pour chaque mois; IC = poids sec des organes/poids sec de la coquille)

d'exposition. En déterminant la diminution du nombre de cellules algales, sachant la densité algale (nombre moyen de cellules par mL) et supposant que les bivalves captent toutes les algues filtrées (100% d'efficacité; cf. Tran et al. 2001), on peut calculer le volume total filtré par chaque mollusque. D'après les résultats de ces expériences, réalisées en absence du Cd, nous avons pu conclure que :

- (1) les débits ventilatoires varient entre bivalves (ex. : de < 2 à ~ 60 mL/g (p.humide)/h; moyenne = 26 ± 13 mL/g (p. humide)/h) (N =10) (figure 3);
- (2) le débit ventilatoire d'un bivalve individuel peut varier de jour en jour (tableau 2).

4.3 Exposition au cadmium dissous

Les résultats des expériences de prise charge suggèrent qu'après 3 j d'exposition $\sim 50 \pm 3\%$ de la charge totale en Cd s'accumule dans les branchies, le reste étant divisé dans le manteau ($20 \pm 1,5 \%$), les tissus divers ($18 \pm 1,2 \%$), la glande digestive ($10 \pm 1,1 \%$), et le pied ($2 \pm 0,9 \%$) (figure 4). Une analyse des concentrations moyennes en Cd-branchiale pour chaque régime d'exposition au Cd^{2+} a démontré que les bivalves exposés à 20 nM Cd^{2+} accumulaient plus de Cd dans les branchies que ceux exposés à 5 nM , à $0,5 \text{ nM}$, ou à $0,1 \text{ nM Cd}^{2+}$ (figure 5a).

La prise en charge du Cd atteint un plateau lorsque les bivalves sont exposés à des concentrations élevées en Cd dissous ($>5 \text{ nM}$). On s'attendrait à une telle tendance si l'accumulation du Cd dissous se faisait pas transport facilité. En transformant nos résultats selon l'équation Lineweaver-Burke, nous avons obtenu une valeur de V_{max} de $8,8 \text{ nmol Cd/g par h}$ et une valeur de K_m de $3,4 \text{ nM}$ (figure 5b). De ces valeurs, nous avons pu estimer la prise en charge du Cd dissous par les bivalves dans une gamme de concentrations en Cd^{+2} de 0.1 nM à 20 nM (figure 5a, ligne pointillé). En comparant les courbes de prise en charge observé (ligne solide) et calculé (ligne pointillé), nous observons que les valeurs calculées et observées se ressemblent à des concentrations faibles de Cd^{+2} (c'est à dire à des concentrations qui s'approchent de celles observées sur le terrain, dans les eaux réceptrices) mais qu'il y a un écart significatif entre les deux courbes de prise en charge à des concentration élevées en Cd^{+2} .

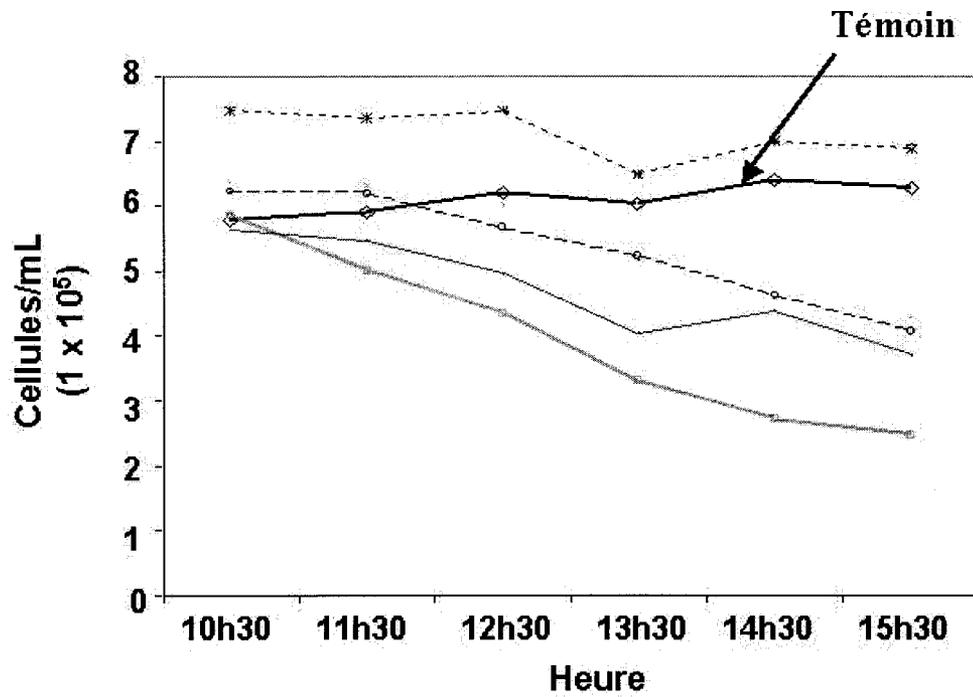


Figure 3. Variation entre bivalves dans la consommation d'algues (cellules/mL) dans le temps. Quatre bivalves et le témoin (chambre expérimentale sans bivalves) sont montrés ici afin de faciliter la lecture du graphique.

Table 2. Débits ventilatoires journaliers et moyens (mL/h/g tissus frais) observés chez les bivalves (N = 10). Comparaison entre les débits ventilatoires de bivalve A, qui avait une ventilation relativement stable, et bivalve J, qui avait une ventilation variable, durant le trois jours de l'expérience.

Bivalve	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Moyenne \pm erreur standard
A	52,4	43,6	44,6	46 \pm 3
B	5,5	30,5	32,1	23 \pm 8
C	8,1	25,3	27,8	20 \pm 6
D	5,7	6,2	29,8	14 \pm 8
E	58,9	41,4	1,9	34 \pm 17
F	47,9	46,1	33,4	42 \pm 4
G	15,1	17,3	14,7	16 \pm 1
H	30,3	26,1	0,8	19 \pm 9
I	6,8	7,2	3,4	6 \pm 1
J	35,1	61,9	0,0	32 \pm 18

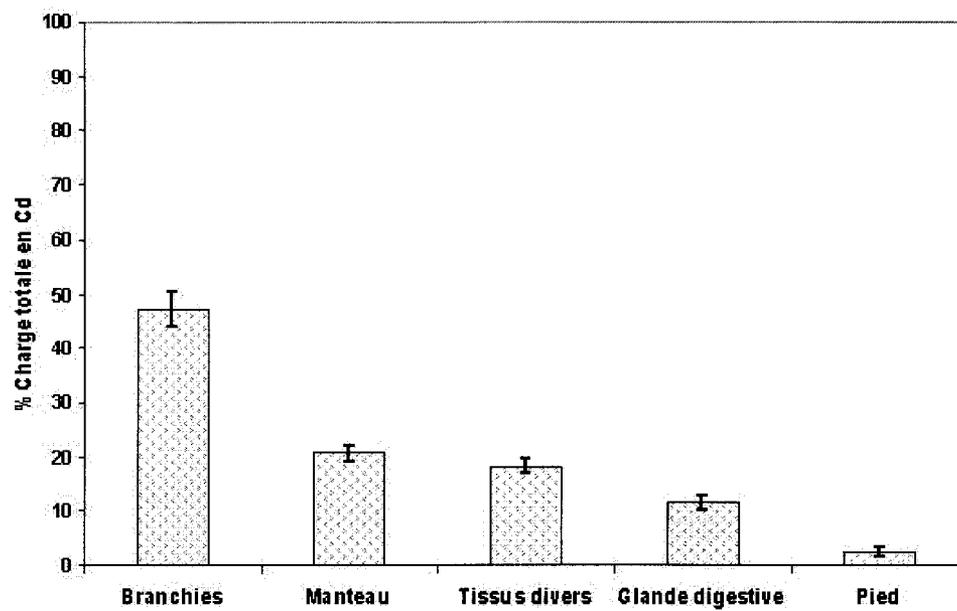


Figure 4. Distribution en pourcentage de la charge totale moyenne en cadmium observée dans les différents organes des bivalves exposés au cadmium dissous.

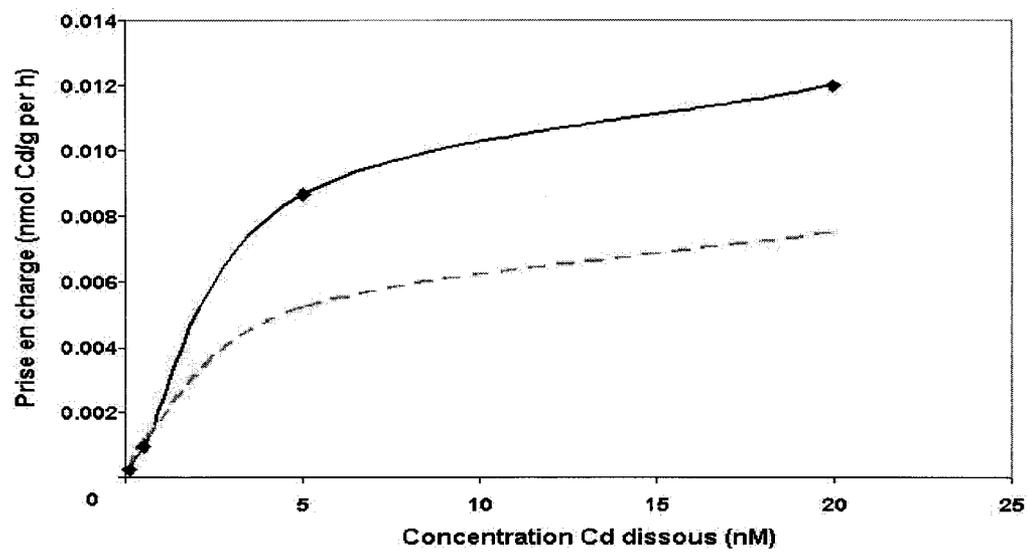


Figure 5a. Relation entre la prise en charge du cadmium et la concentration en cadmium dissous. Valeurs observées (ligne solide) et calculées (ligne pointille) chez les bivalves exposés en laboratoire.

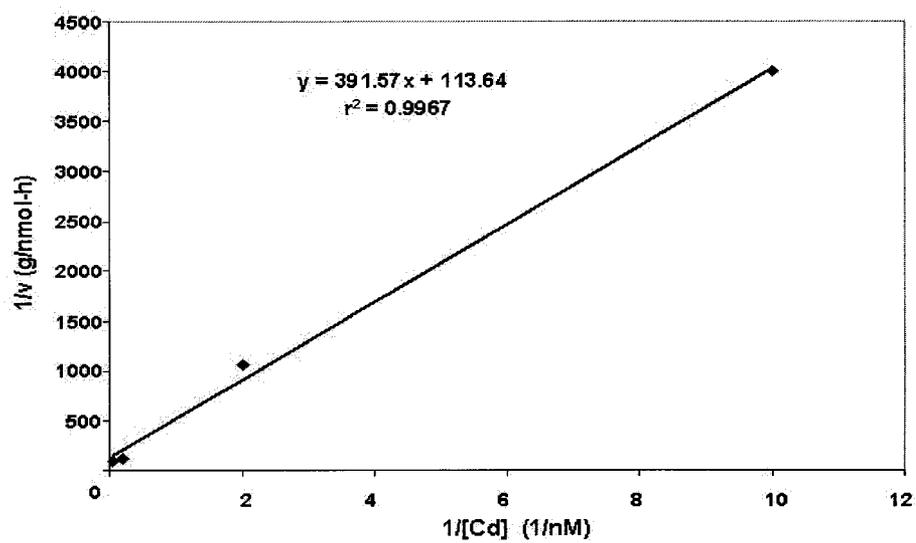


Figure 5b. Transformation des données de prise en charge selon l'équation Lineweaver-Burke.

Selon une analyse de régression, l'accumulation du Cd chez les branchies de *P. grandis* était faiblement reliée aux débits ventilatoires chez les bivalves exposés à 0,1, 0,5 et 5 nM de $[Cd^{2+}]$ – les animaux ayant des taux de ventilation élevés accumulaient des concentrations plus élevées de cadmium dans leurs branchies (figures 6 et 7).

4.4 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous

Les résultats de cette expérience ont été comparés à ceux recueillies durant l'exposition initiale des bivalves à une exposition de 0,5 nM de Cd dissous, sans Mn. Les résultats démontrent qu'il n'y pas de différence significative (ANOVA, Tukey, $p < 0,05$) entre la concentration du Cd dans les branchies chez les bivalves qui ont été exposé simultanément au Mn et au Cd et les bivalves dans les aquariums témoins qui ont été exposés au Cd dissous sans Mn (figure 8).

5. Discussion

5.1 Indices de condition

L'indice de condition initial et la dégradation de la condition des bivalves en laboratoire (figure 2) ressemblent à ceux observés par Couillard et al. (1995) chez les bivalves transplantés d'un lac propre à un lac contaminé. L'indice de condition initial de ces bivalves était de 0,13 pour ensuite descendre à 0,09 après 16 mois, une diminution de ~30%.

Il est probable que la nutrition et la captivité jouent un rôle dans la dégradation de condition chez les bivalves. Le mélange d'algues vertes et de Phytoplex n'est peut être pas assez nutritif et il se peut que les bivalves souffrent d'une carence de vitamines et de minéraux. De plus, comme pour les bivalves transplantés dans des enclos, un changement d'habitat et de nutrition pourrait constituer un stress continu pour les animaux et pourrait contribuer à la diminution dans leur condition.

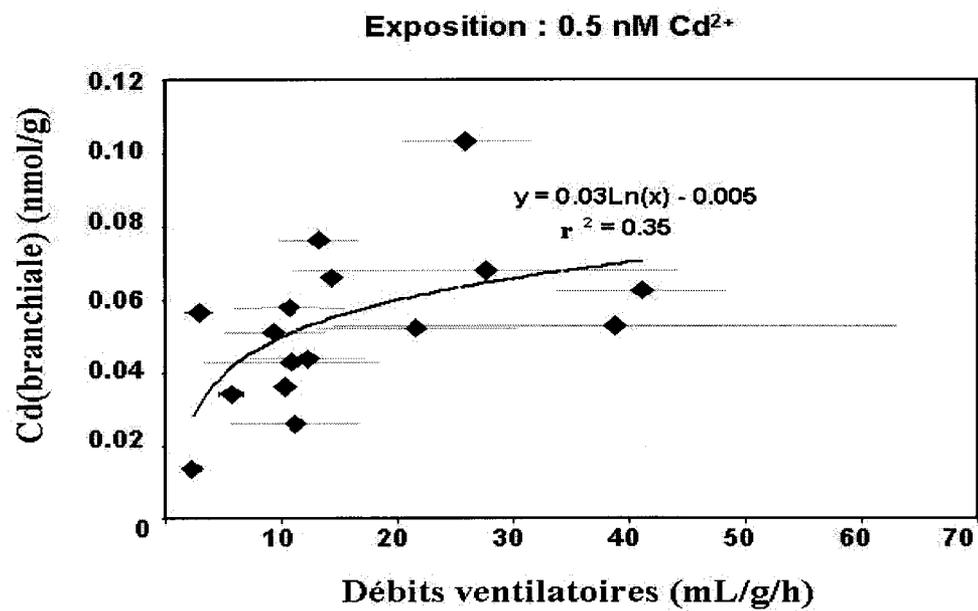
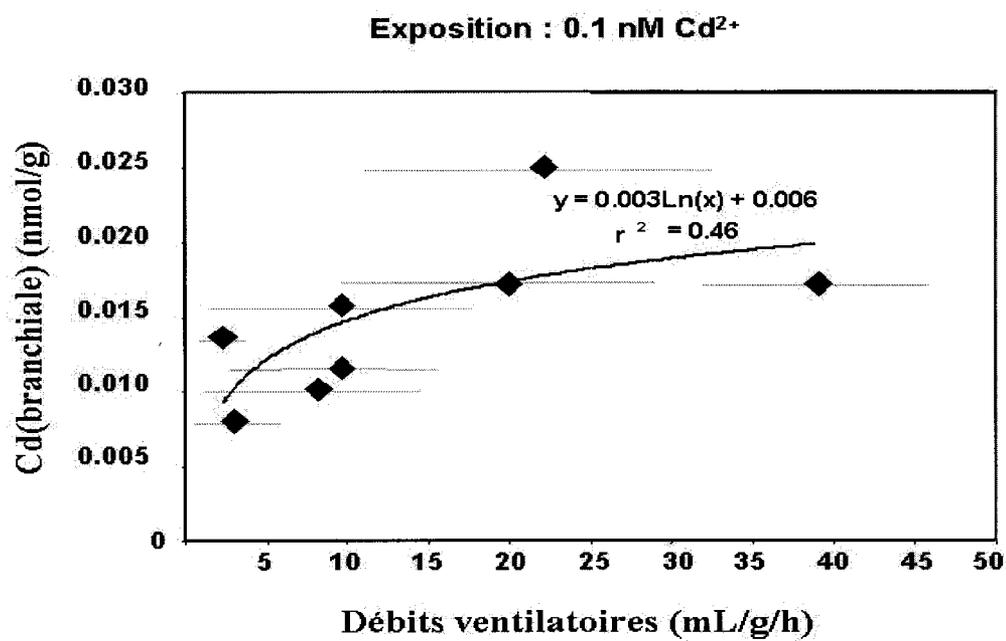


Figure 6. Relation entre [Cd(branchiale)] et les débits ventilatoires des bivalves exposés à 0,1 et 0,5 nM de cadmium dissous.

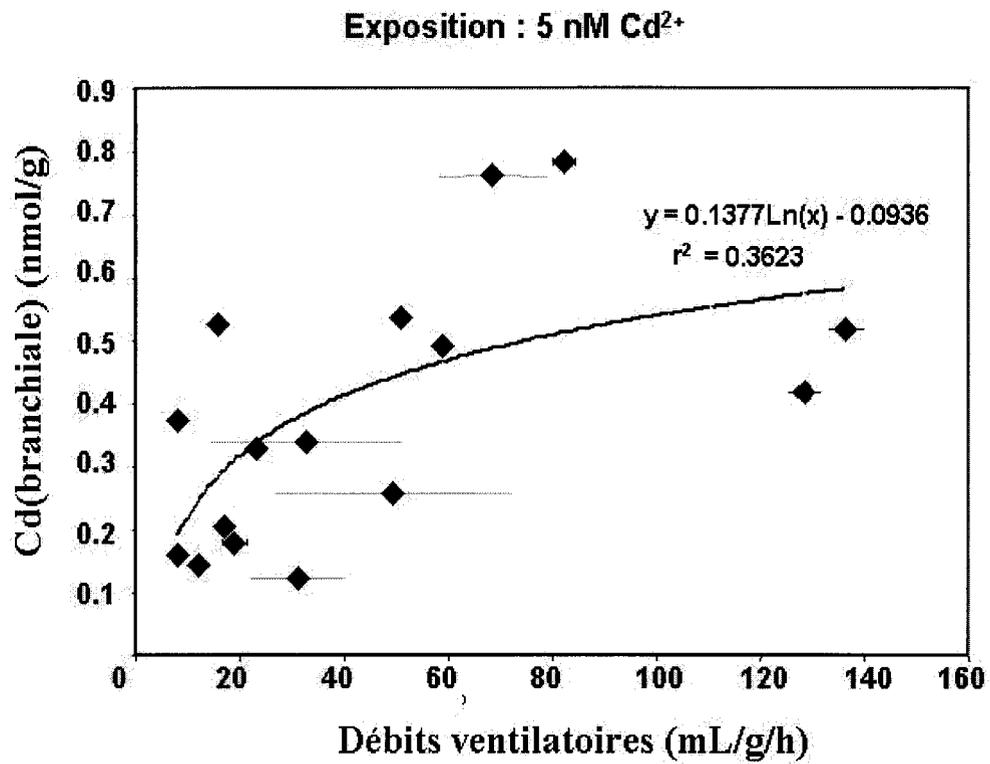


Figure 7. Relation entre [Cd(branchiale)] et les débits ventilatoires des bivalves exposés à 5 nM de cadmium dissous.

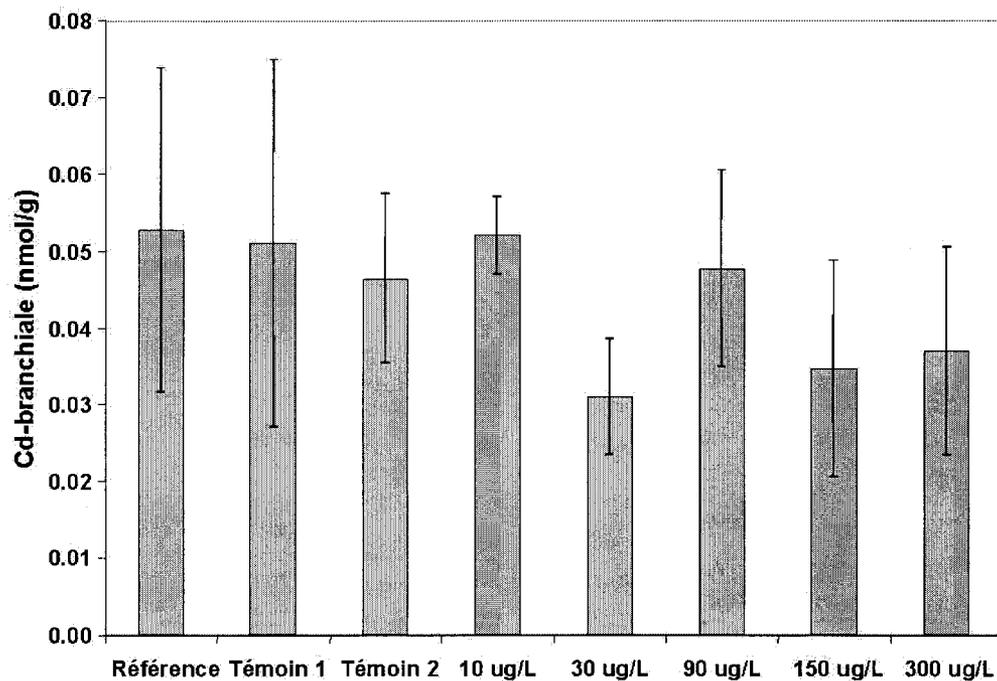


Figure 8. Concentrations de cadmium branchiales chez les bivalves exposés simultanément à 0,5 nM de Cd dissous et une gamme de concentrations de Mn dissous. Les bivalves dans les groupes <référence>, témoin 1 et 2 ont été exposés au Cd dissous, sans Mn. Le groupe <référence> correspond aux bivalves exposés antérieurement au cadmin (0,5 nM) – voir section 4.3.

5.2 Variabilité des débits ventilatoires

La variabilité observés dans les débits ventilatoires des bivalves ne nous a pas beaucoup surpris, mais nous ne nous attendions pas à obtenir une si grande variabilité journalière chez le même individu; de tels comportements ne sont pas décrits dans la littérature. Tran et al. (2000) avaient observé un changement dans les débits ventilatoires de *Corbicula fluminae* en relation avec les niveaux d'oxygène dans l'environnement, mais comme dans les autres études antérieures, les auteurs ne mentionnent pas de variabilité journalière si importante chez leurs bivalves.

Afin de mieux tenir compte de l'influence des débits ventilatoires durant les expériences de prise en charge, nous avons décidé de regrouper les bivalves et bien identifier les animaux qui avaient un taux de filtration élevé, moyen et faible, afin que la bioaccumulation globale du Cd dans les trois aquariums d'exposition soit semblable. De plus, il fallait augmenter la période d'exposition de 72 h à 96 h. Ces modifications devaient donner des résultats plus exacts en réduisant l'influence de la variabilité journalière des débits ventilatoires des bivalves individuels.

5.3 Prise en charge du cadmium dissous

Nos résultats suggèrent que la contribution des branchies à la prise en charge totale du Cd chez *P. grandis* est environ 50% (figure 4). Cette contribution est légèrement plus élevée que la contribution moyenne de 40% observé par Tessier et al. (1993) chez les bivalves indigènes de lacs contaminés. Le manteau, la glande digestive et les tissus divers contribuaient respectivement 21%, 11% et 28% de la charge totale du Cd chez les bivalves recueillis par Tessier et al. (1993). Notre valeur est aussi plus élevée que celle de Tran et al. (2001) qui ont rapporté une contribution de 30% dans les branchies chez *C. fluminea* en condition laboratoire (15 j d'exposition au Cd dissous).

La relation observée entre la concentration moyenne de Cd-branchiale et la concentration de Cd dissous dans le milieu d'exposition n'est pas surprenante (figure 5a). En effet, Tessier et al. (1984) et Tessier et al. (1993) ont échantillonné des bivalves le long d'un

gradient de contamination en métaux (étude spatiale de divers lacs) et ont noté une augmentation de [Cd(branchies)] chez les bivalves récoltés dans des lacs les plus contaminés en cadmium.

Par ailleurs, la relation apparente entre la concentration de Cd-branchiale et les débits ventilatoires (figure 6 et 7) mérite notre considération. Selon les principes du modèle du ligand biotique (BLM), une augmentation de la ventilation branchiale ne devrait pas augmenter la prise en charge d'un métal chez un organisme aquatique. D'après le BLM, c'est l'interaction du métal avec les transporteurs membranaires, ainsi que le nombre de sites transporteur libres, qui devraient contrôler le taux d'accumulation d'un métal dans une branchies (Gorsuch et al., 2002). Le transport du métal au travers de la membrane branchiale est normalement l'étape lente dans le processus de prise en charge d'un métal, et dans de telles conditions la surface des branchies se trouve en équilibre avec le milieu d'exposition et le débit ventilatoire n'a pas d'influence sur la vitesse de prise en charge.

Nos résultats ne sont pas sans précédent – quelques autres études ont démontré l'influence de la ventilation branchiale sur l'accumulation des métaux chez les animaux aquatiques. Lloyd et Herbert (1962) ont observé une augmentation dans la prise en charge du Zn chez la truite arc-en-ciel lorsque ces animaux étaient exposés à des conditions hypoxiques. Selon les auteurs, une diminution dans la concentration d'oxygène entraînerait une augmentation dans les débits ventilatoires de ces animaux, augmentant le volume d'eau qui serait en contact avec les branchies. Hughes et Flos (1978) ont démontré que des changements physiologiques et morphologiques ont lieu dans les branchies de poissons lorsqu'ils sont exposés à des conditions anoxiques et hypoxiques, et que ces changements peuvent avoir d'importantes conséquences dans la prise en charge des métaux.

Des études semblables ont été réalisées sur le bivalve *Corbicula fluminea*. Tran et al. (2000, 2001) ont noté que la prise en charge du Cd chez *C. fluminea* augmentait dans des conditions hypoxiques. Une réduction de la concentration en oxygène entraînait une augmentation dans les débits ventilatoires des animaux, ce qui augmentait l'accumulation

du Cd dans les branchies. De plus, les conditions hypoxiques changeaient la distribution et la charge de Cd dans les branchies et les viscères.

L'ensemble de ces observations suggère que le débit de ventilation branchiale puisse influencer sur l'accumulation des métaux dissous chez *P. grandis*. Sans nécessairement rejeter le modèle du ligand biotique, il faudrait néanmoins y incorporer des éléments de la physiologie respiratoire. Par exemple, il est possible que l'influence apparente du débit ventilatoire corresponde non pas à un phénomène hydrodynamique (couche limite plus mince à la surface branchiale), mais plutôt à l'irrigation d'une plus grande surface branchiale. Si les bivalves exploitaient une plus grande proportion de leur surface branchiale, on pourrait s'attendre à une prise en charge plus importante des métaux.

5.4 Exposition simultanée au manganèse et au cadmium dissous

Cette expérience a été réalisée afin d'évaluer les résultats recueillis sur le terrain dans la rivière Allard qui suggèrent une diminution dans la concentration totale de Cd chez *Hexagenia limbata* et *P. grandis* avec une augmentation dans la concentration de Mn dissous dans l'eau ambiante (figures 9a et 9b) (Olsen et al., 2004). L'expérience réalisée au laboratoire ne supporte pas cette observation puisqu'il n'a pas de différence significative entre la concentration branchiale du Cd chez les animaux qui ont été exposés simultanément au Mn et au Cd dissous et les témoins (figure 8). Cependant, l'exposition des bivalves au Mn et Cd dissous au laboratoire n'a duré que 96 h, comparativement à une exposition de plusieurs années pour les bivalves recueillis dans la rivière Allard. De plus, l'expérience ne comprenait pas d'exposition alimentaire au manganèse. Une exposition simultanée au Cd et Mn dissous et alimentaire, combiné avec une période d'exposition plus longue, aurait peut-être mis en évidence une compétition entre les deux cations.

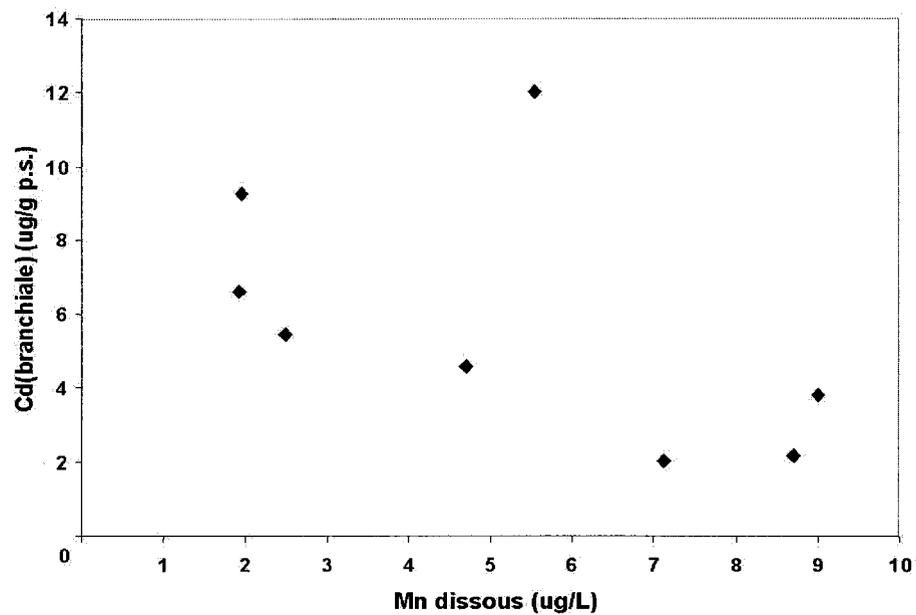


Figure 9a. Relation entre [Cd(branchiale)] chez *P. grandis* recueilli dans la rivière Allard et le manganèse dissous.

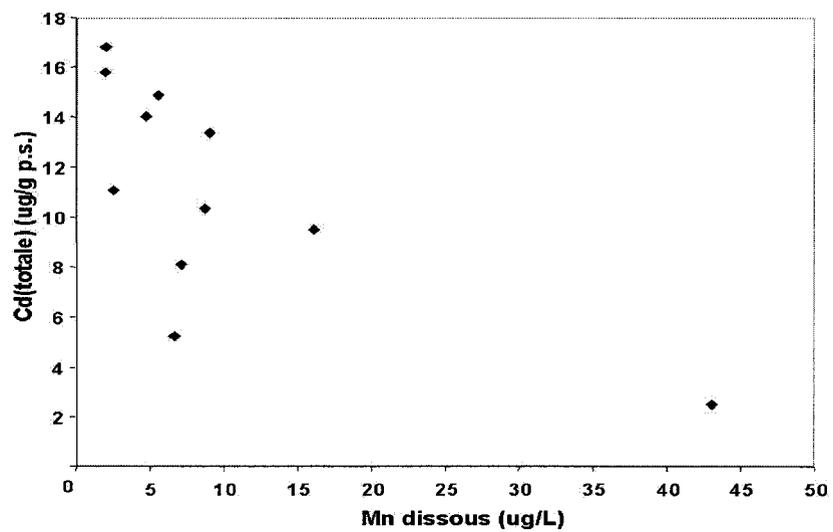


Figure 9b. Relation entre [Cd(totale)] chez *H. limbatta* recueilli dans la rivière Allard et le manganèse dissous.

6. Conclusions

Déterminer l'importance relative de l'eau et de la nourriture comme sources de cadmium chez les animaux aquatiques est nécessaire si nous voulons les exploiter comme biomoniteurs valides. D'après les résultats de cette étude, il semble que le cadmium dissous soit important dans l'accumulation du cadmium dans les branchies, où ~50% de la charge totale en Cd s'accumule. Il reste à estimer la contribution de la nourriture à la prise en charge totale du cadmium chez *P. grandis*, et à déterminer si la distribution du Cd entre ses organes change en fonction de la source du métal.

Il serait également intéressant d'explorer plus profondément l'importance des débits ventilatoires dans l'accumulation du cadmium chez *P. grandis*. Cependant, pour ce faire il faudrait améliorer la méthodologie employée dans les expériences de prise en charge afin de pouvoir mieux tenir compte de la variabilité observée dans les débits ventilatoires. Une importante modification serait de mesurer les débits ventilatoires pendant l'exposition au cadmium dissous, pas durant la période d'alimentation. Ceci nous donnerait les débits exacts durant les expériences. Il faudrait aussi déterminer l'influence du taux d'oxygène sur les débits ventilatoires afin d'évaluer s'il y a un effet sur l'accumulation de cadmium chez *P. grandis*.

7. Références

- Beckvar, N., Salazar, S., Salazar, M. et Finkelstein, K. 2000. An *in situ* assessment of mercury contamination in the Sudbury River, Massachusetts, using transplanted freshwater mussels (*Elliptio complanata*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 1103-1112.
- Borchardt, T. 1983. Influence of food quantity on kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 76: 67-76.
- Cassini, A., Tallandini, L., Favero, N. et Albergoni, V. 1986. Cadmium bioaccumulation studies in the freshwater molluscs *Anodonta cygnea* and *Unio elongatulus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 84C: 35-41.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C. et Tessier, A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along a environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.* 38: 299-313.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Pellerin-Massicotte, J. et Auclair, J.C. 1995b. Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. II. Metallothionein response to Cd and Zn exposure, evidence for cytotoxicity, and links to effects at higher levels of biological organization. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 703-715.
- Gorsuch, J.W., Janssen, C.R., Lee, C.M. et Reiley, M.C. 2000. The Biotic Ligand Model for Metals - Current Research, Future Directions, Regulatory Implications. *Comp. Biochem. Physiol.* 133C(1-2): 1-343.
- Fisher, N. S., Teyssié, J-L., Fowler, S. W. et Wang, W-X. 1996. Accumulation and retention of metals in mussels from food and water: A comparison under field and laboratory conditions. *Environ. Sci. Technol.* 30 (11): 3232-3242.
- Hughes, G.M. and R. Flos. 1978. Zinc content of the gills of rainbow trout (*S. gairdneri*) after treatment with zinc solutions under normoxic and hypoxic conditions. *J. Fish Biol.* 13: 717-728.
- Lloyd, R. and D.W.M. Herbert. 1962. The effect of the environment on the toxicity of poisons to fish. *Inst. Publ. Health Eng. J.* 61: 132-145.
- O'Connor, T. P. 2002. National distribution of chemical concentrations in mussels and oysters in the USA. *Mar. Environ. Res.* 53 : 117-143.
- Olsen, C., Masson, S., Campbell, P.G.C., Martel, L. et Parent, L. 2004. *Développement d'outils d'évaluation de sites récepteurs servant à la définition d'objectifs environnementaux de rejets dans le processus d'intégration de l'industrie minière au Programme de Réduction des Rejets Industriels (PRRI)*. Rapport Final – Synthèse, Projet R000013, COREM, Ste-Foy, Québec, mai 2004, 31 p. + 2 Annexes.

Tessier, A., Campbell, P.G.C., Auclair, J.C. et Bisson, M. 1984. Relationship between the partitioning of trace metals in sediments and their accumulation in the tissues of the freshwater mollusc *Elliptio complanata* in a mining area. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 1463-1472

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

Tran, D., Boudou, A. et Massabuau, J.C. 2000. Mechanism for maintaining oxygen consumption under varying oxygenation levels in the freshwater clam *Corbicula fluminea*. *Can. J. Zool.* 78: 1-10.

Tran, D., Boudou, A. et Massabuau, J.C. 2001. How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*: A laboratory and field study. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2073-2080.

Tran, D., Boudou, A. et Massabuau, J-C. 2003. Estimation of potential and limits of bivalve closure response to detect contaminants: Application to cadmium. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 914-920.

Viarengo, A. 1989. Heavy metals in marine invertebrates: Mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *CRC Crit. Rev. Aquat.* 1: 295-317.