

Québec

INRS – Centre Eau Terre Environnement

**L'utilisation d'indices biométriques et métaboliques pour une meilleure
compréhension de l'impact de la contamination par les métaux sur la santé
des perchaudes (*Perca flavescens*) sauvages.**

Par

Charles Gauthier

Thèse présentée

pour l'obtention

du grade de Philosophia Doctor (Ph. D.)

en Science de l'eau et de l'environnement

Jury d'évaluation

Examineur externe : Dre Céline Audet

Examineur externe : Dr Andrea Bertolo

Examineur interne : Dr Jean-Christian Auclair

Directeur de recherche : Dr Patrice Couture

Codirecteur de recherche: Dr Peter G.C. Campbell

Résumé

Cette thèse examine les indicateurs de santé, de stress et de la croissance chez la perchaude. La perchaude a été choisie car elle est tolérante à la contamination par les métaux, grandement répandue en Amérique du Nord et représente bien la contamination locale. Afin de mieux comprendre comment les métaux affectent la perchaude, les facteurs qui peuvent affecter l'indice d'embonpoint de la perchaude en laboratoire et en milieu sauvage ont été examinés. L'indice d'embonpoint est un paramètre qui est très utile pour la détection des impacts toxiques des métaux en milieu sauvage, mais les facteurs qui influencent l'indice d'embonpoint sont peu connus. En examinant les relations entre plusieurs paramètres physiologiques ou enzymatiques et l'indice d'embonpoint, cette thèse fournit une meilleure compréhension des paramètres qui influencent l'indice d'embonpoint.

Au cours d'une expérience en laboratoire, des perchaudes ont été exposées à différentes rations alimentaires afin de manipuler leur taux de croissance et de faire varier l'indice d'embonpoint. Cette expérience a démontré que les perchaudes réagissent rapidement à une augmentation de la ration alimentaire en augmentant leur taux de croissance, leurs réserves lipidiques et l'indice d'embonpoint. Afin de suffire à cette croissance rapide, une augmentation des capacités aérobies et anaboliques a été observée. Le poids des cæca pyloriques augmente aussi avec une augmentation de la ration alimentaire et sa réponse est beaucoup plus grande que celle des autres paramètres. Après une période à croissance élevée, l'indice d'embonpoint, les activités enzymatiques et le poids des cæca pyloriques des perchaudes recevant une ration de maintien ne diminuent pas. Le maintien des activités enzymatiques élevées se fait aux dépens des réserves lipidiques des perchaudes. Cette expérience de laboratoire démontre comment la

perchaude réagit à des changements de régime alimentaire et a servi de cadre de référence pour les études de terrain.

Des perchaudes sauvages ont aussi été récoltées pendant trois années consécutives dans la région de Rouyn-Noranda et deux ans dans la région de Sudbury, ces régions étant contaminées par les métaux. Un premier constat était que les perchaudes sauvages, même celles des lacs de référence, étaient soumises à des restrictions d'énergie importantes. Les faibles valeurs pour l'indice d'embonpoint et l'indice lipidique ainsi qu'une perte de poids pour les caeca pyloriques entre le printemps et l'été témoignent de cette restriction d'énergie. Un deuxième constat est que les relations entre les enzymes et les paramètres biométriques sont différentes chez les perchaudes sauvages des lacs de référence quand on les compare aux perchaudes maintenues en laboratoire. Des enzymes représentant l'accumulation protéique (LDH et NDPK) semblent de bons prédicteurs de l'indice d'embonpoint (vs les indicateurs aérobies en laboratoire) tandis que ces mêmes indicateurs d'anabolisme protéique étaient les meilleurs prédicteurs de l'indice lipidique. Dans les lacs contaminés, la présence de métaux dans l'environnement semblait avoir un impact sur les enzymes qui étaient prédicteurs des paramètres physiologiques. Des enzymes liés aux voies aérobies étaient aussi de bons prédicteurs de l'indice d'embonpoint chez les perchaudes vivant en milieu contaminé, indiquant que la présence de métaux augmente les dépenses d'énergie.

Même si ce n'était pas le but de ces études, le fait d'avoir échantillonné les mêmes lacs pendant plusieurs années et d'avoir fait des échantillonnages durant différentes saisons au cours d'une même année nous a permis d'examiner la variabilité des paramètres biométriques dans le temps. Ces études confirment l'importance des variations saisonnières et démontrent que ces variations sont particulières à chaque lac. L'examen des différences interannuelles a démontré

que la variation des paramètres biométriques dans un même lac peut être plus importante que les variations observées le long d'un gradient de contamination. Ces importantes variations sont semblables dans une même année et similaires entre les lacs d'une région et même entre les deux régions d'études.

En conclusion, ces recherches fournissent une meilleure compréhension de comment l'indice d'embonpoint des perchaudes réagit en laboratoire et en milieu naturel. Bien plus complexe qu'une simple relation avec la ration alimentaire, l'indice d'embonpoint des perchaudes sauvages est affecté par de nombreux autres facteurs naturels et anthropiques ainsi que par la contamination métallique. Afin de bien interpréter les variations de l'indice d'embonpoint, il faut parfaire notre connaissance de l'influence de ces facteurs sur la condition de la perchaude.

Avant-propos

Cette thèse comporte d'abord une synthèse générale de l'ensemble du doctorat, composée d'une introduction, des objectifs et hypothèses, de la présentation des résultats et d'une discussion intégrant ces résultats. Le noyau de la thèse est présenté sous forme de trois publications scientifiques acceptées ou soumises à des revues avec comités de lecture. Des annexes recueillant l'ensemble des données des diverses études et expériences sont présentées à la fin de ce document.

La contribution des auteurs aux différents articles s'établit comme suit :

1. GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. 2008. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Comp. Biochem. Physiol.*, vol. 151A, p. 526-532.

C. Gauthier : Conception et réalisation du projet, analyse des échantillons et des données, interprétation des résultats; rédaction et révision de l'article.

P.G.C. Campbell : Conception du projet et révision de l'article.

P. Couture : Conception et réalisation du projet, interprétation des résultats et révision de l'article.

2. GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. Condition and pyloric cæca as indicators of food web effects in fish living in metal-contaminated lakes. Soumis à *Ecotox. Environ. Saf.*

C. Gauthier : Conception et réalisation du projet, échantillonnage et analyse des échantillons et des données, interprétation des résultats; rédaction et révision de l'article.

P.G.C. Campbell : Conception du projet, interprétation des résultats et révision de l'article.

P. Couture : Conception du projet, interprétation des résultats et révision de l'article.

3. GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. Enzymatic correlates of energy status in wild yellow perch inhabiting clean and contaminated environments. À être soumis à Environ. Pollut.

C. Gauthier : Conception et réalisation du projet, échantillonnage et analyse des échantillons et des données, interprétation des résultats; rédaction et révision de l'article.

P.G.C. Campbell : Conception du projet, interprétation des résultats et révision de l'article.

P. Couture : Conception du projet, interprétation des résultats et révision de l'article.

Remerciements

J'aimerais premièrement remercier le Dr Patrice Couture. Bien plus qu'un directeur de thèse, je le considère un ami. Durant mes années avec Patrice, qui dépassent les bornes de cette thèse, j'ai toujours eu du plaisir en travaillant avec lui. Qu'elles soient académiques, professionnelles ou autres, mes collaborations avec Patrice m'ont toujours poussé à aller plus loin, à tenter de nouvelles choses et peut-être à partager mes propres connaissances.

Des remerciements vont aussi au Dr Peter Campbell. Ses conseils et son expérience ont été un énorme atout à toutes les étapes de cette thèse. De plus, sa minutie a grandement amélioré la qualité des études, expériences et publications. Son ouverture aux nouvelles idées et son désir de les comprendre m'ont aussi servi comme exemple, pour en trouver moi-même et pour mieux comprendre celles qu'il me présentait. Ses conseils et son influence me serviront longtemps après le dépôt de cette thèse.

Cette thèse n'aurait pas été réalisée sans l'aide des plusieurs personnes qui m'ont aidé. Un gros merci aux techniciens de l'INRS. Sans l'aide de Michelle Bordeleau, Sébastien Duval, Pauline Fournier, Stéphane Prémont et René Rodrigue, l'analyse de mes échantillons n'aurait pas été possible. Des mercis vont aussi à tous ceux qui ont participé aux campagnes d'échantillonnage. Sans l'aide d'Axel, Dominic, Isabelle, Mélanie, Nicolas, Sébastien et Vincent, les perchaudes seraient encore dans les lacs.

Finalement, j'aimerais remercier ma conjointe, la Dre Emmanuelle Cecchi. Sans ton support, ta bonne humeur et ton aide, cette thèse n'aurait peut-être pas vu le jour. Je sais que ces derniers temps ont été difficiles, mais le futur sera d'autant plus reluisant avec toi.

Table des matières

Résumé.....	iii
Avant-propos.....	v
Avant-propos.....	vii
Remerciements.....	ix
Liste des tableaux.....	xvii
Liste des figures.....	xxiii
Glossaire.....	xxix
Partie I Synthèse.....	1
1 Introduction.....	1
1.1 Historique de contamination et recherches antérieures dans les régions étudiées.....	4
1.1.1 Sudbury.....	4
1.1.2 Rouyn-Noranda.....	6
1.2 Le choix de la perchaude.....	9
1.2.1 Cycle de vie de la perchaude.....	10
1.3 L'indice d'embonpoint – Un paramètre à mieux comprendre.....	10
2 Objectifs et Hypothèses.....	19
2.1 Objectif 1 : Cadre de référence.....	19
2.2 Objectif 2 : Perchaudes sauvages de lacs de références.....	21
2.3 Objectif 3 : Perchaudes de lacs contaminés.....	22
2.4 Objectif 4 : Différences interannuelles.....	23
3 Matériel et méthodes.....	25
3.1 Partie 1 : Expérience de laboratoire.....	25

3.1.1	Poissons et méthodologie.....	25
3.1.2	Calculs biométriques.....	26
3.1.3	Analyses enzymatiques.....	27
3.2	Partie 2 : Études de terrain.....	27
3.2.1	Choix des lacs.....	27
3.2.2	Méthodes d'échantillonnage.....	30
3.2.3	Calculs biométriques.....	30
3.2.4	Détermination des métaux.....	31
3.2.5	Analyses Statistiques.....	32
4	Résultats.....	33
4.1	Partie 1: Expériences de laboratoire.....	33
4.1.1	Effets du régime alimentaire sur les paramètres biométriques.....	33
4.1.2	Relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques.....	35
4.2	Partie 2 : Études sur le terrain.....	38
4.2.1	Concentrations des métaux dans les tissus et contenus stomacaux des perchaudes.....	38
4.2.1.1	Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux : Rouyn-Noranda.....	38
4.2.1.2	Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux : Sudbury.....	39
4.2.1.3	Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques : Rouyn-Noranda.....	43
4.2.1.4	Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques : Sudbury.....	43
4.2.2	Paramètres biométriques des perchaudes.....	46
4.2.2.1	Indice d'embonpoint : Rouyn-Noranda.....	46

4.2.2.2	Indice d'embonpoint : Sudbury	46
4.2.2.3	Le poids corrigé des cæca pyloriques : Rouyn-Noranda	49
4.2.2.4	Le poids des cæca pyloriques : Sudbury	49
4.2.2.5	Indice lipidique : Rouyn-Noranda	49
4.2.3	Relations entre les activités enzymatiques des perchaudes sauvages et les paramètres biométriques.	51
4.2.3.1	Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Indice d'embonpoint	51
4.2.3.2	Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Poids des cæca pyloriques.....	52
4.2.3.3	Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Indice lipidique	52
4.2.3.4	Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : Indice d'embonpoint	54
4.2.3.5	Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : Poids des cæca pyloriques.....	54
4.2.3.6	Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : L'indice lipidique	54
5	Discussion	57
5.1	Réaction des perchaudes de laboratoire aux différentes rations alimentaires.....	57
5.1.1	Réaction des paramètres biométriques.....	57
5.1.2	Réaction des activités enzymatiques.....	59
5.1.3	Relations entre les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes de laboratoire	60
5.2	Perchaudes des lacs de références et impact de la contamination sur les paramètres biométriques.....	64
5.2.1	Paramètres biométriques – Indice d'embonpoint	64

5.2.2	Paramètres biométriques – Poids des cæca pyloriques.....	67
5.2.3	Paramètres biométriques – Indice lipidique.....	71
5.3	Relations entre les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes des lacs de référence	72
5.3.1	Relations avec l'indice d'embonpoint.....	72
5.3.2	Relations avec le poids des cæca pyloriques	73
5.3.3	Relations avec l'indice lipidique	74
5.4	Relations entre les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes des lacs contaminés.....	74
5.4.1	Relations avec l'indice d'embonpoint.....	74
5.4.2	Relations avec le poids des cæca pyloriques	75
5.4.3	Relations avec l'indice lipidique	75
5.5	Différences interannuelles	75
6	Récapitulatif des hypothèses	79
7	Conclusions	87
8	Références	91
Partie II	Articles Scientifiques.....	115
Partie III	Annexes.....	230
1	Annexe A : Activités enzymatiques des perchaudes de laboratoire et récoltées sur le terrain.....	230
2	Annexe B : Concentrations des métaux dans les foies et les reins des perchaudes récoltées sur le terrain.....	236
2.1	Concentrations des métaux dans les foies : Rouyn-Noranda.....	236

2.2	Concentrations des métaux dans les foies : Sudbury	237
2.3	Concentrations des métaux dans les reins : Rouyn-Noranda.....	237
2.4	Concentrations des métaux dans les reins : Sudbury	238
3	Annexe C : Gradients de contamination.....	243
4	Annexe D : Tableau des espèces présente dans les lacs échantillonnés.....	253
5	Annexe E : Analyse de covariance des relations longueur vs poids et de l'indice lipidique.	255
5.1	Les relations longueur vs poids : ANCOVA et l'indice d'embonpoint.....	255
5.2	Les lipides viscéraux : Re-examen avec l'ANCOVA	258

Liste des tableaux

- Tableau 1 :** Description des lacs échantillonnés dans cette étude. Pour chacun la région, longitude, latitude, classe de contamination (Cont.), distance de la fonderie (Fond.) et les dates d'échantillonnages au printemps (Ptmp) et en été. Les abréviations pour les mois sont : Jn=Juin, Jl=Juillet, Ao=Août et Sp=Septembre. 29
- Tableau 2 :** Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel (Cor Par) et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés. 37
- Tableau 3 :** Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques chez les perchaudes des lacs de référence. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel (Cor Par) et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés. N= 60 par saison. 53
- Tableau 4 :** Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques chez les perchaudes des lacs contaminés. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés. N= 90 par saison. 55
- Tableau 5 :** Activités enzymatiques spécifiques (IU/g poids humide) et concentration de protéines (mg protéine/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques à la fin des 12 semaines expérimentales. Des lettres différentes (Sig) dans une même rangée

indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes (Moy) avec des erreurs type de la moyenne (ET) (n=17-36).	230
Tableau 6 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques à la fin des 12 semaines expérimentales. Des lettres différentes dans une même rangé (Sig) indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes (Moy) avec des écarts types (ET) (n=17-36).	231
Tableau 7 : Activités enzymatiques spécifiques (IU/g poids humide) et concentration de protéines (mg protéine/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées au printemps. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec des erreurs type de la moyenne (n=17-36).	232
Tableau 8 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées au printemps. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).	233
Tableau 9 : Activités enzymatiques spécifiques (IU/mg poids humide) et concentration de protéines (mg protéines/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées en été. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA	

global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).	234
Tableau 10 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées en été. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).....	235
Tableau 11 : Indice d'embonpoint, poids corrigé des cæca pyloriques et l'indice lipidique pour les perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.....	243
Tableau 12 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans la diète des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.	244
Tableau 13 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les cæca pyloriques des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.	245
Tableau 14 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les foies des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et	

l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 246

Tableau 15 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les reins des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 247

Tableau 16 : Indice d'embonpoint et poids des cæca pyloriques des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 248

Tableau 17 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans la diète des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 249

Tableau 18 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les cæca pyloriques des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 250

Tableau 19 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les foies des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 251

Tableau 20 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les reins des perchaudes capturées à Sudbury.

Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs. 252

Tableau 21 : Présence de diverses espèces dans les lacs échantillonnés des deux régions d'étude.

Ces informations sont compilées à partir d'observations personnelles. 253

Tableau 22 : Résultat des analyses de covariance entre la longueur et le poids des perchaudes.

Des analyses indépendantes ont été faites pour chaque année, saison et région. Pour chaque groupe, des lettres différentes dans la colonne Sig indiquent des différences significatives parmi les lacs. Les ordonnées à l'origine et les pentes, avec leurs erreurs type (ET) sont présentés. Les valeurs pour le Kn sont aussi présentées comme comparaison avec les résultats de la synthèse. Voir les tableaux 14 et 19 pour le nombre d'échantillons..... 257

Tableau 23 : Résultat des analyses de covariance entre le poids des lipides viscéraux et le poids

des perchaudes. Des analyses indépendantes ont été faites pour saison. Pour chaque saison, des lettres différentes dans la colonne Sig indiquent des différences significatives parmi les lacs. Les ordonnées à l'origine et les pentes, avec leurs erreurs type (ET) sont présentés. Les valeurs pour l'indice lipidique sont aussi présentées comme comparaison avec les résultats de la synthèse. N= 30 pour chaque lac, sauf Bousquet au printemps où n = 25. 259

Liste des figures

- Figure 1 :** Diagramme représentant les facteurs qui influencent l'indice d'embonpoint. Une fois l'énergie ingérée elle est soit déposée sous divers formes et augmente l'indice d'embonpoint (+) ou est dépensée et donc ne contribue pas à l'augmentation du facteur d'embonpoint (-). Une augmentation préférentielle de la longueur a aussi pour effet de diminuer l'indice d'embonpoint. 11
- Figure 2 :** Évolution du poids (A) et du taux de croissance spécifique (TCS; B) des perchaudes. Ligne solide rouge : M; Ligne pointillée/brisée verte: MS; Ligne brisée orange: SM; Ligne pointillée bleu: S. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les poids ou les TCS pour les deux dernières semaines de l'expérience..... 33
- Figure 3 :** Poids corrigé final des cæca pyloriques. Les valeurs sont des moyennes + erreur standard. Des lettres différentes indiquent des différences significatives. 34
- Figure 4 :** Évolution de l'indice d'embonpoint chez les perchaudes. Même légende que sur la figure 2..... 34
- Figure 5 :** Indice lipidique final. Les valeurs sont des moyennes + erreur standard. Des lettres différentes indiquent des différences significatives dans le poids des cæca pyloriques. 35
- Figure 6 :** Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn-Noranda. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 41

Figure 7 : Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 42

Figure 8 : Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn-Noranda. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 44

Figure 9 : Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 45

Figure 10 : Indice d'embonpoint des perchaudes échantillonnées dans les régions de Rouyn (haut) et Sudbury (bas). Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes

vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

..... 48

Figure 11 : Indice lipidique pour les perchaudes de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés..... 50

Figure 12 : Poids corrigé des cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les régions de Rouyn (haut) et Sudbury (bas). Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 50

Figure 13 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques observés chez les perchaudes sur un régime alimentaire élevé. Les facteurs qui influent l'indice d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuant sont en bleu. 80

Figure 14 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques subits par les perchaudes vivant dans les lacs de référence. Les facteurs qui influent l'indice

d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuent sont en bleu..... 83

Figure 15 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques subits par les perchaudes vivant dans les lacs contaminés. Les facteurs qui influent l'indice d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuent sont en bleu..... 84

Figure 16 : Concentrations des métaux dans les foies des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 240

Figure 17 : Concentrations des métaux dans les foies des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 241

Figure 18 : Concentrations des métaux dans les reins des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les

rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 242

Figure 19 : Concentrations des métaux dans les reins des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les oranges des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année. 242

Glossaire

Activité protéique : L'activité d'un enzyme exprimé par unité de poids de protéines dans l'homogénat. Exprimé en IU / mg de protéines. Cette mesure est utilisée pour déterminer si l'activité de l'enzyme a changé par rapport à la concentration de l'ensemble des protéines dans le tissu

Activité spécifique : L'activité d'un enzyme exprimé par unité de poids du tissus frais. Exprimé en IU / g. Cette mesure est utilisée pour déterminer si l'activité d'un enzyme a changé indépendamment d'un changement de poids de l'organe.

Activité totale : L'activité entière d'un enzyme dans un organe ou tissu. Exprimé en IU. Cette mesure détermine la capacité totale de l'enzyme dans un tissu de convertir un substrat.

Cæca pylorique : Projection du tissu intestinal servant à augmenter la surface intestinale en contact avec la nourriture. Ce tissu est trouvé immédiatement postérieur à la valve gastrique, à la sortie de l'estomac.

CCO : Cytochrome C oxidase (EC 1.9.3.1). Enzyme de la chaîne de transport d'électrons, impliqué dans la production d'ATP de façon aérobie.

Correction allométrique : Méthode de correction pour tenir compte d'un changement non-isométrique (variant en fonction de la taille) d'un paramètre biométrique ou physiologique.

CS : Citrate synthase (EC 2.3.3.1). Enzyme dans le Cycle de Krebs, impliqué dans la production d'ATP de façon aérobie.

G6PDH : Glucose-6-phosphate déshydrogénase (EC 1.1.1.49). Enzyme responsable de la production d'agents réducteurs (NADP) utilisés pour l'élongation des acides gras.

Indice d'embonpoint : Rapport entre le poids (P) d'un organisme et sa longueur (L) de la forme P/L^{ex} . Le terme "ex" est un exposant. Dans cette thèse, deux indices d'embonpoint sont utilisés. Le FCF (Fulton's Condition Factor) utilise un exposant fixe de 3.0. Le Kn utilise un exposant déterminé par la pente de la relation logarithmique entre le poids et la longueur.

Indice lipidique : Rapport entre le poids frais du poisson et le poids frais des lipides viscéraux. Exprimé en % de la masse totale.

IU : International units. Unité de mesure pour exprimer l'activité d'un enzyme. Une IU représente la conversion d'une micromole d'un substrat par minute par l'enzyme.

LDH : L'enzyme lactate déshydrogénase (EC 1.1.1.27). Responsable de la fermentation lactique et de la production d'ATP de façon anaérobie.

NDPK : L'enzyme nucléoside diphosphate kinase (EC 2.7.4.6). Impliqué dans la phosphorylation des nucleosides bi-phosphatés requis pour la production d'ARN requis pour l'anabolisme des protéines.

PK : L'enzyme pyruvate kinase (EC 2.7.1.40). Agit lors de la dernière étape de la glycolyse et est responsable de la production d'ATP.

Partie I Synthèse

1 Introduction

Durant les années '60 et '70, les gouvernements de l'Amérique du Nord ont établi des normes environnementales définissant les niveaux acceptables de contaminants qui pouvaient être introduits dans les environnements aquatiques. Pour établir ces normes, plusieurs études toxicologiques ont été entreprises examinant les métaux et leurs effets sur de nombreuses espèces. En plus des études de toxicité aiguë et chronique examinant l'impact des métaux sur la survie des poissons (Mount, 1968; Brungs, 1969; Mount et Stephan, 1969; Eisler, 1971; Pickering et Gast, 1972; Eaton, 1974; Holcombe et al., 1979) plusieurs études ont aussi examiné d'autres paramètres toxicologiques comme la reproduction (Shaw et Brown, 1971; Pickering et al., 1977), les effets tératogènes (Ozoh, 1979), le comportement des poissons (Sullivan et al., 1978), leurs capacités de nage (Waiwood et Beamish, 1978) et l'osmorégulation (Skidmore, 1970), qui pourraient aussi être inclus dans des évaluations toxicologiques. Des expériences ont aussi été faites examinant plusieurs espèces de poissons exposées aux mêmes conditions (Eaton et al., 1978; McKim et al., 1978), tandis que d'autres ont examiné différents stades ontogéniques (Skidmore, 1966; Benoit et Leonard, 1976; Chapman, 1978), dans le but de déterminer les espèces et les stades les plus sensibles.

Suite aux études de dépistage des années '60 et '70, des études mécanistiques durant les années '80 ont approfondi nos connaissances de la toxicité des métaux. Plusieurs expériences ont examiné l'impact de la chimie de l'eau (pH, dureté, carbone organique dissous) sur la toxicité des métaux (Calamari et al., 1980; Pärt et al., 1985; Campbell et Stokes, 1985; Hutchinson et Sprague, 1986; Cusimano et al., 1986) et les résultats de ces études ont mené aux premières

études sur la spéciation des métaux (Giesy et al., 1983; Pagenkopf, 1983). D'autres études ont aussi examiné les réponses toxicologiques au niveau moléculaire. Par exemple, les premières études sur le stress oxydatif (Radi et Matkovics, 1988) et l'induction des métallothionéines, une protéine impliquée dans la régulation cellulaire et la détoxification des métaux, ont été faites dans les années '80 (McCarter et Roch, 1984; Roch et McCarter, 1984a; Roch et McCarter, 1984b; Benson et Birge, 1985). Des études sur l'ionorégulation, notamment celles de Laurén et McDonald (Laurén et McDonald, 1987a; Laurén et McDonald, 1987b), ont démontré que les mortalités durant les expositions aiguës étaient causées par une perte de contrôle sur les flux ioniques. Pendant que les chercheurs en laboratoire examinaient les mécanismes de toxicité, des études de terrain examinaient l'accumulation des métaux chez les poissons sauvages (Vinikour et al., 1980; McFarlane et Franzin, 1980; Wren et al., 1983; Bendell-Young et al., 1986) et l'impact des métaux sur la croissance et la reproduction (Munkittrick et Dixon, 1988).

Les années '90 ont apporté encore plus de raffinements à nos connaissances et nous ont aussi rappelé certains aspects qui avaient été négligés en écotoxicologie, comme l'influence de la nourriture et de l'écosystème sur la santé d'un poisson. Les modèles de spéciation en milieux aqueux se sont raffinés et les mots « ligand biotique » sont rentrés dans le vocabulaire des chercheurs (Playle et al., 1992; Playle et al., 1993; Meyer et al., 1999). Ces raffinements, testés et calibrés en laboratoire, ont aussi été apportés sur le terrain (Tessier et al., 1993; Hare et al., 1994). Les tests toxicologiques ont aussi été transposés sur le terrain afin de démontrer que les stades sensibles en laboratoire l'étaient tout autant sur le terrain (Ellenberger et al., 1994; Leis et Fox, 1994; Leis et Fox, 1996). Mais malgré ces raffinements, une série d'études sur le terrain a remis en question la validité des tests toxicologiques classiques. Plusieurs études examinant l'impact d'une diète contaminée ont démontré que la nourriture, rarement considérée par les tests

toxicologiques, ne devait pas être négligée comme vecteur de toxicité (Farag et al., 1994; Woodward et al., 1994; Farag et al., 1995). Certaines études ont aussi examiné des indices de toxicité qui se rapprochaient plus du monde de l'écologie que de la toxicologie et ont démontré que la capacité des poissons à trouver et à capturer leur nourriture était affectée par les métaux (Munkittrick et al., 1991; Scherer et al., 1997).

Avec le nouveau millénaire, les découvertes n'ont pas cessé et l'équilibre entre les recherches sur les aspects chimiques et biologiques de la toxicité des métaux s'est rétabli. Le « modèle du ligand biotique » est devenu l'approche de choix pour l'évaluation de la toxicité aiguë (Heijerick et al., 2002; De Schamphelaere et al., 2002; Santore et al., 2002) et certaines études ont tenté de l'appliquer à des expositions à plus long terme (Hollis et al., 2000; Paquin et al., 2002). L'approche toxicocinétique s'est aussi démontrée très prometteuse (Luoma et Rainbow, 2005) et son application sur le terrain (Kraemer et al., 2005a; Kraemer et al., 2006), bien que difficile, pourrait révolutionner les modèles de bioaccumulation. L'intérêt entourant la contamination de la diète n'a pas cessé non plus. Des études sur l'assimilation et la distribution des métaux dans l'intestin ont examiné sa capacité à contrôler l'accumulation des métaux (Farag et al., 2000; Clearwater et al., 2000; Kamunde et al., 2001; Glover et Hogstrand, 2002) tandis que des expositions chroniques nous démontraient le plein potentiel toxicologique de la contamination alimentaire (Ptashynski et al., 2002). Mais avec toutes les réponses que les études de laboratoire nous ont apportées, les études sur le terrain n'ont pas cessé de soulever de nouvelles questions. L'énorme complexité et la variabilité du milieu sauvage (Couture et al., 2008) nous font réaliser que des approches standardisées seront très difficiles à utiliser. De plus, l'exposition aux métaux durant le cycle vital complet fait en sorte que les impacts sur la bioénergétique (Sherwood et al., 2000) et les hormones (Laflamme et al., 2000) prennent de

l'importance. Ces deux paramètres sont souvent considérés comme négligeables dans les études de laboratoire. Les études sur le terrain ont aussi démontré que des changements dans la communauté des prédateurs et des proies peuvent avoir des impacts importants sur la santé des perchaudes (*Perca flavescens*) vivant dans des lacs contaminés par des métaux (Iles et Rasmussen, 2005).

L'évolution des connaissances entourant la toxicité des métaux et la complexité des recherches dans le milieu sauvage sont à la base des études qui ont été entreprises durant ce doctorat. En examinant une espèce tolérante aux métaux, la perchaude, présente dans les lacs de deux régions contaminées par les métaux (Rouyn-Noranda et Sudbury), et en ciblant des indices métaboliques et physiologiques qui peuvent nous donner des informations sur la santé de poissons vivant en milieu contaminé, ce doctorat avait pour but d'améliorer nos capacités d'interpréter les divers facteurs qui affectent le statut bioénergétique des perchaudes.

1.1 Historique de contamination et recherches antérieures dans les régions étudiées

1.1.1 Sudbury

Initialement une région d'exploitation forestière, les activités minières dans la région de Sudbury ont débuté en 1886, avec le cuivre (Cu) comme métal d'intérêt principal. Avec l'invention de l'acier-nickel, la demande pour le nickel (Ni) a augmenté et son exploitation dans la région a rapidement pris de l'importance. Avec une demande de plus en plus forte, la production du Cu et du Ni devint plus importante, avec pour conséquence une augmentation parallèle de la pollution. Les roches de la région de Sudbury sont caractérisées par une haute teneur en soufre (S). Le processus de fusion à haute température utilisé pour la production du Cu

et du Ni à Sudbury a donc dégagé des grandes quantités de dioxyde de soufre (SO₂), avec un pic d'environ 2,5 millions de tonnes/an en 1960 (Dillon et al., 1986). Cette production de SO₂, avec d'autres dioxydes comme le NO₂, a causé une acidification de la région de Sudbury et a détruit ou endommagé les écosystèmes terrestres environnants (Winterhalder, 1995). Cette acidification, ainsi que la lixiviation de l'aluminium qui en découle, ont eu non seulement des impacts importants sur les écosystèmes terrestres mais aussi sur les écosystèmes aquatiques de la région (Beamish, 1974; Gunn et Keller, 1984; Dixit et al., 1992; Conlon et al., 1992).

Malgré l'ampleur de l'acidification, plusieurs chercheurs ont démontré que les lacs dans la région se rétablissaient naturellement (Keller et Pitblado, 1986; Gunn et Keller, 1990; Keller et al., 1992; Mallory et al., 1998). Des efforts de réhabilitation ont également eu lieu avec succès (Gunn et al., 2001). Cependant les dioxydes n'ont pas été pas les seuls contaminants à être dégagés des fonderies. Des métaux ont aussi été relâchés dans l'environnement, en quantités suffisantes pour « saturer » les écosystèmes (Nriagu et al., 1998) et en empêcher le rétablissement complet (Winterhalder, 1995; Arnott et Yan, 2002).

Bien que la quantité de métaux relâchés ait diminué (Nriagu et Rao, 1987), leurs impacts se font encore ressentir dans les lacs de la région. Des études ont démontré que les invertébrés qui habitent les lacs de la région accumulent des concentrations élevées de ces métaux (Bagatto et Alikhan, 1987; Hare et Tessier, 1996) et que cette accumulation a des effets néfastes sur leur croissance et leur survie (Borgmann et al., 2001; Borgmann et Norwood, 2002). Les métaux s'accumulent aussi chez les poissons (Bradley et Morris, 1986), affectent leur survie (Yan et al., 1979; Gauthier et al., 2006) et peuvent même affecter leurs capacités sensorielles (McPherson et al., 2004).

D'intérêt plus proche à cette thèse, de nombreuses études ont été entreprises pour examiner les effets toxiques des métaux sur la perchaude dans la région de Sudbury. Plusieurs de celles-ci ont observé leurs impacts sur la croissance de la perchaude. Entre autres, deux études ont conclu que la croissance dans les lacs contaminés était moindre que dans les lacs de référence (Rajotte et Couture, 2002; Campbell et al., 2003), mais une étude plus récente démontre l'inverse, soit une croissance initiale plus rapide dans les lacs contaminés, mais accompagnée d'une réduction de la longévité (Pyle et al., 2008). Plusieurs chercheurs ont examiné l'indice d'embonpoint et, presque à l'unanimité, ont trouvé que les perchaudes des lacs contaminés avait un indice d'embonpoint plus faible que les perchaudes des lacs de référence (Rajotte et Couture, 2002; Eastwood et Couture, 2002; Couture et Rajotte, 2003; Taylor et al., 2004; Giguere et al., 2005; Pyle et al., 2005; Pyle et al., 2008). Des études ont aussi été entreprises examinant l'impact d'habiter un lac contaminé sur les activités enzymatiques (Rajotte et Couture, 2002; Couture et Kumar, 2003; Audet et Couture, 2003; Couture et al., 2008). Les résultats s'accordent sur le fait que les perchaudes qui vivent dans des lacs contaminés montrent des capacités aérobie (la citrate synthase (CS) et la cytochrome C oxidase (CCO)) réduites dans le muscle. Les résultats divergent pour la nucléoside diphosphate kinase (NDPK), un indicateur de capacité biosynthétique. Une étude démontre une augmentation de l'activité (Rajotte et Couture, 2002) chez les poissons contaminés aux métaux, une autre une baisse (Couture et Kumar, 2003) et une troisième une baisse ou aucune différence dépendamment de la saison (Audet et Couture, 2003).

1.1.2 Rouyn-Noranda

Comparée à la région de Sudbury, la région de Rouyn-Noranda n'a pas subi une acidification intensive. Outre le traitement à façon du concentré de cuivre, la fonderie est aussi impliquée depuis le début des années '90 dans le recyclage des pièces électroniques (pour la

récupération du cuivre et des métaux précieux). Cette variabilité des intrants à la fonderie peut ainsi entraîner une certaine variabilité dans la nature des émissions, tout en visant le respect des normes applicables et cibles établies (Robert Prairie, Xstrata Canada, communication personnelle). Néanmoins, les émissions métalliques (principalement le Cd, le Cu et le Zn) de la fonderie ont contaminé les lacs environnants (Cattaneo et al., 2004; Couillard et al., 2004; Perceval et al., 2006) et leurs traces sont même détectables dans des sédiments à 150 km de distance (Gallon et al., 2006). Cette contamination des lacs de la région a entraîné l'accumulation de métaux dans les tissus des invertébrés (Tessier et al., 1993; Couillard et al., 1995; Hare et Tessier, 1996). Dans le but d'examiner leur potentiel comme biomoniteurbioindicateur, plusieurs chercheurs ont étudié la production de métallothionéine chez les bivalves de la région (Couillard et al., 1993; Couillard et al., 1995; Wang et al., 1999; Giguere et al., 2003). Pour ces bivalves, vivre dans un de ces lacs contaminés a été lié à des indices d'embonpoint plus faibles (Couillard et al., 1993) et une capacité reproductrice moins importante (Perceval et al., 2004). Les effets sont similaires pour d'autres membres de la communauté benthique; une diversité moindre, un taux de croissance et une survie réduite (Borgmann et al., 2004).

La perchaude a aussi reçu beaucoup d'attention des chercheurs et plusieurs impacts néfastes des métaux ont été identifiés. Les perchaudes qui vivent dans les lacs contaminés démontrent des concentrations d'hormones différentes de celles mesurées chez leurs consœurs dans les lacs de références (Brodeur et al., 1997; Laflamme et al., 2000) et subissent un stress oxydatif lié à la présence de métaux (Giguere et al., 2005). La production de la métallothionéine est augmentée chez les perchaudes vivant dans les lacs contaminés (Laflamme et al., 2000), mais (Giguere et al., 2005) cette augmentation de la métallothionéine n'empêche pas les métaux de

s'infiltrer aux sites sensibles de la cellule (Kraemer et al., 2006; Giguere et al., 2006) et potentiellement d'y exercer un effet toxique.

Ces impacts au niveau cellulaire et hormonal ont leurs répercussions sur le métabolisme des perchaudes. La manière dont les perchaudes gèrent leurs réserves énergétiques est affectée et les perchaudes de lacs contaminés accumulent moins de réserves lipidiques dans leur foie (Levesque et al., 2002). Ces différences pourraient être le résultat de changements au niveau enzymatique. Levesque et al. (2002) ont aussi observé que l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et de la malate déshydrogénase était moindre dans les foies de perchaudes de lacs contaminés. Ces deux enzymes sont responsables de la production d'agents réducteurs qui sont requis pour l'élongation des acides gras. D'autres études ont aussi démontré que le métabolisme aérobie, dans les muscles des perchaudes contaminées, est affecté notamment par des baisses d'activité de la CS et de la CCO (Couture et al., 2008). D'autre part, ces mêmes études n'ont pas observé de différences dans la capacité glycolytique (lactate déshydrogénase (LDH) et pyruvate kinase (PK)) des perchaudes vivant en milieu contaminé.

A l'échelle de l'organisme, des effets néfastes ont aussi été observés. Les perchaudes qui résident dans les lacs contaminés ont souvent de faibles taux de croissance (Sherwood et al., 2000; Campbell et al., 2003) qui ont été attribués à une moins bonne capacité de convertir la nourriture en masse corporelle (Sherwood et al., 2000; Sherwood et al., 2002a). Avec ces observations d'un taux de croissance moindre, c'est sans surprise que plusieurs chercheurs ont aussi constaté que les perchaudes provenant de lacs contaminés ont aussi un indice d'embonpoint inférieur aux perchaudes de lacs de référence (Levesque et al., 2002; Levesque et al., 2003; Kraemer et al., 2006; Pyle et al., 2008). Une diminution de la capacité reproductive des

perchaudes des lacs contaminés est potentiellement liée à des indices d'embonpoint plus faibles (Levesque et al., 2003).

1.2 Le choix de la perchaude

La majorité des études toxicologiques en Amérique du Nord utilisant les poissons se servent soit de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) ou de tête-de-boule (*Pimephales promelas*). Choisies dans le contexte des « espèces sensibles », une philosophie qui a ses critiques (Cairns Jr., 1986), et parce qu'elles sont facilement maintenues en laboratoire, ces deux espèces sont les « rats de laboratoire » de la toxicologie aquatique. Mais bien qu'elles présentent des avantages pour les études toxicologiques, leur utilisation a aussi des inconvénients. L'utilisation d'espèces sensibles dans un contexte de prévention ou de surveillance a sa place. Mais les régions examinées sont déjà contaminées, ce qui change le contexte vers celui de la réhabilitation. Étant des espèces sensibles, la truite arc-en-ciel et le tête-de-boule sont rarement présents dans des environnements contaminés. Donc, elles ne sont pas un choix adéquat pour documenter l'amélioration de ces mêmes environnements.

La perchaude a donc été choisie comme espèce cible. Comme en témoignent les multiples articles déjà cités, la perchaude est présente dans les deux régions et elle maintient des populations stables même dans les lacs les plus contaminés. Étant une espèce qui revient au même site de frai d'une année à l'autre (Aalto et Newsome, 1989; Aalto et Newsome, 1990), la perchaude est aussi une bonne réflexion de la contamination locale dans un lac. Elle est aussi une espèce qui change de diète de façon ontogénique, progressant du plancton au benthos et éventuellement à un comportement piscivore (Sherwood et al., 2002b). Ces changements de diète permettent d'examiner les effets potentiels de la contamination à plusieurs niveaux trophiques en n'échantillonnant qu'une seule espèce. De plus, la perchaude est une espèce très

répandue en Amérique du Nord et donc les résultats de ces recherches seront potentiellement applicables à un très grand nombre de régions.

1.2.1 Cycle de vie de la perchaude

Chez la perchaude, le frai prend place entre la fin avril et le début mai quand la température de l'eau est entre 7°C et 11°C. Les œufs éclosent après 10-20 jours pour donner des larves d'entre 4 et 7 mm. Les perchaudes femelles deviennent matures après environ trois ans, les mâles mûrent habituellement en deux ans. Durant l'été et le début de l'automne, les perchaudes sont toutes dans un état de récupération (de l'hiver et du frai) où elles cherchent de la nourriture afin d'accumuler le plus de poids pour le prochain hiver. Ceci fait en sorte que durant les mois d'été les perchaudes, peu importe le sexe ou l'âge, ont un statut métabolique très similaire. Cette similarité facilite les comparaisons entre les groupes qui, à un autre temps de l'année, auraient des différences métaboliques potentiellement importantes.

1.3 L'indice d'embonpoint – Un paramètre à mieux comprendre

L'utilisation de l'indice d'embonpoint existe depuis longtemps et s'applique à une variété d'organismes aquatiques allant des moules (Couillard et al., 1993) aux poissons (Munkittrick et Dixon, 1988; Lambert et al., 1994; Chellappa et al., 1995; Carter et al., 1998). Les raisons qui font que l'indice d'embonpoint est un paramètre si populaire sont la facilité de sa mesure et son utilité comme indicateur de santé. Plusieurs méthodes sont utilisées pour calculer l'indice d'embonpoint mais ce sont toutes des relations entre le poids de l'organisme et sa longueur. La simplicité de ces mesures, ainsi que le fait que leur détermination ne blesse pas l'organisme, font en sorte que plusieurs échantillons peuvent être récoltés rapidement avec un impact minime sur l'organisme et la population. Un fois calculé, l'indice d'embonpoint peut servir comme indicateur

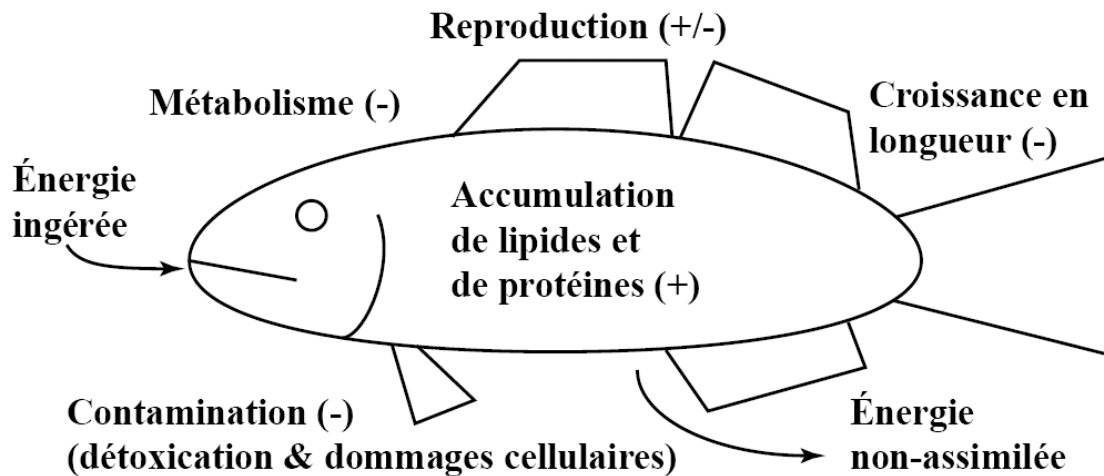


Figure 1 : Diagramme représentant les facteurs qui influencent l'indice d'embonpoint. Une fois l'énergie ingérée elle est soit déposée sous divers formes et augmente l'indice d'embonpoint (+) ou est dépensée et donc ne contribue pas à l'augmentation du facteur d'embonpoint (-). Une augmentation préférentielle de la longueur a aussi pour effet de diminuer l'indice d'embonpoint.

pour plusieurs paramètres, incluant la survie post-stress (Dutil et Lambert, 2000), la survie à l'hivernage (Bennett et Janz, 2007), la participation à la reproduction (Engelhard et Helno, 2006), la qualité des œufs (Gagliano et McCormick, 2007) et la quantité de réserves énergétiques (Nelson et Magnuson, 1992).

Mais même si l'indice d'embonpoint est indicateur de plusieurs paramètres importants, peu de facteurs qui l'influencent sont quantifiés. Les deux composantes de l'indice d'embonpoint, le poids et la longueur, sont des mesures qui intègrent l'influence de plusieurs facteurs qui eux reflètent la qualité de l'environnement. La figure 1 présente un schéma des divers paramètres physiologiques qui affectent l'indice d'embonpoint chez les poissons. Les paramètres qui affectent positivement le poids d'un poisson (l'accumulation de protéines et des lipides, croissance des gonades) affectent positivement l'indice d'embonpoint. Mais ce ne sont pas toutes les formes de croissance qui augmentent l'indice d'embonpoint. Si, pour une quelconque raison, un poisson croît en longueur sans un investissement proportionnel pour augmenter son poids,

ceci aura pour effet de diminuer son indice d'embonpoint. Des pertes de poids et d'énergie, qu'elles soient ponctuelles (reproduction) ou constantes (métabolisme, lié, ou non, à la contamination) ont une influence négative sur l'indice d'embonpoint.

Ces paramètres physiologiques sont affectés par une panoplie d'influences externes. La richesse et la diversité des proies disponibles ont une influence sur l'énergie qui sera ingérée et la qualité des proies aura une influence sur la proportion assimilée (Boisclair et Leggett, 1989; Pyle et al., 2005; Rennie et al., 2005). Les compétiteurs affecteront aussi la quantité et la qualité des proies qu'un organisme réussira à capturer, ce qui aura pour effet d'augmenter l'énergie dépensée à la recherche de cette nourriture (Persson et al., 1999; Pyle et al., 2005; Kaufman et al., 2006). Bien que les prédateurs rendent la recherche pour les proies plus ardue, leur présence a souvent l'effet contre intuitif d'augmenter l'indice d'embonpoint moyen d'une population (Pyle et al., 2005; Lippert et al., 2007) car ils éliminent les membres qui sont en moins bonne santé (et donc qui ont un indice d'embonpoint moindre) et causent probablement une réduction des populations des compétiteurs directs de la perchaude. Bien qu'ils soient connus, l'influence de ces facteurs sur l'indice d'embonpoint n'a pas été quantifiée, une tâche difficile et où les résultats ne seraient probablement applicables qu'au système dans lequel ils ont été déterminés.

Ces nombreuses interactions sont fort probablement la cause d'une autre limitation de l'indice d'embonpoint quand il est utilisé dans des études toxicologiques. Il existe une contradiction entre les résultats générés à partir d'expériences en laboratoire et les observations sur le terrain. Quand des poissons en laboratoire sont exposés à des métaux toxiques (Cd, Cu et Ni étant ceux d'intérêt principal dans cette thèse), des impacts négatifs sur l'indice d'embonpoint ne sont pas observés (Kamunde et al., 2001; Ptashynski et al., 2002) sauf à des concentrations très élevées (Scudder et al., 1988). Ceci est tout le contraire des études sur le terrain où un effet

négatif sur l'indice d'embonpoint est la norme (Farag et al., 1995; Eastwood et Couture, 2002; Pyle et al., 2008). Mais la multitude d'influences sur l'indice d'embonpoint chez les poissons sauvages fait en sorte que même dans les milieux contaminés en métaux on n'observe parfois aucun effet (Bennett et Janz, 2007) et dans certains cas l'indice d'embonpoint peut même être plus élevé (Audet et Couture, 2003; Pyle et al., 2005).

Dans le but de mieux comprendre l'influence de ces divers paramètres environnementaux sur l'indice d'embonpoint des perchaudes sauvages, plusieurs autres paramètres ont été examinés dans cette thèse. Le premier était le poids des cæca pyloriques. Ces organes, situés immédiatement postérieur à l'estomac, sont des projections qui servent à augmenter la surface intestinale en contact avec la nourriture (Buddington et Diamond, 1987). Les cæca pyloriques sont donc un site de grande importance pour l'absorption des nutriments (Bauermeister et al., 1979; Collie, 1985) et il y a des indications qu'ils participent à la synthèse des acides gras (Bell et al., 2003). Témoinant de cette grande importance dans le processus de digestion, plusieurs études ont aussi démontré que l'activité de plusieurs enzymes était plus élevée dans les cæca pyloriques que dans d'autres portions du tractus digestif (Ash, 1980; Mommsen et al., 2003; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005). Des expériences en laboratoire ont démontré qu'une augmentation du poids des cæca pyloriques était associée avec des augmentations du taux de croissance chez diverses espèces de poissons (Mann et McCart, 1981; Stevens et al., 1999; Bélanger et al., 2002) et aussi avec une augmentation de la consommation de nourriture (Collie, 1985; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005). Bien qu'aucune étude connue ne lie le poids des cæca pyloriques à l'indice d'embonpoint, les corrélations avec la croissance et la consommation indiquent qu'une telle association est fort probable. Les cæca pyloriques sont aussi très intéressants pour les études toxicologiques puisqu'ils sont un site important pour l'assimilation

des métaux présents dans la diète (Farag et al., 1995; Ptashynski et al., 2001) et qu'ils réagissent à la présence de métaux en produisant des métallothionéines (Ptashynski et al., 2002).

Le deuxième paramètre qui a été examiné dans cette thèse pour améliorer notre compréhension des facteurs environnementaux qui affectent l'indice d'embonpoint est le poids des lipides viscéraux. Ce tissu est la réserve majeure de lipides chez la perchaude. Chez d'autres espèces, comme l'indice d'embonpoint, le poids des lipides viscéraux est un bon indicateur de la survie hivernale (Niva, 1999), de la capacité reproductrice (Henderson et al., 1996; Mackereth et al., 1999), de la consommation de nourriture (Weatherley et Gill, 1981; Weatherley et Gill, 1983; Niva, 1999) et de la composition de cette nourriture (Lin et al., 1977). Étant donné que les lipides viscéraux et l'indice d'embonpoint servent comme indicateur des mêmes paramètres, connaître les variations du premier pourrait servir à comprendre les changements chez le deuxième. Par exemple, si un poisson a un indice d'embonpoint élevé, mais peu de réserves lipidiques, ceci indiquerait qu'il utilise les lipides qu'il consomme pour maintenir sa condition physique et qu'il ne les accumule pas. De plus, il a été démontré que le poids des lipides viscéraux répond rapidement aux changements du régime alimentaire en milieu contrôlé (Weatherley et Gill, 1981) et sur le terrain (Mackereth et al., 1999) pour la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et l'achigan à petite bouche (*Micropterus dolomieu*) respectivement.

Le troisième paramètre à être examiné était le statut métabolique de la perchaude. L'indice d'embonpoint est une représentation de l'activité de plusieurs voies métaboliques qui sont responsables de la production d'énergie, de l'anabolisme et de l'accumulation des réserves d'énergie. Bien que des changements d'activités enzymatiques puissent paraître minimes quand ils sont comparés à des variations au plan écologique, ces petits changements peuvent avoir un impact important sur les individus. Jared Diamond (1991) a démontré que l'absorption du

glucose dans l'intestin change en fonction de la concentration de glucose dans l'intestin. En démontrant cette capacité d'adaptation aux changements dans la concentration de glucose intestinal, il propose un modèle évolutif applicable aux autres aspects du métabolisme. La théorie est que la capacité de s'adapter aux changements environnementaux est un atout évolutif car elle permet de profiter des périodes où un grand taux métabolique est avantageux, sans maintenir inutilement de la machinerie cellulaire coûteuse.

Afin de caractériser le statut métabolique des perchaudes, deux tissus ont été ciblés pour l'analyse de l'activité enzymatique, le muscle blanc et les cæca pyloriques. Dans le muscle blanc des enzymes représentant plusieurs voies métaboliques ont été examinés. Deux enzymes cytosoliques de la voie glycolytique ont été dosés. La PK est le dernier enzyme impliqué dans la glycolyse et convertit le phosphoénol pyruvate en pyruvate, produisant de l'ATP. Si le pyruvate n'est pas acheminé vers des voies aérobies, la LDH peut convertir le pyruvate en lactate, recyclant le NADH produit durant la glycolyse, permettant la production d'ATP par glycolyse. En plus de permettre la production d'ATP de façon anaérobie, la LDH pourrait aussi représenter une réserve protéique (Houlihan et al., 1988).

Les étapes suivantes dans la production d'ATP, le cycle de Krebs et la chaîne de transport d'électron, sont représentées respectivement par la CS et la CCO. Les voies métaboliques auxquelles ces enzymes participent prennent place dans la mitochondrie des cellules et sont responsables de la production aérobie d'énergie. La CS est le premier enzyme dans le cycle de Krebs et est considérée comme l'étape limitante. En plus de l'ATP produit, les agents réducteurs générés par le cycle de Krebs (NADH et FADH₂) seront ensuite acheminés vers la chaîne de transport d'électrons où ils seront oxydés pour produire de l'ATP. Cette oxydation est effectuée

en plusieurs étapes par une série de réactions avec des cytochromes et la réaction catalysée par la CCO est l'étape limitante de ce processus.

Le muscle blanc est aussi le site majeur pour la production de protéines, qu'elles soient structurales ou solubles. La NDPK a donc été mesurée pour nous donner une indication de la production de protéines dans le muscle des perchaudes. Puisque la synthèse de protéines exige la production parallèle d'ARN, la cellule doit produire des nucléotides pour synthétiser des protéines. La NDPK participe à cette étape en convertissant des nucléotides diphosphates en triphosphates, qui peuvent ensuite former une chaîne d'ARN et permettre la transcription des protéines.

Plusieurs études ont démontré que l'activité des enzymes musculaires varie avec le taux de croissance (Goolish et Adelman, 1987; Mathers et al., 1992; Pelletier et al., 1994; Guderley et al., 1996; Guderley, 2004). Mais ce constat n'est pas unanime (Kiessling et al., 1989; Pelletier et al., 1993; Bélanger et al., 2002) ce qui indiquerait que la cause du changement de taux de croissance (régime, température, saison, etc.) et le choix de la mesure pour exprimer l'activité de l'enzyme (spécifique, protéique, ARN etc.) peuvent avoir une importante influence sur les résultats obtenus (Pelletier et al., 1995). Un autre aspect intéressant des muscles blancs est que, malgré le fait que les métaux n'ont pas tendance à s'accumuler dans ce tissu, les poissons exposés à des concentrations élevées de métaux montrent des diminutions dans l'activité de certains enzymes (Almeida et al., 2001; Couture et al., 2008) et affichent aussi une baisse dans la synthèse de protéines (de Boeck et al., 1997). Ceci suggère que même si le muscle n'est pas directement affecté par les métaux (puisque'ils s'y accumulent peu), les enzymes musculaires pourraient être de bons indicateurs des effets de ceux-ci chez la perchaude.

Plusieurs des enzymes examinés dans le muscle ont aussi été examinés dans les cæca pyloriques (CCO, CS et NDPK). La G6PDH a aussi été dosée car les cæca pyloriques sont potentiellement un site de synthèse des lipides (Bell et al., 2003). Le rôle de la G6PDH dans la synthèse des lipides est de générer les agents réducteurs requis pour l'élongation des chaînes d'acides gras. Bien que plusieurs enzymes soient impliqués dans la production d'agents réducteurs, la G6PDH est celle qui démontre la plus haute activité dans les tissus de poissons. Relativement peu d'études ont été faites examinant la réponse des enzymes dans les cæca pyloriques, mais ces études indiquent que l'activité des enzymes (notamment la CS, CCO et la NDPK) suit les changements du taux de croissance (Bélangier et al., 2002; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005).

2 Objectifs et Hypothèses

2.1 Objectif 1 : Cadre de référence

Avant d'être capable d'évaluer l'impact des conditions environnementales sur les poissons sauvages, il faut d'abord établir un cadre de référence. Il faut déterminer les liens entre la consommation, le poids des cæca pyloriques, l'indice d'embonpoint, le taux de croissance, l'indice lipidique et l'activité des enzymes. Une expérience en laboratoire où le régime alimentaire de la perchaude est manipulé est le véhicule idéal pour examiner les liens entre ces divers paramètres. Ceci nous permettra de définir avec une plus grande certitude les liens entre l'indice d'embonpoint et les autres paramètres ainsi que la direction (positive ou négative) de ces relations.

Hypothèse 1 : Avec une augmentation de la ration l'activité enzymatique et les mesures biométriques augmenteront.

Certaines des perchaudes maintenues en laboratoire recevront une ration alimentaire suffisante pour fournir un apport d'énergie qui dépasse leurs besoins quotidiens. Avec cette grande quantité de nourriture, l'indice d'embonpoint, le taux de croissance et le poids des lipides viscéraux augmenteront. Les recherches démontrent aussi qu'avec une augmentation de la ration, le poids des cæca pyloriques augmente (Bélangier et al., 2002; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005). Le même raisonnement s'applique pour l'activité des enzymes dosés. L'augmentation du taux de croissance causera une augmentation de l'activité des enzymes musculaires liés à l'anabolisme. Dans cette étude, la NDPK est choisie comme indicatrice de l'activité anabolique. Une augmentation du taux de croissance implique une augmentation de l'accumulation des protéines, ce qui impliquerait une augmentation de l'activité de la NDPK (Kaufman et al., 2006).

L'énergie pour la croissance est dérivée exclusivement de voies aérobies, donc l'activité des enzymes reliés à cette production d'énergie (PK, CS et CCO) augmentera avec une augmentation de la consommation, un résultat observé chez d'autres espèces (Mathers et al., 1992; Shimero et al., 1997; Couture et al., 1998; Lemieux et al., 2003). Une augmentation de la consommation impliquerait aussi une augmentation de l'activité de la LDH. Puisque chaque perchaude est en concurrence avec les autres, une augmentation de la capacité anaérobie augmenterait leur potentiel de capturer la nourriture, ce qui entraînerait une augmentation de la LDH (Méndez et Weiser, 1993; Rennie et al., 2005). De plus, certains ont postulé que la LDH constituerait une réserve protéique chez les poissons (Houlihan et al., 1988) et une augmentation de la consommation, au delà des besoins quotidiens, entraînerait aussi une augmentation des réserves protéiques.

Hypothèse 2 : Une ration de soutien n'entraînera pas une baisse de l'indice d'embonpoint ou de l'activité des enzymes.

Parmi les perchaudes de laboratoire, un groupe sera maintenu sur une ration de soutien, suffisante pour répondre aux besoins métaboliques de base. Un deuxième groupe qui aura été nourri avec une ration maximale sera ensuite mis sur une ration de soutien. Puisque le coût pour maintenir les protéines ne représente pas une grande partie du budget énergétique global (entre 11 % et 24 % chez autres espèces (Houlihan et al., 1988; Carter et al., 1993)), l'apport d'énergie fourni par une ration de soutien devrait permettre aux perchaudes de maintenir leurs activités enzymatiques et de ne pas subir une baisse de l'indice d'embonpoint.

2.2 Objectif 2 : Perchaudes sauvages de lacs de références

En utilisant les expériences de laboratoire, où la ration alimentaire a été manipulée, comme cadre de référence, les relations entre les paramètres physiologiques et les activités enzymatiques seront examinées chez des perchaudes sauvages. Certains des mêmes paramètres physiologiques (indice d'embonpoint, poids des cæca pyloriques et poids des lipides viscéraux) et enzymatiques (CCO, CS, G6PDH, LDH, NDPK et PK; muscle blanc et cæca pyloriques) seront examinés chez les perchaudes sauvages et les mêmes approches statistiques seront utilisées pour examiner les relations entre ces paramètres. Seules des perchaudes provenant de lacs de référence seront utilisées pour cet objectif. En n'utilisant que des perchaudes provenant de lacs de référence nous évitons l'impact potentiel des métaux sur la physiologie et le métabolisme des perchaudes sur les relations entre les paramètres examinés.

Hypothèse 3 : Les relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques des perchaudes sauvages des lacs de références seront similaires à celles observées en laboratoire.

Les études préliminaires (voir résultats) et des études antécédentes dans la région de Rouyn-Noranda (Levesque et al., 2003; Giguere et al., 2005; Kraemer et al., 2006) et de Sudbury (Rajotte et Couture, 2002; Couture et Kumar, 2003; Audet et Couture, 2003) ont démontré que les perchaudes des lacs de référence dans ces régions ont une gamme d'indices d'embonpoint similaire à celle observée en laboratoire, mais décalée vers des valeurs plus faibles. Tenant compte des valeurs qui se chevauchent et en extrapolant les relations déterminées en laboratoire (puisque les valeurs des perchaudes sauvages sont souvent plus basses que celles des perchaudes de laboratoire, même si la gamme de valeur est similaire), les perchaudes sauvages des lacs de

référence devraient donc avoir des relations entre les enzymes et les paramètres biométriques similaires à celles des perchaudes de laboratoire.

2.3 Objectif 3 : Perchaudes de lacs contaminés

En utilisant encore une fois l'expérience de laboratoire comme cadre de référence et avec les connaissances acquises des perchaudes des lacs de référence, les relations entre les divers indicateurs physiologiques et les enzymes ont enfin été examinées chez les perchaudes vivant dans des lacs contaminés. Les mêmes paramètres biométriques et enzymes étudiés chez les perchaudes des lacs de références seront examinés et les mêmes méthodes statistiques y seront appliquées.

Hypothèse 4 : Les coûts bioénergétiques imposés par la vie en milieu contaminé feront en sorte que les relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques seront moins fortes qu'au laboratoire et dans les lacs de références.

Les perchaudes qui vivent en milieu contaminé subissent des coûts bioénergétiques supplémentaires. Ceci est reflété par l'indice d'embonpoint systématiquement moindre et par l'observation qu'elles sont moins capables de convertir la nourriture en masse corporelle (Sherwood et al., 2000) et d'accumuler des réserves énergétiques (Levesque et al., 2002). Ces coûts bioénergétiques pourraient être causés par des dommages au niveau cellulaire (Kraemer et al., 2006), une moindre efficacité de conversion de la nourriture (Sherwood et al., 2002a) et/ou par des dommages au niveau enzymatique (Couture et Pyle, 2008). Peu importe la cause de ces coûts bioénergétiques, ils auront pour effet de réduire la force des relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques (déterminé par le coefficient de régression).

2.4 Objectif 4 : Différences interannuelles

Des récoltes de perchaudes sur le terrain ont été faites sur une période de trois années consécutives dans la région de Rouyn-Noranda (2004-6) et de deux années consécutives à Sudbury (2004-5) dans le cadre de ce doctorat. À ces études, des données récoltées en 2002 à Sudbury et en 2003 à Rouyn-Noranda ont été ajoutées (groupe de recherche MITE-RN, Projet C5). Ces études ont été faites sous la supervision des Drs Patrice Couture et Greg G. Pyle et j'ai participé à la récolte des perchaudes, à l'analyse des données et comme co-auteur sur les articles qui ont découlé de ces études. Avoir une indication de l'amplitude des fluctuations interannuelles des paramètres biométriques dans un lac donné est essentiel dans le cadre d'un programme de suivi de la réhabilitation d'une région contaminée, et les données disponibles nous permettent d'examiner cette question.

Hypothèse 5 : Il y aura d'importantes variations interannuelles pour les paramètres biométriques des perchaudes sauvages.

Les variations interannuelles de température, de précipitation et d'ensoleillement changent les conditions biotiques et abiotiques dans les plans d'eau des régions étudiées. Bien qu'ils n'aient pas examiné explicitement les variations interannuelles, Couture et Rajotte (2003) ont fait un suivi des concentrations de métaux hépatiques des perchaudes de la région de Sudbury sur plusieurs années. Un examen de leurs données démontre des différences interannuelles importantes allant de 135 % à 250 % pour le Cd et de 130 % à 570 % pour le Cu. De telles variations sont donc anticipées dans les concentrations des métaux tissulaires chez les perchaudes échantillonnées durant cette étude. Ces importantes variations interannuelles dans la contamination des perchaudes seront reliées à des changements des paramètres biométriques et physiologiques chez les perchaudes sauvages.

3 Matériel et méthodes

3.1 Partie 1 : Expérience de laboratoire

Ce qui suit n'est qu'une brève description des méthodes expérimentales utilisées durant cette portion du doctorat. Des explications plus détaillées des méthodes et calculs utilisés peuvent être trouvés dans l'Article 1, Partie II.

3.1.1 Poissons et méthodologie

Des perchaudes âgées d'environ 6 mois ont été achetées d'un aquaculteur (Kinmount Fish Farms, Kinmount, ON) et transportées au Parc Aquarium du Québec (Québec, QC). Elles ont été acclimatées pour deux mois à la source d'eau (Fleuve St Laurent traité) et pour deux semaines supplémentaires aux conditions expérimentales (aquariums de 38 L). Durant la phase d'acclimatation elles ont été nourries (2 % de masse corporelle/jour) avec des artémies congelées (2 mois) ou avec la même moulée commerciale qu'elles avaient reçue à Kinmount (2 semaines). A la fin de la période d'acclimatation, des perchaudes ont été prélevées pour déterminer une condition de référence pour les paramètres physiologiques et enzymatiques. Au début et à la fin de la période d'acclimatation, ainsi qu'à toutes les deux semaines durant la période expérimentale, les perchaudes ont été pesées ($\pm 0,01$ g) et leur longueur standard déterminée (± 1 mm).

Pour la période expérimentale, les perchaudes ont été séparées en quatre groupes, chacun recevant une ration alimentaire différente. Le premier traitement, désigné traitement de soutien (S), était un apport alimentaire représentant un taux quotidien de 0,5 % (basé sur la masse corporelle, poids frais) de nourriture pendant 12 semaines. Ce traitement représentait une quantité de nourriture suffisante pour maintenir un taux de croissance faiblement positif. Le

second traitement, le régime maximal (M), représentait un taux quotidien de 3 % pendant 12 semaines. La ration à 3% était sur le seuil de la satiété; la nourriture avait le temps d'atteindre le fond de l'aquarium avant que les perchaudes ne la consomment. Les deux autres traitements étaient une alternance entre ces deux premiers. Le traitement MS était une ration à 3 % pendant les premières 6 semaines et une ration à 0,5 % pendant les 6 dernières. Le traitement SM était l'inverse; les 6 premières semaines à 0,5 % et 3 % pendant les 6 dernières. Ces rations ont été choisies pour donner une grande gamme de taux de croissance et d'indices d'embonpoint ainsi que des perchaudes qui avaient récemment subi un changement de régime alimentaire pour atteindre des conditions intermédiaires.

À la fin des 12 semaines, les perchaudes ont été euthanasiées, pesées et leur longueur standard déterminée. Chaque perchaude a été disséquée et plusieurs tissus prélevés. Un échantillon de muscle blanc dorsal et les cæca pyloriques ont été prélevés pour des analyses enzymatiques, congelés dans de l'azote liquide et entreposés à -80 °C. Le tractus intestinal a été enlevé, congelé (à -20 °C) et ensuite les lipides viscéraux séparés et pesés ($\pm 0,1$ mg) pour la détermination de l'indice lipidique.

3.1.2 Calculs biométriques

Puisque les poissons n'ont pas été marqués individuellement, tous les indices biométriques utilisés dans les analyses statistiques examinant le suivi durant l'expérience ont été faits avec des moyennes pour toutes les perchaudes dans un aquarium. L'indice d'embonpoint a été calculé en utilisant la formule de Fulton ($((\text{poids} \times 100) / \text{longueur}^3)$). Prenez en note qu'un certain biais résulte de l'utilisation de la longueur standard (*vs.* la longueur totale) qui aura tendance à augmenter l'indice d'embonpoint calculé. L'indice lipidique a été calculé selon la formule : $(\text{poids lipides viscéraux} / \text{poids du poisson}) \times 100$. Le taux de croissance spécifique

(TCS; % de poids accumulé par jour), a été calculé selon l'équation : $(\ln(\text{poids initial} / \text{poids final}) / \# \text{ jours}) \times 100$.

Une correction allométrique a été utilisée pour corriger le poids des cæca pyloriques. L'équation utilisée pour cette correction est : $((\text{poids total} / \text{poids moyen})^{\text{pente}}) \times \text{poids des cæca pyloriques}$. Le « poids moyen » est la moyenne pour toutes les perchaudes (10,75 g dans ce cas) et « pente » est la pente de la relation logarithmique entre le poids des perchaudes et le poids des cæca pyloriques (1,052 dans notre exemple). Le poids a été corrigé pour chaque perchaude et les analyses statistiques ont été faites en utilisant le poids corrigé.

3.1.3 Analyses enzymatiques

Tous les produits chimiques ont été achetés chez Sigma-Aldrich Canada sauf la thymidine diphosphate (TDP) qui a été achetée de Plenum Scientific Research Inc. Les tissus ont été homogénéisés pour trois durées de 20 secondes utilisant un Ultra Turrax T25 et étaient maintenus sur glace en tout temps. L'activité des enzymes a été mesurée utilisant un spectrophotomètre Cary 100 Bio de Varian avec un bloc multi cellule 6x6 maintenu à une température de 20 °C. Les réactions ont été mesurées pour une période de 5 minutes et une portion linéaire d'au moins 3 minutes a été utilisée pour calculer la vitesse de réaction. Les détails pour les conditions d'homogénéisation et de réaction peuvent être trouvés dans l'article 1, Partie II.

3.2 Partie 2 : Études de terrain

3.2.1 Choix des lacs

Les deux régions ont une longue histoire d'études scientifiques examinant la concentration des métaux dans l'eau, les sédiments et divers organismes à plusieurs niveaux

trophiques. Ces études (voir l'Introduction) ainsi que l'expérience personnelle des chercheurs impliqués ont été utilisées pour choisir les lacs. Le nom des lacs échantillonnés, leur classement (référence, intermédiaire ou contaminé), la distance de la fonderie (Horne à Rouyn-Noranda, Copper Cliff à Sudbury) et les dates d'échantillonnages sont indiquées au tableau 1. Afin de faciliter les comparaisons saisonnières, les échantillonnages de 2002, 2003 et 2006 ont été classés dans des "saisons". Les échantillonnages de printemps se sont déroulés entre la fin mai et la mi-juin tandis que les échantillonnages d'été se sont déroulés entre la fin juillet et le début de septembre.

Tableau 1 : Description des lacs échantillonnés dans cette étude. Pour chacun la région, longitude, latitude, classe de contamination (Cont.), distance de la fonderie (Fond.) et les dates d'échantillonnages au printemps (Ptmp) et en été. Les abréviations pour les mois sont : Jn=Juin, Jl=Juillet, Ao=Août et Sp=Septembre.

Région	Lac	Longitude	Latitude	Cont.	Fond.	2002		2003		2004	2005	2006	
						Ptmp	Été	Ptmp	Été	Été	Été	Ptmp	Été
Rouyn-Noranda	Dasserat	48° 13' 29" N	79° 24' 04" W	Réf	26					4/5 Ao	22 Jl	17 Jn	21 Ao
	Opasatica	48° 04' 37" N	79° 17' 41" W	Réf	26			10/11 Jn	16-20 Ao	31 Jl/1 Ao	22 Jl	15 Jn	18 Ao
	Bousquet	48° 12' 59" N	78° 38' 52" W	Int	25			17/18 Jn	8/21 Ao	27-29 Jl	20 Jl	14 Jn	17 Ao
	Osisko	48° 14' 35" N	79° 00' 24" W	Cont	1			27/28 Mai	13-15 Ao	30 Jl	23 Jl	16 Jn	20 Ao
	Dufault	48° 18' 20" N	78° 59' 54" W	Cont	4			29 Mai-3 Jn	9-11 Ao	2-3 Ao	21 Jl	13 Jn	19 Ao
Sudbury	Barlow	46° 17' 39" N	80° 34' 33" W	Réf	38					14 Ao			
	James	46° 17' 16" N	78° 59' 47" W	Réf	150	13-19 Jn	16 Ao/5 Sp					28 Jl	
	Geneva	46° 45' 52" N	81° 32' 35" W	Réf	50	10/21 Jn	21/28 Ao			9-10 Ao			
	Nosbonsing	46° 11' 54" N	79° 12' 50" W	Réf	140							3 Ao	
	Richard	46° 26' 14" N	80° 55' 00" W	Int	12					11-12 Ao			
	Ramsey	46° 27' 05" N	80° 53' 07" W	Int	5							2 Ao	
	Hannah	46° 26' 34" N	81° 02' 24" W	Cont	4		31 Mai/17-22 Jn	17-23 Ao		15 Ao		29 Jl	
	Whitson	46° 35' 19" N	80° 58' 28" W	Cont	13		20 Mai/20-22 Jn	20-29 Ao		15 Ao		1 Ao	

3.2.2 Méthodes d'échantillonnage

Les perchaudes ont principalement été capturées avec des seines de rivage ou en pêchant à la ligne. En 2002 et 2004 des cages et des filets maillants ont aussi été utilisés. Une fois capturées, les perchaudes étaient gardées dans de l'eau aérée du lac d'origine jusqu'à l'euthanasie (entre 1 et 3 heures). Les perchaudes étaient euthanasiées par un coup à la tête, parfois suivi de la dislocation de la colonne vertébrale. Pour chaque perchaude, le poids ($\pm 0,01$ g) et la longueur (± 1 mm) étaient ensuite déterminés avant la dissection. Les organes destinés à l'analyse enzymatique (muscle blanc et cæca pyloriques) étaient congelés dans l'azote liquide et entreposés à -80 °C. Les autres tissus ont été congelés et entreposés à -20 °C. Les mêmes méthodes d'analyses enzymatiques que dans l'expérience de laboratoire ont été utilisées pour la détermination des activités enzymatiques des perchaudes récoltées sur le terrain.

3.2.3 Calculs biométriques

Étant donné la grande gamme de tailles (0,5 g à 375 g) des perchaudes échantillonnées, l'utilisation de l'indice d'embonpoint de Fulton (FCF) n'est pas appropriée. Le coefficient d'embonpoint du FCF (3,0) ne correspond pas à la perchaude (typiquement de 3,23) et sur une gamme de tailles aussi large, pourrait causer un biais important. Nous avons donc opté pour l'utilisation du Kn. Le Kn utilise un coefficient d'embonpoint (CE) déterminé par la pente de la relation logarithmique entre le poids et la longueur. L'ensemble des perchaudes de chaque région a été combiné afin de déterminer le CE. Pour les perchaudes de Rouyn-Noranda le CE était de 3,13 tandis que pour les perchaudes de Sudbury le CE était de 3,08. Ces CE ont servi à déterminer l'indice d'embonpoint pour chaque perchaude en utilisant l'équation suivante : $(\text{poids} \times 100) / \text{longueur}^{\text{CE}}$. Les mêmes équations que dans l'expérience de laboratoire ont été utilisées

pour déterminer l'indice lipidique et le poids corrigé des cæca pyloriques. Pour la détermination du poids corrigé des cæca pyloriques des poids moyens de 21,6 g et 15,3 g ont été utilisés pour Rouyn-Noranda et Sudbury respectivement, avec des coefficients allométriques de 0,851 et 0,908 respectivement.

3.2.4 Détermination des métaux

La concentration de métaux (Cd, Cu et Ni) a été déterminée dans les cæca pyloriques (2004-6), le contenu stomacal (2002-6), le foie (2002-3 et 2005-6) et les reins (2002-2004). Tous les tissus et contenus stomacaux ont été digérés en utilisant le même protocole (Pyle et al., 2005). Brièvement, les tissus secs (1 - 140 mg) ont été placés dans des fioles de Téflon et immergés dans l'acide nitrique (2-5 mL; pureté analytique ou métaux trace). Ils ont ensuite été chauffés dans un four à micro-ondes pour des périodes de 30, 20, 15 et 10 secondes avec des périodes de refroidissement d'au moins 1 minute entre chaque réchauffement. Les échantillons ont été refroidis à la température de la pièce pendant une nuit. Les tissus digérés ont ensuite été dilués à 10 % avec de l'eau ultra pure et entreposés à 4 °C jusqu'à l'analyse. Le contrôle de qualité durant la digestion a été assuré par l'inclusion d'un blanc (acide seulement) et d'un standard analytique (TORT-2, CNR Canada) pour chaque 20 échantillons.

En 2002 et 2003 le dosage des métaux a été fait par le Elliot Lake Research Field Station utilisant leurs mesures de contrôle de qualité (Pyle et al., 2005). Entre 2004 et 2006 les analyses ont été faites à l'INRS-ETE utilisant un spectromètre de masse couplé à un plasma induit (ICP-MS). Pour chaque 12 échantillons, un blanc et un standard d'analyse ont aussi été mesurés. Dans tous les cas, les valeurs des blancs étaient sous la limite de détection et les standards internes étaient à moins de 10 % de la valeur anticipée. Par contre, la récupération des métaux dans les standards de digestion pour les contenus stomacaux en 2005 et 2006 et les foies en 2006 n'était

pas complète. Les valeurs mesurées étaient aussi basses que 75 % des valeurs anticipées. Des facteurs de correction appropriés ont donc été appliqués à ces analyses pour les rendre représentatives des vraies valeurs.

3.2.5 Analyses Statistiques

Les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel JMP 5,0 (SAS Institute). Les données ont été examinées pour la normalité de la distribution et, quand elles ne l'étaient pas, une transformation logarithmique a été appliquée. Au besoin, des analyses non paramétriques ont été utilisées pour confirmer les résultats quand les données ne respectaient pas la normalité ou l'homogénéité des variances. Des analyses de variance (ANOVA) ont été utilisées pour identifier les différences entre les moyennes, une ANOVA avec un test Tukey a été utilisée dans les cas de comparaison entre des moyennes multiples. Des tests non paramétriques Wilcoxon ont été utilisés pour confirmer les résultats d'ANOVA en cas de non respect des conditions statistiques (normalité, homoscedasticité). Les relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques ont été examinées en utilisant des "analyses de régressions par degrés" (Stepwise multiple regression). Cette méthode consiste à rajouter des prédicteurs (ici, les activités enzymatiques) un à la fois jusqu'à ce qu'un seuil de confiance minimal soit atteint. Un seuil de confiance initial de 0,05 a été utilisé et une correction de Holm-Bonferroni a été utilisée pour déterminer si un prédicteur serait inclus dans la régression. Une fois les prédicteurs choisis, une régression multiple a été utilisée pour les combiner et produire un modèle qui inclut tous les prédicteurs enzymatiques du paramètre biométrique en question. Des données non-transformées ont été utilisées pour toutes les régressions multiples.

4 Résultats

4.1 Partie 1: Expériences de laboratoire

4.1.1 Effets du régime alimentaire sur les paramètres biométriques

À titre de rappel, les désignations pour les rations alimentaires sont : M= Maximal (3% du poids frais en nourriture pour 12 semaines); S (0,5% pour 12 semaines); SM (6 semaines à S suivi de 6 semaines à M) et MS (6 semaines à M suivi de 6 semaines à S). Le poids final des

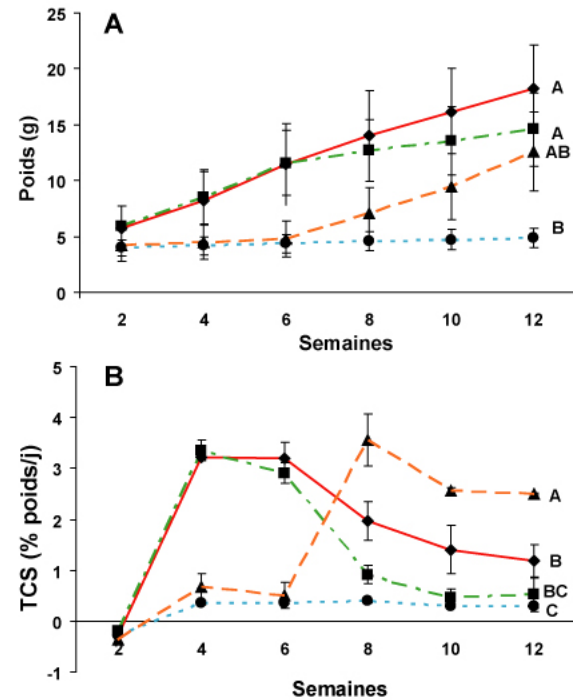


Figure 2 : Évolution du poids (A) et du taux de croissance spécifique (TCS; B) des perchaudes. Ligne solide rouge : M; Ligne pointillée/brisée verte: MS; Ligne brisée orange: SM; Ligne pointillée bleu: S. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les poids ou les TCS pour les deux dernières semaines de l'expérience.

perchaudes (figure 2A) sur les rations M et MS était plus élevé que chez les perchaudes sur la ration S tandis le poids final des perchaudes sur la ration SM n'était pas statistiquement différent des autres traitements. Sauf pour les premières deux semaines, le taux de croissance spécifique (TCS; figure 2B) des perchaudes a été positif pour la durée de la période expérimentale. Le TCS réagissait rapidement à une augmentation de la ration alimentaire (semaine 2 pour M et MS, semaine 8 pour SM) mais après 2 à 4 semaines sur le régime à 3 % il a diminué progressivement. Le TCS diminuait aussi très rapidement suite à une baisse de la ration alimentaire (semaines 8 à 12 pour MS) et à la fin de la période expérimentale, les TCS des perchaudes sur les rations S et MS n'étaient pas différents. Le TCS le plus élevé était chez les perchaudes du traitement SM, suivi de celui du traitement M qui n'était pas différent du TCS des perchaudes sur le régime MS.

De façon similaire au TCS, l'indice d'embonpoint (figure 3) a augmenté rapidement avec une augmentation de la ration alimentaire. Les perchaudes sur les rations M et MS ont atteint un plateau à la semaine 6. Croissant encore plus rapidement, les perchaudes sur la ration SM semblaient avoir atteint ce plateau en

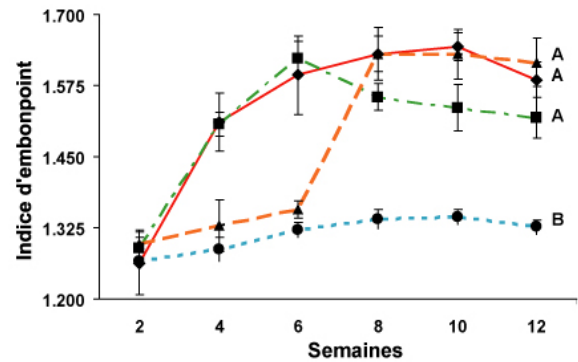


Figure 3 : Évolution de l'indice d'embonpoint des perchaudes. Même légende que la figure 2.

aussi peu que 2 semaines après le changement à une ration de 3 % (voir semaine 8). Bien qu'il semble y avoir une diminution de l'indice d'embonpoint durant les 6 dernières semaines pour les perchaudes sur la ration MS, leur indice d'embonpoint n'était pas statistiquement différent de l'indice d'embonpoint des perchaudes sur les rations M et SM. Les perchaudes sur la ration S avaient un indice d'embonpoint significativement plus bas que les autres perchaudes.

Le poids corrigé des cæca pyloriques (figure 4) a aussi réagi à une augmentation du régime alimentaire. Toutes les perchaudes qui ont reçu la ration à 3 % pour au moins 6 semaines (M, MS et SM) avaient des cæca pyloriques significativement plus lourds que les perchaudes qui étaient sur la ration S. Les perchaudes qui ont reçu le régime à 3 % pour seulement 6 semaines (SM et MS) avaient des cæca pyloriques 7-8x

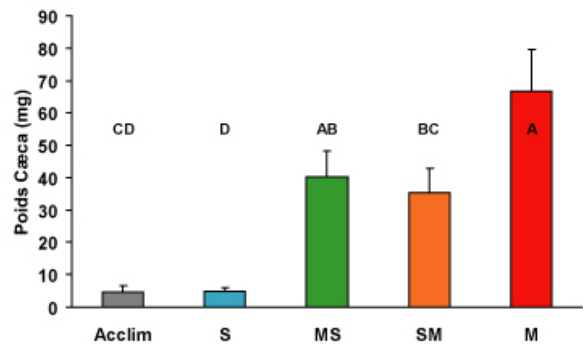


Figure 4 : Poids corrigé final des cæca pyloriques. Les valeurs sont des moyennes + erreur standard. Des lettres différentes indiquent des différences significatives.

plus lourds que celles sur la ration S, mais pas différent l'un de l'autre. Ceci est une indication qu'un retour à une ration de soutien (0,5 %) n'entraîne pas une réduction rapide du poids des cæca pyloriques. Mais les perchaudes sur la ration M avaient des cæca pyloriques 13x plus

lourds que ceux sur la ration S et 88 % plus lourds que ceux sur la ration SM. Ceci suggère qu'un plateau n'a pas été atteint pour le poids des cæca pyloriques après 6 semaines et que les cæca pyloriques continueraient possiblement à prendre du poids après 12 semaines sur la ration M.

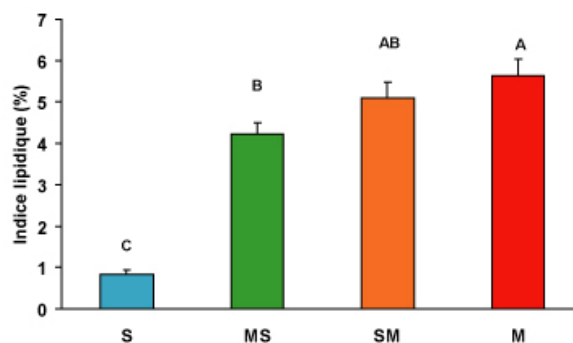


Figure 3 : Indice lipidique final. Les valeurs sont des moyennes + erreur standard. Des lettres différentes indiquent des différences significatives dans le poids des cæca pyloriques.

Toutes les perchaudes qui ont reçu une ration alimentaire à 3 % ont accumulé significativement plus de lipides viscéraux que les perchaudes sur la ration S (figure 5). L'indice lipidique semble aussi atteindre un plateau puisque les perchaudes sur les rations SM et M ont des indices similaires d'environ 5 %. Les perchaudes du traitement MS avaient un indice lipidique statistiquement plus bas que celles sur la ration M.

4.1.2 Relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques

Les activités enzymatiques moyennes pour chaque traitement sont présentées à l'Annexe 1. Le résultat des régressions multiples entre les divers paramètres biométriques et les activités enzymatiques est présenté au tableau 2. Deux mesures d'activités enzymatiques ont été examinées. L'activité spécifique est exprimée en fonction du poids (activité / gramme de tissu) tandis que l'activité protéique est exprimée par rapport à la quantité de protéines dans l'homogénat (activité / mg protéine).

La CS et la LDH musculaire étaient positivement corrélées avec l'indice d'embonpoint et expliquaient 85,9 % de la variabilité. Dans les cæca pyloriques, l'activité protéique de la G6PDH était la seule activité enzymatique corrélée, positivement, avec l'indice d'embonpoint et elle expliquait 71,6 % de la variabilité. L'activité spécifique de la CS musculaire était aussi corrélée

positivement avec le TCS et expliquait près de 90 % de la variabilité. Du côté des activités protéiques, la NDPK des cæca pyloriques était la seule à être corrélée avec le TCS et la relation positive expliquait 55,5 % de la variabilité. La NDPK dans les cæca pyloriques était négativement corrélée avec le poids des cæca pyloriques tandis que la G6PDH dans les cæca pyloriques était positivement corrélée. Les activités spécifiques de ces deux enzymes, avec la concentration en protéines, expliquaient 84,3 % de la variabilité du poids des cæca pyloriques tandis que leurs activités protéiques en expliquaient 77,1 %.

La LDH musculaire et de la G6PDH des cæca pyloriques étaient positivement associées avec l'indice lipidique et leurs activités spécifique et protéique expliquaient 93,6 % et 85,3 % de la variabilité respectivement.

Tableau 2 : Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel (Cor Par) et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés.

Paramètre	Activité spécifique				Activité protéique			
	Enzyme	Estimé	Cor Par	p	Enzyme	Estimé	Cor Par	p
FCF final	$r^2=0.859$				$r^2=0.716$			
	Ordonnée	-0.376		0.0002	Ordonnée	0.5060		<0.0001
	Muscle CS	0.128	0.3370	0.0252	Cæca G6PDH	0.1650	0.716	<0.0001
	Muscle LDH	0.213	0.5220	<0.0001				
TCS Semaines 11-12	$r^2=0.899$				$r^2=0.555$			
	Ordonnée	-1.047		<0.0001	Ordonnée	2.5620		
	Muscle CS	4.437	0.859	<0.0001	Cæca NDPK	2.2750	0.555	0.0014
Poids cæca corrigé	$r^2=0.843$				$r^2=0.771$			
	Ordonnée	-7.832			Ordonnée	2.1870		
	Muscle Protéine	4.262	0.6090	0.0135	Cæca NDPK	-2.7430	0.1540	0.0111
	Cæca NDPK	-3.811	0.1245	0.0021	Cæca G6PDH	3.5710	0.6170	0.0001
	Cæca G6PDH	3.596	0.2340	<0.0001				
Indice lipidique	$r^2=0.936$				$r^2=0.853$			
	Ordonnée	-4.786			Ordonnée	3.9280		<0.0001
	Muscle LDH	2.078	0.9386	<0.0001	Cæca G6PDH	1.7290	0.853	<0.0001

4.2 Partie 2 : Études sur le terrain

Cette partie de la Synthèse présentera les résultats des échantillonnages faits dans le cadre de ce doctorat (2004-2006) ainsi qu'une réanalyse de certains des résultats récoltés en 2002 et 2003 dans le cadre des recherches du MITE-RN.

4.2.1 Concentrations des métaux dans les tissus et contenus stomacaux des perchaudes

Bien que des résultats pour les métaux dans les cæca pyloriques, contenus stomacaux, foies et reins sont disponibles, seuls les résultats pour les cæca pyloriques et les contenus stomacaux seront présentés. Ils ont été choisis en se basant sur la représentativité, l'importance, l'originalité et la pertinence comparativement aux autres résultats. Les résultats et figures pour le foie et les reins sont présentés à l'Annexe B. Les lacs sont organisés en suivant le gradient de contamination (concentrations de Cd, Cu et Ni, croissante vers la droite, déterminées en utilisant des données historiques pour l'eau et les sédiments) sur toutes les figures et pour chaque lac les concentrations sont présentées chronologiquement. Ces informations sont présentées à nouveau en Annexe C sous forme de tableau avec le gradient spatial mis en évidence pour chaque année.

4.2.1.1 Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux : Rouyn-Noranda

Le gradient spatial pour les contenus stomacaux des perchaudes suit les classes de contamination pour le Cd et le Cu, mais pas pour le Ni (figure 6). Les concentrations de Cd les plus élevées ont été mesurées dans les perchaudes du lac Dufault tandis que les concentrations maximales en Cu étaient notées chez les perchaudes du lac Osisko. Les concentrations de Ni dans les contenus stomacaux n'ont pas présenté de gradient et étaient représentatives des concentrations des contenus stomacaux des perchaudes des lacs de référence de Sudbury.

En examinant les différences interannuelles pour chaque lac, l'observation a été faite que la concentration des métaux dans les perchaudes pour les années 2003 et 2004 était généralement plus élevée qu'en 2005 et 2006. Cette tendance était particulièrement évidente pour le Cd des perchaudes provenant des lacs Opasatica, Bousquet et Osisko. Pour tous les lacs et tous les métaux, les concentrations dans les contenus stomacaux étaient très basses pour l'année 2006.

Deux différentes tendances ont été observées en examinant les différences saisonnières. Dans les lacs de référence et dans le lac intermédiaire, les concentrations de Cd dans les contenus stomacaux diminuaient en été. Une tendance similaire a été observée pour le Cu, qui était d'ailleurs significative pour les perchaudes du lac Bousquet en 2003. Dans les lacs contaminés en 2006 une tendance opposée a été observée pour le Cu; les concentrations dans les contenus stomacaux augmentaient entre le printemps et l'été.

4.2.1.2 Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux : Sudbury

Le gradient spatial pour les métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes était évident pour tous les métaux à chaque année (figure 7). Les concentrations étaient systématiquement plus hautes chez les perchaudes du lac Hannah, suivi du lac Whitson. Les concentrations de métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes provenant de lacs intermédiaires étaient souvent statistiquement semblables à celles des perchaudes des lacs de référence.

D'un lac à l'autre, la même tendance interannuelle était souvent présente. Les concentrations en 2004 étaient souvent plus élevées, particulièrement pour le Cd et le Ni dans les contenus stomacaux des perchaudes du lac Hannah. La concentration de tous les métaux avait aussi tendance à être plus basse en 2005, particulièrement pour le Cu et le Ni dans le lac Whitson.

À Sudbury, l'échantillonnage sur deux saisons n'a été fait qu'en 2002. Une augmentation de la concentration du Ni entre le printemps et l'été dans les contenus stomacaux des perchaudes du lac Whitson a été remarquée. Une augmentation du Cd et une baisse du Cu pendant l'été dans le lac James étaient aussi évidentes, mais les concentrations de Cd restaient largement inférieures à celles des perchaudes des lacs contaminés.

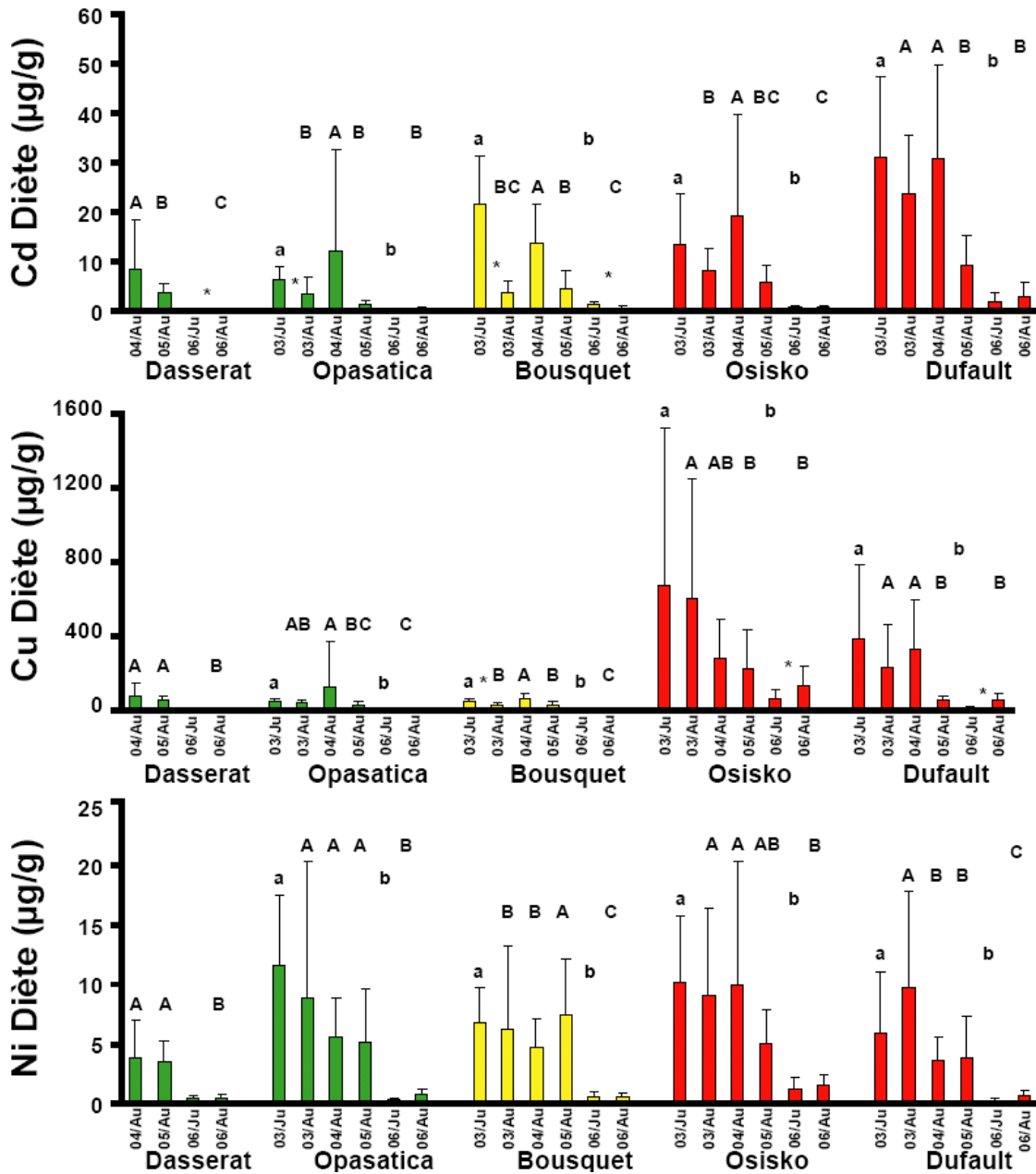


Figure 6 : Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn-Noranda. Les valeurs sont des moyennes + l'erreur type de la moyenne. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

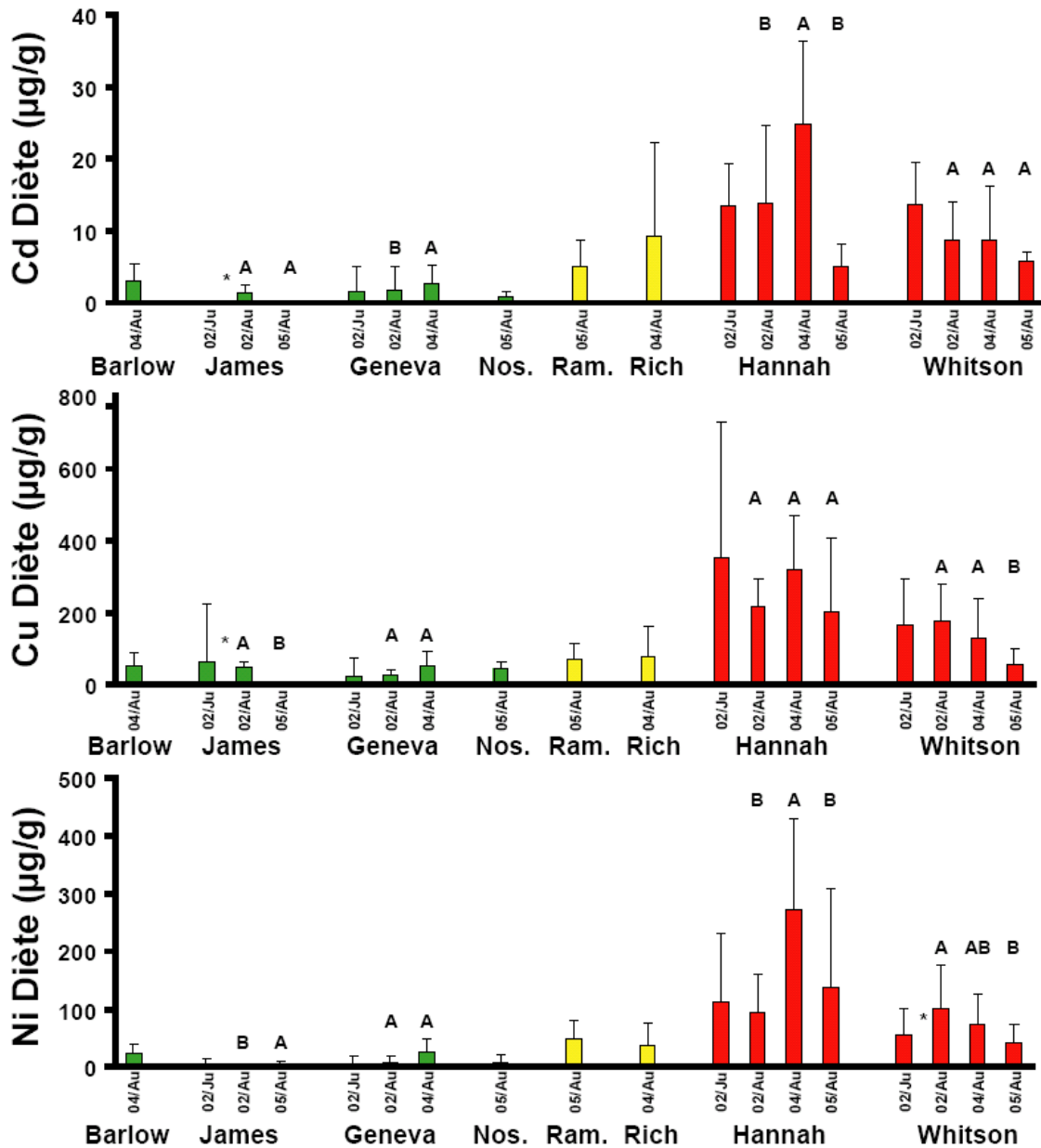


Figure 7 : Concentrations des métaux dans les contenus stomacaux des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

4.2.1.3 Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques : Rouyn-Noranda

Dans les cæca pyloriques des perchaudes, le gradient de contamination n'est évident que pour le Cd (figure 8). Les concentrations de Cd étaient particulièrement hautes dans les cæca pyloriques des perchaudes du lac Dufault tandis que celles des lacs Osisko et Bousquet étaient souvent similaires. Aucun gradient spatial n'est évident pour les concentrations de Cu ou de Ni dans les cæca pyloriques.

Aucune tendance générale n'a été observée pour les différences interannuelles. Quant aux différences saisonnières, sur les quinze comparaisons faites pour 2006, 10 différences ont été détectées. Dans 9 des cas, la concentration des métaux augmentait du printemps à l'été. L'exception était pour le Cd dans les cæca pyloriques des perchaudes du lac Bousquet, où la concentration a diminuée durant l'été.

4.2.1.4 Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques : Sudbury

Mis à part les valeurs de Cd anormalement hautes pour les cæca pyloriques des perchaudes du lac Geneva en 2004, un gradient de concentration bien défini existait pour tous les métaux avec les plus hautes concentrations encore une fois trouvées chez les perchaudes du lac Hannah, suivi de celles du lac Whitson (figure 9).

Une analyse des différences interannuelles n'a été faite que pour les lacs Hannah et Whitson pour les années 2004 et 2005. Des différences ont été détectées pour le Ni dans les deux lacs ainsi que pour le Cu chez les perchaudes du lac Whitson. Dans tous ces cas, les concentrations dans les cæca pyloriques étaient plus élevées en 2004. L'échantillonnage ne permettait pas l'analyse des différences saisonnières.

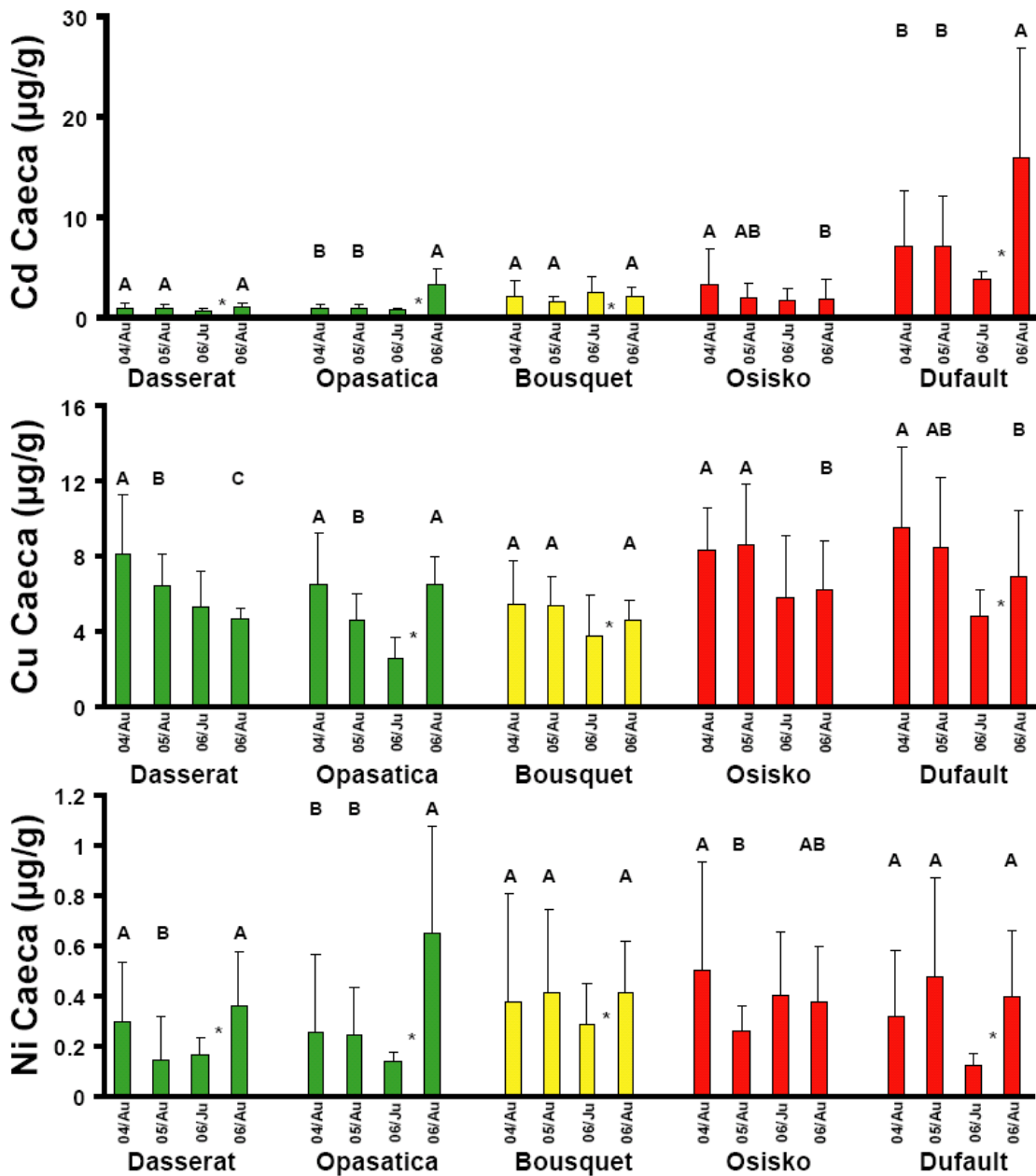


Figure 8 : Concentrations des métaux dans les cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn-Noranda. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

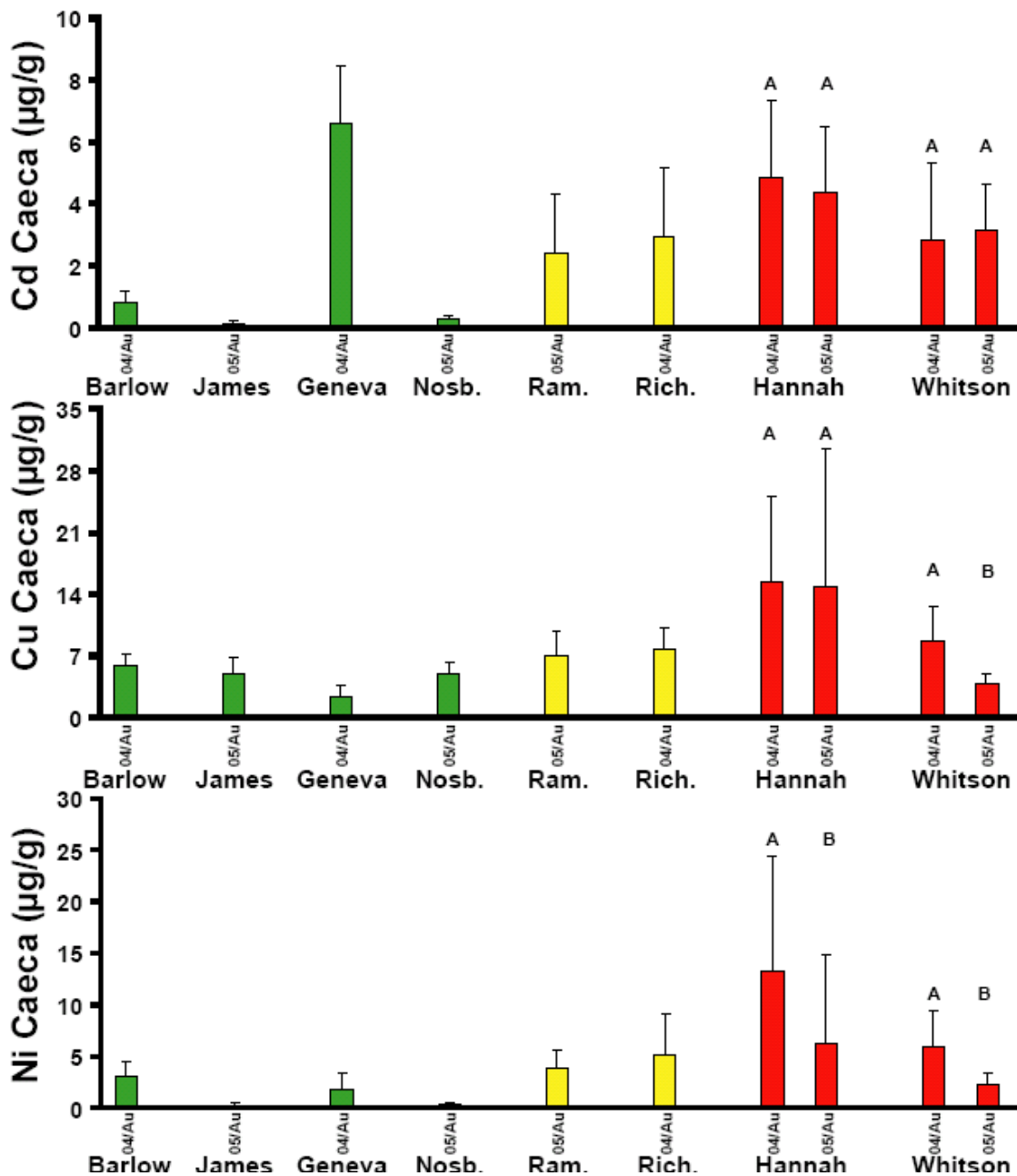


Figure 9 : Concentrations des métaux dans les caeca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

4.2.2 Paramètres biométriques des perchaudes

4.2.2.1 Indice d'embonpoint : Rouyn-Noranda

De façon générale, l'indice d'embonpoint des perchaudes diminuait avec une augmentation de la contamination dans les lacs. Certaines exceptions existaient pour le lac Opasatica où les perchaudes avaient parfois des indices d'embonpoint inférieurs à celles du lac Bousquet (figure 10).

D'un lac à l'autre, les tendances interannuelles pour l'indice d'embonpoint étaient très semblables (figure 10). Pour tous les lacs, l'indice d'embonpoint estival des perchaudes en 2004 était le plus élevé, suivi de celui de 2003. Les indices d'embonpoint pour 2005 et 2006 étaient encore plus bas, mais semblables l'un à l'autre, sauf pour les perchaudes des lacs Dasserat et Bousquet où l'indice d'embonpoint des perchaudes récoltées en 2006 était significativement plus bas qu'en 2005. Pour les indices d'embonpoint mesurés au printemps, la même tendance était évidente; les indices d'embonpoint en 2003 étaient plus élevés qu'en 2006, sauf dans le lac Dufault où il n'y avait pas de différence.

Sur les neuf possibilités, huit cas de différences saisonnières ont été identifiés pour l'indice d'embonpoint. Ceci dit, aucune tendance n'est apparente avec 4 cas d'augmentation et 4 cas de diminution en été, ces changements n'étant pas spécifiques à un lac ou à une année.

4.2.2.2 Indice d'embonpoint : Sudbury

A Sudbury aussi, les indices d'embonpoint diminuaient généralement avec une augmentation de la contamination. Comme pour la région de Rouyn-Noranda, il y avait des exceptions, notamment dans le lac James où les perchaudes avaient souvent des indices d'embonpoint estivaux inférieurs à ceux des lacs contaminés.

Une première tendance interannuelle était que les indices d'embonpoint en 2002 étaient plus élevés qu'en 2005 (figure 10). Les indices d'embonpoint de 2004 et 2005 étaient aussi différents pour les perchaudes des lacs contaminés, avec des valeurs plus élevées en 2004. Des différences étaient aussi présentes entre 2002 et 2004, mais il n'y avait pas de tendance générale; les perchaudes des lacs Geneva et Dufault avaient des indices d'embonpoint plus élevés en 2004, tandis que les perchaudes du lac Hannah avaient des indices d'embonpoint moindres en 2002.

Dans tous les cas possibles, des différences saisonnières ont été identifiées. Une tendance était aussi évidente avec les perchaudes provenant des lacs de référence (James et Geneva), celles-ci ayant des indices d'embonpoint légèrement plus élevés au printemps tandis que celles des lacs contaminés avaient des indices d'embonpoint plus élevés en été.

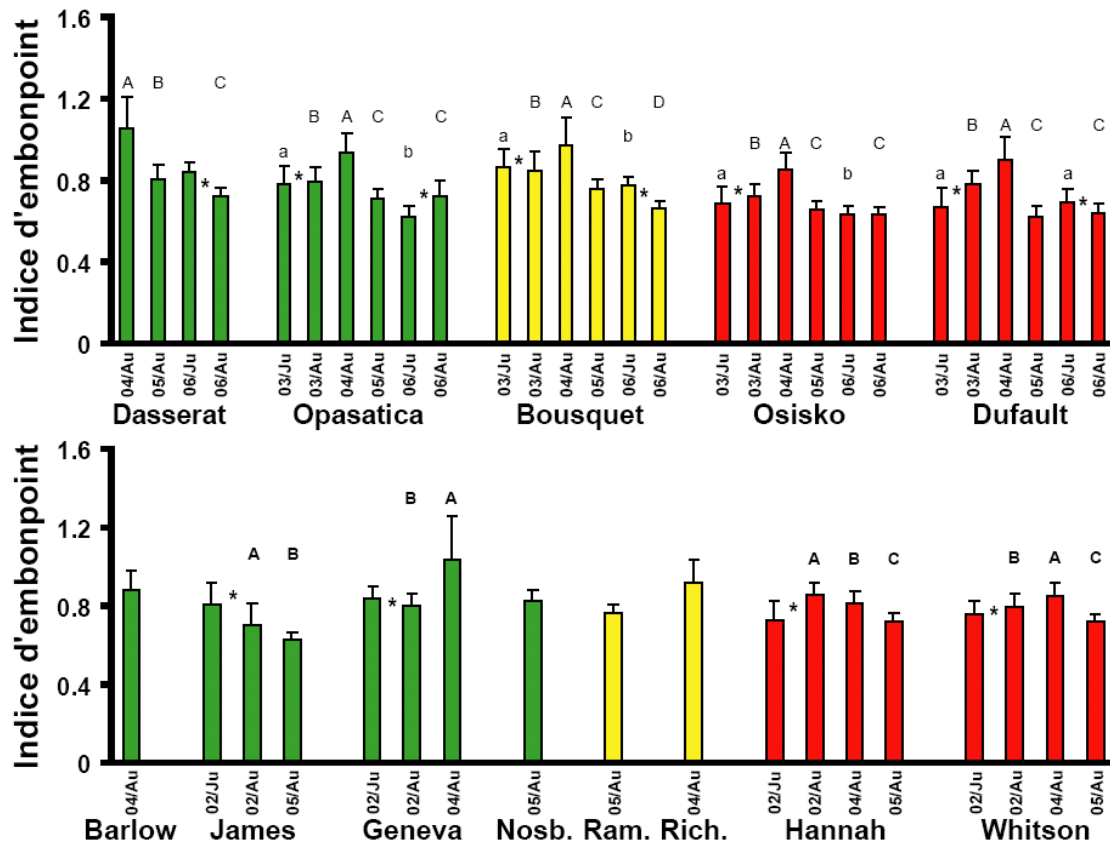


Figure 10 : Indice d'embonpoint des perchaudes échantillonnées dans les régions de Rouyn (haut) et Sudbury (bas). Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

4.2.2.3 Le poids corrigé des cæca pyloriques : Rouyn-Noranda

Il y avait une tendance à des cæca pyloriques moins lourds chez les perchaudes des lacs contaminés, mais cette tendance n'est pas évidente pour tous les échantillonnages (figure 12). A deux reprises, étés 2005 et 2006, les cæca pyloriques des perchaudes des lacs contaminés étaient statistiquement moins lourds que ceux des perchaudes des lacs de référence. Cette tendance existait aussi à l'été 2004 et au printemps 2006, mais les différences n'étaient pas significatives.

Dans les lacs de référence et dans le lac intermédiaire, le poids des cæca pyloriques était plus élevé en 2005 qu'en 2004. Le poids des cæca pyloriques en 2004 était aussi plus élevé qu'en 2006, pour les perchaudes des lacs de référence ainsi que pour celles du lac Dufault. Dans tous les cas, les poids des cæca pyloriques étaient plus lourds aux printemps qu'en été. Ces différences étaient souvent très grandes, avec une baisse moyenne du poids de 48 % entre les deux saisons.

4.2.2.4 Le poids des cæca pyloriques : Sudbury

Il y avait une tendance vers une augmentation du poids des cæca pyloriques avec une augmentation de la contamination, quoique cette tendance ne fût pas significative en 2005. Des différences interannuelles ont seulement été examinées dans les lacs Hannah et Whitson. Dans les deux cas, les cæca pyloriques étaient plus lourds en 2005 qu'en 2004 (figure 11). Aucune analyse de différences saisonnières n'était possible.

4.2.2.5 Indice lipidique : Rouyn-Noranda

L'indice lipidique a été examiné seulement en 2006 et seulement dans la région de Rouyn-Noranda. Il n'y avait aucune indication que le gradient de contamination ait eu une influence sur l'indice lipidique (figure 12). Des différences saisonnières ont été identifiées dans quatre des cinq cas possibles, mais encore une fois, aucune tendance évidente n'a été discernée.

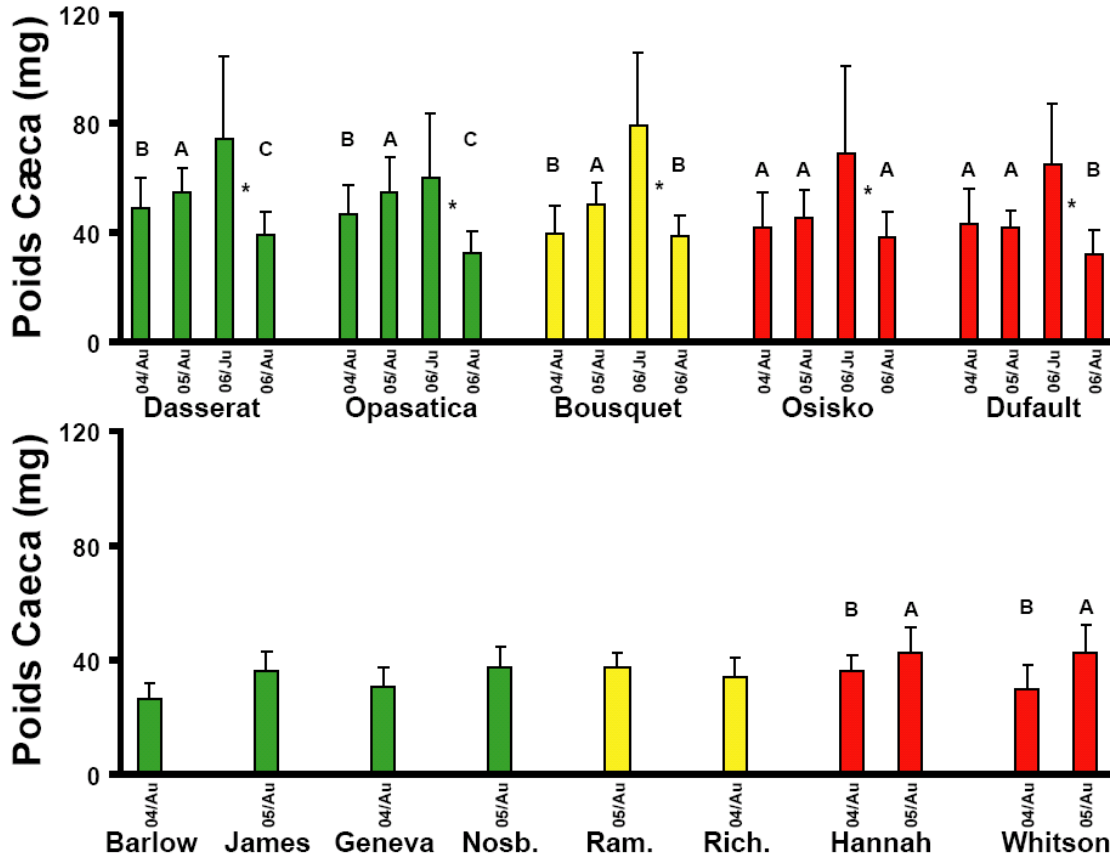


Figure 11 : Poids corrigé des cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées dans les régions de Rouyn (haut) et Sudbury (bas). Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

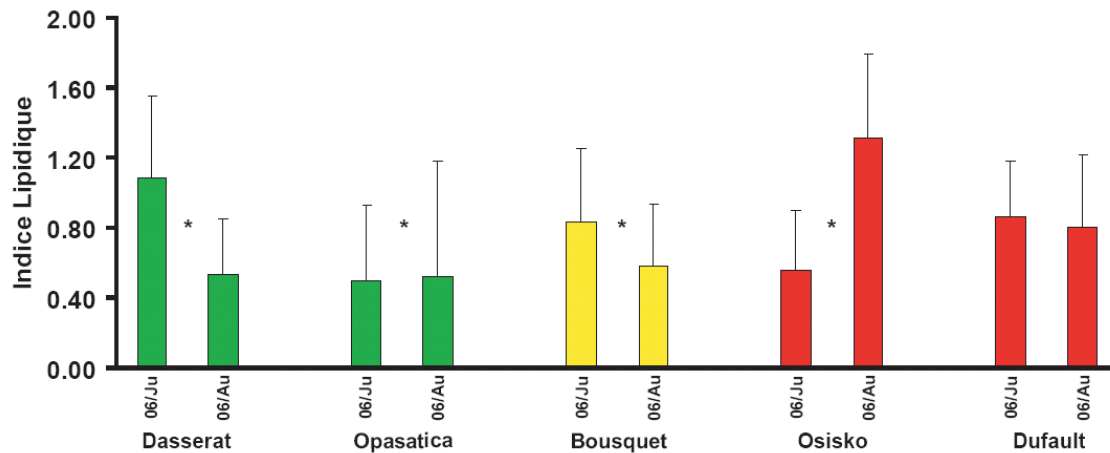


Figure 12 : Indice lipidique pour les perchaudes de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés.

4.2.3 Relations entre les activités enzymatiques des perchaudes sauvages et les paramètres biométriques.

Les activités enzymatiques de toutes les perchaudes sauvages sont présentées dans l'Annexe A. Les analyses des relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques sont faites en deux parties. La première examine seulement les perchaudes capturées dans les lacs de référence pour déterminer si les relations sont similaires à celles observées dans l'expérience de laboratoire (Objectif 2). La deuxième série d'analyses comprend seulement les perchaudes récoltées des lacs contaminés et ces résultats sont comparés aux résultats des perchaudes des lacs de référence et aux perchaudes de laboratoire (Objectif 3).

Pour ces deux analyses, les paramètres biométriques sont examinés individuellement. Pour chacun de ces paramètres, l'analyse est divisée en deux sections. Chaque section examine une des deux saisons individuellement. Toutes les régressions multiples examinant les relations enzymatiques avec les paramètres biométriques dans les lacs de référence sont présentées dans le tableau 3 tandis que les régressions multiples pour les perchaudes des lacs contaminés sont présentées dans le tableau 4.

4.2.3.1 Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Indice d'embonpoint

Au printemps les régressions multiples pour les activités spécifiques et protéiques expliquaient entre 67 % et 72 % de la variabilité. Des enzymes des voies aérobies dominaient ces régressions avec des relations négatives avec la CS dans les cæca pyloriques et les muscles. Une relation positive avec la NDPK dans les cæca pyloriques a aussi été identifiée dans la régression multiple utilisant les activités protéiques. Les relations étaient beaucoup moins fortes en été et seulement la NDPK musculaire était corrélée significativement, et positivement, avec l'indice

d'embonpoint. La relation avec la NDPK spécifique expliquait 33,8 % de la variabilité tandis que la relation protéique n'expliquait que 18,7 %.

4.2.3.2 Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Poids des cæca pyloriques

Pour les deux saisons, aucune relation significative n'a été identifiée.

4.2.3.3 Relations enzymatiques dans les lacs de référence : Indice lipidique

Une seule régression significative a été identifiée pour l'indice lipidique chez les perchaudes des lacs de référence. Cette relation avait la NDPK et la concentration de protéine musculaire comme prédicteurs de l'indice lipidique. Elle expliquait 34,5 % de la variabilité totale. Aucune relation n'a été identifiée pour les enzymes protéiques et aucune relation n'a été identifiée chez les perchaudes récoltées pendant l'été.

Tableau 3 : Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques chez les perchaudes des lacs de référence. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel (Cor Par) et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés. N= 60 par saison.

Paramètre	Activités spécifiques				Activités protéiques			
	Enzyme	Estimé	Cor Par	p	Enzyme	Estimé	Cor Par	p
Indice d'embonpoint								
Printemps	$r^2=0.723$				$r^2=0.668$			
	Ordonnée	1.241		<0.0001	Ordonnée	0.799		<0.0001
	Cæca CS	-0.030	0.662	<0.0001	Cæca CS	-5.162	0.495	<0.0001
	Muscle CS	-0.066	0.061	0.0056	Cæca NDPK	2.310	0.173	0.0016
Été	$r^2=0.335$				$r^2=0,180$			
	Ordonnée	0.608		<0.0001	Ordonnée	0.640		<0.0001
	Muscle NDPK	0.007	0.335	<0.0001	Muscle NDPK	0.808	0.18	0.0051
Poids des cæcaeca pylorique								
Printemps	Aucune relation				Aucune relation			
Été	Aucune relation				Aucune relation			
Indice Lipidique								
Printemps	$r^2=0.345$				Aucune relation			
	Ordonnée	-2.781		0.0038				
	Muscle NDPK	0.028	0.176	<0.0001				
	Muscle Protéine	0.013	0.169	0.0030				
Été	Aucune relation				Aucune relation			

4.2.3.4 Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : Indice d'embonpoint

Aucune relation significative n'a été identifiée pour l'indice d'embonpoint chez les perchaudes provenant de lacs contaminés.

4.2.3.5 Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : Poids des cæca pyloriques

Aucune relation significative n'a été identifiée pour le poids des cæca pyloriques chez les perchaudes provenant de lacs contaminés.

4.2.3.6 Relations enzymatiques dans les lacs contaminés : L'indice lipidique

Au printemps, une relation faiblement positive a été identifiée impliquant la LDH musculaire spécifique (expliquant 15,4 % de la variabilité) En été, la LDH musculaire protéique était positivement corrélée avec l'indice lipidique tandis que l'activité protéique de la PK musculaire l'était négativement. Ensemble elles expliquaient 17,1 % de la variabilité totale de l'indice lipidique l'été.

Tableau 4 : Résultats de la régression multiple examinant les relations entre les activités enzymatiques spécifiques et protéiques vs les paramètres biométriques chez les perchaudes des lacs contaminés. Pour chaque paramètre le r^2 total de la relation, le p de la régression complète ainsi que l'estimé, le coefficient de détermination partiel et la valeur de p pour chaque enzyme qui corrèle sont présentés. N= 90 par saison.

Paramètre	Activité spécifique				Activité protéique			
	Enzyme	Estimé	Cor Par	p	Enzyme	Estimé	Cor Par	p
Indice d'embonpoint								
Printemps	Aucune relation				Aucune relation			
Été	Aucune relation				Aucune relation			
Poids des caeca pylorique								
Printemps	Aucune relation				Aucune relation			
Été	Aucune relation				Aucune relation			
Indice Lipidique								
Printemps	$r^2=0.154$				Aucune relation			
	Ordonnée	0.311		0.0751				
	Muscle LDH	0.004	0.154	0.0015				
Été	Aucune relation				$r^2=0.171$			
		Ordonnée		0.797				<0.0001
		Muscle LDH	1.054	0.071	0.0011			
		Muscle PK	-1.616	0.101	0.0087			

5 Discussion

5.1 Réaction des perchaudes de laboratoire aux différentes rations alimentaires.

5.1.1 Réaction des paramètres biométriques

La réaction des paramètres biométriques des perchaudes à une augmentation de la ration alimentaire était rapide, supportant notre première hypothèse. Le TCS et l'indice d'embonpoint avaient atteint un maximum en moins de 4 semaines, indiquant que les perchaudes étaient capables de rapidement réagir à une augmentation de la ration alimentaire. L'indice lipidique a aussi subi une augmentation rapide en réaction à une augmentation de la ration alimentaire. Comme pour l'indice d'embonpoint, l'indice lipidique semble aussi rapidement atteint un plateau. Si on présume que les perchaudes dans le traitement SM ont réagi de façon similaire aux perchaudes du traitement S pour les six premières semaines, ceci indiquerait que, dans les 6 dernières semaines de l'expérience, les perchaudes du traitement SM ont été capables d'accumuler proportionnellement autant de lipides que les perchaudes qui étaient sur le même régime (3 %/j) pour les 12 semaines de l'expérience.

Le cas des cæca pyloriques semble être différent. Les cæca pyloriques des perchaudes du traitement SM étaient moins lourds que ceux sur le traitement M. Cette différence entre les deux traitements pointe vers deux déductions. La première est que les cæca pyloriques réagissent plus lentement à une augmentation du régime alimentaire que les autres paramètres biométriques examinés. Tandis que tous les autres paramètres biométriques avaient atteint des maximums en moins de 6 semaines, les cæca pyloriques des perchaudes du traitement M étaient vraisemblablement toujours en train d'accumuler du poids durant les 6 dernières semaines

expérimentales. Cette lenteur pourrait être causée par l'utilisation des protéines des cæca pyloriques à des fins autres que la croissance. Malgré un TCS largement positif et un apport diététique amplement suffisant, la concentration de protéines dans les cæca pyloriques des perchaudes en croissance diminuait avec le temps. Une production accrue d'enzymes digestifs pour être capable de digérer la nourriture consommée pourrait expliquer ce résultat. Si les acides aminés ne sont pas utilisés pour la production de protéines structurales et que le poids des cæca pyloriques augmente, la concentration en protéines pourrait diminuer. Ce phénomène a été observé dans les traitements SM, MS et M. La deuxième tendance est vers une augmentation importante du poids des cæca pyloriques. Le poids corrige des cæca pyloriques a augmenté par un facteur de 13x, l'augmentation absolue était encore plus grande. Une augmentation de poids, dans un contexte où les protéines ne seraient pas utilisées pour la production de protéines structurales, ferait que les cæca pyloriques réagiraient moins rapidement à une augmentation du régime alimentaire que d'autres tissus.

Une deuxième déduction qui expliquerait pourquoi les cæca pyloriques n'ont pas atteint un plateau, serait que les cæca pyloriques semblent avoir une plus grande capacité de réagir à une augmentation de la ration alimentaire que les autres paramètres biométriques. Aucune différence significative n'était présente pour l'indice d'embonpoint et l'indice lipidique des perchaudes des traitements SM et M. Les perchaudes du traitement M étaient pourtant 42 % plus lourdes que celles du traitement SM. Si on compare avec les résultats précédents, la différence de 88 % du poids corrigé des cæca pyloriques entre les mêmes groupes de perchaudes est beaucoup plus grande. Ceci indiquerait que les cæca pyloriques réagissent beaucoup plus à une augmentation de la ration alimentaire que les autres paramètres biométriques.

Par ailleurs, la réaction des paramètres biométriques à une baisse de la ration alimentaire semble être beaucoup plus lente que la réponse à une augmentation de la dite ration, largement en

support de l'Hypothèse 2. Mis à part le TCS, où aucune différence n'existe entre les perchaudes du traitement MS et celles des traitements S ou M, les valeurs finales pour les paramètres biométriques des perchaudes du traitement MS sont beaucoup plus similaires aux perchaudes sur le régime M qu'à celles sur le régime S. Le poids final, l'indice d'embonpoint et le poids des cæca pyloriques des perchaudes du traitement MS étaient statistiquement similaires aux mêmes paramètres chez les perchaudes M. Par contre, ces mêmes paramètres chez les perchaudes SM étaient significativement plus élevés que ceux des perchaudes sur le régime S. C'est seulement pour les indices lipidiques que des valeurs pouvant être considérées comme intermédiaires ont été observées. Ceci dit, l'indice lipidique des perchaudes du traitement MS était plus de 5x plus élevé que l'indice lipidique des perchaudes sur le traitement S, tandis qu'une différence de 25 % existait entre les perchaudes des traitements SM et M. Ces résultats pourraient être une indication que les perchaudes ont puisé dans leurs réserves d'énergie pour maintenir leurs autres paramètres biométriques et possiblement, l'activité de leurs enzymes.

5.1.2 Réaction des activités enzymatiques

De façon générale, l'activité des enzymes a augmenté avec une augmentation de la ration alimentaire. Ces résultats supportent l'hypothèse (Hypothèse 1) qu'avec une augmentation de la ration alimentaire, il y a une augmentation généralisée du métabolisme. D'intérêt particulier, les perchaudes de la ration SM avaient souvent des activités enzymatiques plus élevées que les autres perchaudes, même celles de la ration M. Ces mêmes perchaudes sur la ration SM avaient aussi le TCS le plus élevé à la fin de l'expérience. Ces activités enzymatiques plus élevées des perchaudes sur la ration SM indiqueraient possiblement une surcompensation du métabolisme, un phénomène qui a aussi été observé chez la morue (Bélanger et al., 2002). Chez la perchaude, cette surcompensation a été observée pour la CS et la PK musculaire et pour la NDPK dans les

cæca pyloriques. Ceci indiquerait que le métabolisme aérobie musculaire et l'anabolisme des protéines dans les cæca pyloriques limitaient la croissance chez la perchaude. La différence d'activité pour la NDPK dans les cæca pyloriques est particulièrement intéressante. L'activité de la NDPK des perchaudes du régime SM était plus élevée que l'activité des autres perchaudes sur les autres rations, qui elles ne différaient pas statistiquement. Ceci indiquerait que les perchaudes sur la ration M sont retournées à une activité spécifique basale de la NDPK, malgré une croissance positive qui continue pendant au moins 6 autres semaines. Puisque l'activité spécifique est corrigée pour le poids, ceci pointerait tout de même vers une augmentation de l'activité totale de la NDPK dans les cæca pyloriques puisque le poids de ces mêmes cæca pyloriques a augmenté.

Une diminution de la ration alimentaire n'a pas entraîné une baisse généralisée des activités enzymatiques, supportant l'Hypothèse 2. La comparaison des activités des perchaudes sur les rations MS et M indiquait que seulement les activités spécifiques de la CS et de la CCO dans les muscles et les cæca pyloriques avaient diminué. Avec une baisse du TCS et un arrêt de la croissance des cæca pyloriques, la demande pour l'énergie diminuait chez les perchaudes sur la ration MS, ce qui semble avoir entraîné une baisse du métabolisme aérobie. Une activité de la CCO musculaire et intestinale moindre chez des achigans à grande bouche qui avaient un faible taux de croissance a aussi été observée (Goolish et Adelman, 1987), ce qui supporte ces observations chez la perchaude.

5.1.3 Relations entre les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes de laboratoire

Les activités enzymatiques qui corrélaient avec l'indice d'embonpoint étaient l'activité spécifique de la CS et de la LDH musculaire et l'activité protéique de la G6PDH dans les cæca

pyloriques. La CS est un enzyme limitant dans le cycle de Krebs et joue un rôle important dans la régulation du métabolisme aérobie. Son association positive avec l'indice d'embonpoint indique que, dans les muscles des perchaudes, un facteur limitant pour l'anabolisme serait la production d'ATP. Une augmentation de l'indice d'embonpoint implique une augmentation du poids qui est proportionnellement plus importante que l'augmentation de la longueur. Dans le muscle blanc des perchaudes, ceci impliquerait principalement une déposition de protéines, des molécules qui sont énergétiquement dispendieuses à produire. Le muscle blanc est un tissu qui utilise principalement des sources anaérobies pour produire son énergie, souvent pour des accélérations rapides utilisées pour capturer des proies ou éviter les prédateurs. Puisque l'anabolisme est un processus qui dépend exclusivement des voies aérobies pour l'énergie, cette demande aurait pu dépasser la faible capacité du muscle blanc à produire l'ATP de façon aérobie. Néanmoins, les capacités anaérobies du muscle blanc étaient aussi corrélées positivement avec des changements de l'indice d'embonpoint. Une augmentation de l'activité de la LDH musculaire a déjà été suggérée comme indicateur d'une meilleure capacité énergétique chez la morue (Pelletier et al., 1993; Dutil et al., 1998). De plus, d'autres chercheurs ont avancé l'hypothèse que les protéines cytoplasmiques (comme la LDH) dans le muscle blanc pourraient servir comme réserve de protéines (Houlihan et al., 1988). Il est aussi fort probable que l'augmentation de la LDH ait aussi pour but d'augmenter la compétitivité de la perchaude. La capture de la nourriture est habituellement une activité anaérobie, donc une augmentation de la LDH augmenterait les chances de capturer la nourriture. La corrélation positive entre l'indice d'embonpoint et l'activité protéique de la G6PDH dans les cæca pyloriques pourrait indiquer que les perchaudes qui avaient une forte croissance augmentent leur capacité de produire ou de convertir les acides gras au niveau des cæca pyloriques. La synthèse *de novo* d'acide gras est un phénomène qui a été observé dans les cæca pyloriques des truites arc-en-ciel (Bell et al., 2003). La relation avec la G6PDH pourrait aussi indiquer

l'élongation des acides gras assimilés de la nourriture pour l'exportation hors des cæca pyloriques (Bauermeister et al., 1979). Dans les deux cas, le résultat est l'accumulation des acides gras, ce qui augmente l'indice d'embonpoint des perchaudes.

L'explication pour la corrélation positive entre le TCS et la CS musculaire suit le même raisonnement que pour l'indice d'embonpoint. Le TCS était basé sur le poids de la perchaude et la majorité du poids déposé est au niveau du muscle blanc. Il est donc probable que l'augmentation importante du TCS ait dépassé la capacité du muscle blanc de produire de l'ATP. Une observation intéressante était que les autres enzymes liés à la production aérobie d'ATP (PK et CCO) n'étaient pas corrélés positivement comme pour la CS. Ceci indiquerait que chez nos perchaudes, la CS serait l'étape limitante pour la respiration cellulaire en général, pas seulement pour le Cycle de Krebs. La relation positive avec la NDPK dans les cæca pyloriques pourrait être une indication que le TCS est aussi possiblement limité par la capacité de digestion. Une étude sur la morue a démontré que l'activité de la trypsine pourrait être un facteur limitant pour la croissance (Lemieux et al., 1999). La trypsine est un enzyme digestif responsable de la dégradation des protéines. Si les enzymes digestifs ne sont pas présents en quantité suffisante, la digestion de la nourriture sera incomplète et la perchaude ne sera pas capable d'en tirer le plein potentiel.

La production et la conversion d'acides gras dans les cæca pyloriques étaient aussi probablement la cause de la corrélation positive entre la G6PDH des cæca pyloriques et leurs poids. Une plus grande quantité d'acides gras dans les cæca pyloriques, même si elle n'est que transitoire, augmenterait leurs poids. Cette corrélation pourrait aussi être liée à l'augmentation de la consommation et à une plus grande assimilation d'acides gras. Puisque la G6PDH est impliquée dans l'élongation des acides gras, plus d'acides gras assimilés entraîneront un plus grand besoin pour leur modification avant l'exportation vers les lipides viscéraux. Cependant,

cette plus grande consommation demande aussi une plus grande surface de contact pour mieux être capable de digérer la nourriture et d'assimiler les nutriments. Cette plus grande surface, pour mieux assimiler et ensuite convertir les acides gras, implique en même temps une augmentation du poids de l'organe en question. Le poids des cæca pyloriques était aussi négativement corrélé avec l'activité de la NDPK dans les cæca pyloriques. Cette corrélation négative pourrait être une indication que les protéines produites dans les cæca pyloriques n'étaient pas retenues. Si les protéines produites dans les cæca pyloriques sont des enzymes digestifs, ou des lipoprotéines, elles seraient, respectivement, exportées vers le lumen ou le système sanguin. Une augmentation de la production des lipoprotéines est supportée par la relation positive entre la G6PDH et le poids des cæca pyloriques. La corrélation positive entre le poids des cæca pyloriques et la concentration de protéines musculaires serait simplement une conséquence de l'augmentation de la ration alimentaire qui causerait une augmentation parallèle des deux mesures. Des augmentations de la concentration des protéines musculaires avec une augmentation de la ration alimentaire ont aussi été observées chez la morue et le thon (Guderley et al., 1996; Carter et al., 1998; Dutil et al., 1998).

L'indice lipidique est un indicateur des réserves d'énergie accumulées sous forme d'acides gras par les perchaudes. La corrélation positive avec la LDH musculaire n'est donc pas surprenante puisque cet enzyme est un indicateur musculaire du statut énergétique (Houlihan et al., 1988; Pelletier et al., 1993; Dutil et al., 1998). Pour des raisons similaires, la relation positive avec la G6PDH n'était pas une surprise. Puisque la G6PDH est associée à la production d'acides gras et que les cæca pyloriques des perchaudes à haut régime avaient besoin de manipuler des quantités importantes de lipides, une augmentation de l'activité de la G6PDH était prévisible. Les cæca pyloriques n'étant pas des organes qui entreposent les lipides, les lipides manipulés et produits par les cæca pyloriques sont exportés pour stockage éventuel dans les lipides viscéraux.

5.2 Perchaudes des lacs de références et impact de la contamination sur les paramètres biométriques

5.2.1 Paramètres biométriques – Indice d'embonpoint

Dans les deux régions, l'indice d'embonpoint des perchaudes provenant des lacs de référence était, à quelques exceptions près, plus élevé que celui des perchaudes des lacs contaminés. Ce gradient, constant d'une saison à l'autre et d'une année à l'autre, démontre très clairement que les perchaudes qui vivent dans les lacs contaminés des deux régions sont affectées négativement par leur environnement. Mais la cause est-elle un effet direct des contaminants, un effet indirect via des changements dans la communauté ou, plus probablement, un mélange des deux? Il est fort probable que les métaux exercent un impact direct sur l'indice d'embonpoint des perchaudes. Certains des lacs contaminés avaient des communautés de poissons très peu diversifiées et dans certain cas, Hannah et Osisko, la perchaude était la seule espèce de poisson capturée durant les échantillonnages. Dans un environnement sans compétiteurs et sans prédateurs, où les perchaudes ont rarement des estomacs vides (observations personnelles), le fait que les perchaudes aient quand même un indice d'embonpoint inférieur à celles des lacs de référence serait une indication que les métaux auraient un effet direct, une déduction supportée par d'autres recherches (Laflamme et al., 2000; Campbell et al., 2003; Kovacs et al., 2005).

Mais qu'en est-il des lacs de référence où les indices d'embonpoint sont faibles? Dans la région de Rouyn-Noranda, les perchaudes provenant du lac Opasatica avaient souvent des indices d'embonpoint équivalents aux lacs intermédiaires et/ou contaminés. La raison probable pour ceci est la grande quantité et diversité des compétiteurs de la perchaude dans ce lac. Contrairement aux autres lacs échantillonnés, plusieurs espèces de centrarchidés et de cyprinidés, ainsi que des membres des familles ictaluridés et catostomidés, étaient abondantes dans le lac, tous

compétiteurs des divers stades ontogéniques des perchaudes. Quoiqu'un peu moins diversifiés, la situation était très similaire dans les lacs Barlow et James de la région de Sudbury où les indices d'embonpoint des perchaudes étaient comparables à ceux des lacs contaminés. Bien qu'aucune étude démontrant que la présence de compétiteurs diminue l'indice d'embonpoint n'a été trouvée, plusieurs démontrent que le taux de croissance est affecté négativement (Hayes et al., 1992; Post et McQueen, 1994) et que les compétiteurs peuvent changer le choix des proies (Lacasse et Magnan, 1992), deux facteurs qui peuvent avoir un impact négatif sur l'indice d'embonpoint.

Ces conclusions sont aussi supportées par des analyses de la trajectoire de croissance des perchaudes (voir Annexe E). Ce qui est particulièrement intéressant avec ces analyses est que les taux de croissance les plus élevés sont souvent observés chez les perchaudes des lacs intermédiaires (Bousquet, Ramsey et Richard). Ces taux de croissance élevés sont possiblement une indication que la communauté de poissons moins diverse permet aux perchaudes d'accéder à des niches écologiques plus riches et/ou de se nourrir plus. Mais malgré ces taux de croissance élevés, les perchaudes des lacs intermédiaires ont souvent des indices d'embonpoint moindres que les perchaudes des lacs de référence et ont aussi une taille initiale plus petite, une indication possible de l'effet des métaux.

Chez les perchaudes sauvages, même les indices d'embonpoint les plus élevés étaient inférieurs à ceux observés chez la majorité des perchaudes de laboratoire. Seules les perchaudes des lacs Dasserat et Opasatica, capturées l'été de 2004, avaient des indices d'embonpoint qui étaient équivalents à celles sur la ration S dans le laboratoire. Ce résultat indique clairement que les perchaudes sauvages, même dans des environnements non contaminés, subissent des restrictions d'énergie importantes. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à cette restriction. Même dans les lacs de référence, il est certain que les perchaudes sauvages n'ont pas accès à un régime aussi riche et nutritive qu'une moulée commerciale. De plus, les perchaudes sauvages ont besoin

de dépenser de l'énergie à chercher et capturer leur nourriture, une activité qui peut avoir un impact important sur la croissance (Rennie et al., 2005).

Les différences saisonnières présentent un problème complexe, particulièrement dans la région de Rouyn-Noranda. Dans la région de Sudbury les différences saisonnières pour l'indice d'embonpoint étaient divisées par classe de contamination. Les perchaudes des lacs de référence avaient des indices d'embonpoint plus élevés au printemps tandis que l'indice d'embonpoint des perchaudes des lacs contaminés était plus élevé l'été. Cette même tendance avait été observée par Audet et Couture (2003) dans la région de Sudbury et, même si les différences rapportées dans la présente étude sont parfois peu importantes, la tendance reste cohérente. Puisque l'indice d'embonpoint représente, entre autres, la consommation récente (de l'ordre de quelques semaines dans notre expérience de laboratoire) ces différentes tendances pourraient indiquer un décalage du maximum de productivité dans les lacs contaminés. L'hivernage est un stress important chez les poissons (Sogard et Olla, 2000; Pangle et al., 2004) et il est possible que les perchaudes des lacs contaminés prennent plus de temps pour s'y remettre à cause du stress supplémentaire de la détoxification. Ce stress supplémentaire expliquerait l'indice d'embonpoint moindre chez les perchaudes des lacs contaminés. À l'arrivée de l'été, un niveau de prédation et de compétition moins élevé ferait en sorte que les perchaudes des lacs contaminés soient en mesure d'accumuler plus de poids, et donc augmenter leur indice d'embonpoint.

Dans la région de Rouyn-Noranda, aucune tendance n'est discernable pour les différences saisonnières, que ce soit parmi les lacs, les classes de contamination ou les années. Ces résultats démontrent que les causes des variations saisonnières sont beaucoup plus complexes que de simples changements météorologiques; elles sont diverses et spécifiques à chaque lac.

5.2.2 Paramètres biométriques – Poids des cæca pyloriques

Malgré la grande variabilité du poids des cæca pyloriques et l'apparente importance des différences saisonnières (voir figure 11) des tendances pour le poids des cæca pyloriques le long du gradient de contamination ont été identifiées dans chaque région. Bien que ces sources de variation apportent un degré d'incertitude sur les tendances observées, le rapprochement des échantillonnages dans une même région (environ 1 semaine) rend l'identification d'une tendance plausible.

Dans la région de Rouyn-Noranda, la tendance est pour des cæca pyloriques plus petits dans les lacs contaminés, particulièrement dans le lac Dufault. Bien que les différences de poids parmi les lacs étaient rarement statistiquement significatives, cette tendance est visible pour tous les échantillonnages à Rouyn-Noranda. Basées sur les résultats de laboratoire, ces tendances indiqueraient que les perchaudes dans les lacs contaminés de la région de Rouyn-Noranda consomment moins de nourriture, une observation faite pour les perchaudes des mêmes lacs dans une autre étude (Kovecses et al., 2005).

La tendance est inversée pour les perchaudes de la région de Sudbury et indiquerait qu'elles consomment plus quand elles vivent dans des lacs contaminés. Mais encore une fois, les différences sont petites et rarement significatives. En 2004 et 2005 les cæca pyloriques ont été récoltés l'été, la saison où les perchaudes des lacs contaminés ont tendance à augmenter leur indice d'embonpoint (figure 10, Audet et Couture (2003)). Bien que les cæca pyloriques perdent du poids l'été (en présumant que la tendance à Rouyn-Noranda s'applique à Sudbury), si les perchaudes des lacs contaminés ne réduisent pas leur consommation autant que dans les lacs de référence, leur cæca pylorique perdront moins de poids. Mais certaines études rapportent des tendances opposées à celles suggérées par nos résultats pour les cæca pyloriques. Des études

antérieures ont démontré que les invertébrés sont moins diversifiés dans les lacs contaminés (Borgmann et al., 2001; Iles et Rasmussen, 2005) et que les perchaudes de certains lacs de référence en consomment plus (Iles et Rasmussen, 2005).

Encore une fois, l'amplitude des variations pour le poids des cæca pyloriques pour les perchaudes de terrain était beaucoup moins importante que celle observée en laboratoire. La différence entre le poids des cæca pyloriques des perchaudes sur la ration S et celles sur la ration M était de 13x, ceci pour une différence de régime de 6x. En comparaison, les différences de poids des cæca pyloriques observées le long des gradients de contaminations, variaient entre 1.23x et 1.42 (poids maximum/minimum, calculé pour chaque année/région). Ceci indiquerait que les différences potentielles de la consommation des perchaudes le long des gradients de contamination n'étaient pas très grandes. En se basant sur les résultats de laboratoire, faisant la supposition que les cæca pyloriques des perchaudes de terrain ont eu le temps de réagir aux changements de consommation, ces résultats pointeraient vers une différence de consommation d'environ 10-15 %. Ces différences seraient très petites, comparées à celles du laboratoire. Cependant, en tenant compte de l'importante restriction énergétique des perchaudes sauvages (comme en témoignent leurs faibles indices d'embonpoint et lipidique), ces différences dans la consommation pourraient être suffisantes pour avoir des répercussions sur la santé des perchaudes.

Mis à part leur potentiel comme indicateur de consommation, les cæca pyloriques semblaient aussi avoir beaucoup de potentiel comme indicateur de contamination, surtout pour les métaux non essentiels. Un examen des gradients de Cd dans les deux régions et du Ni à Sudbury démontre que les concentrations dans les cæca pyloriques représentent bien les gradients historiques, ainsi que les gradients dans la diète. L'utilisation des métaux dans les cæca pyloriques comme indicateur de contamination présente plusieurs avantages possibles. En

utilisant les métaux assimilés, toutes les ambiguïtés entourant la biodisponibilité sont prises en compte. De plus, puisque la demi-vie biologique des métaux dans le tissu intestinal varie de quelques jours à un mois (Kraemer et al., 2005b), les concentrations de métaux dans les cæca pyloriques intégreraient la contamination sur une certaine période de temps. Ceci est plus avantageux que de mesurer les concentrations de métaux dans la diète car les concentrations dans les cæca pyloriques sont un amalgame des diverses sources potentielles et représentent la contamination moyenne à laquelle la perchaude est exposée. De plus, le poids corrigé des cæca pyloriques ne semble pas être affecté par la présence des métaux (Voir Article 3, Partie II). Ceci est un avantage car les concentrations des métaux ne seraient pas altérées par des changements de poids liés à des effets toxiques.

Un autre aspect potentiellement intéressant est que les concentrations de certains métaux dans les cæca pyloriques pourraient prendre en compte la contamination de source aqueuse. D'autres chercheurs ont proposé que jusqu'à 70 % du Cd accumulé dans les intestins des perchaudes vivant en milieu contaminé pourrait être de provenance aqueuse (Kraemer et al., 2008). Ceci indiquerait que les concentrations de métaux dans les cæca pyloriques pourraient être utilisées comme indicateur de contamination globale, pas seulement de la contamination alimentaire.

Cependant, l'utilité des cæca pyloriques comme indicateur de contamination métallique ne semble pas s'étendre aux métaux essentiels comme le Cu. Malgré des gradients importants de Cu dans la diète et le foie, un gradient similaire n'était pas présent dans les cæca pyloriques. L'absence d'un gradient de concentration pour le Cu pourrait avoir plusieurs explications. Une première serait possiblement sa demi-vie biologique courte, environ 4 jours, dans les tissus intestinaux des perchaudes (Kraemer et al., 2005b). Une autre explication possible pour le manque de gradient dans les cæca pyloriques est que les cæca pyloriques n'absorbent pas la

majorité du Cu qui est présent dans la diète. Des expériences où des truites arc-en-ciel ont été exposées à des doses de Cu (équivalent de 3 µg Cu/g diète à 3000 µg/g) ont démontré que les intestins n'ont pas atteint des concentrations élevées de Cu, même au plus haut niveau d'exposition (Clearwater et al., 2000). Des résultats similaires ont aussi été obtenus pour le Zn (Glover et Hogstrand, 2002). Ces études ont démontré que les intestins agissent comme tampon entre les métaux dans la diète et les organes internes. À de faibles concentrations de métaux essentiels, le mucus concentre ces métaux près de l'épithélium et les tissus intestinaux agissent comme réservoir pour les autres organes. Mais à concentrations élevées, une hypersécrétion de mucus augmente l'évacuation des métaux dans le lumen et ralentit la diffusion passive à travers la membrane tandis que des transporteurs saturables limitent l'assimilation facilitée.

En examinant les différences saisonnières pour le poids des cæca pyloriques, une tendance évidente était présente pour tous les lacs. Dans tous les cas le poids des cæca pyloriques diminuait de façon importante durant la saison estivale. Des baisses d'en moyenne 48 % ont été observées pour les perchaudes de la région de Rouyn-Noranda en 2006 entre les mois de juin et août. Ces résultats apportent des indications supplémentaires démontrant que les perchaudes sauvages subissent d'importantes restrictions énergétiques. Dans l'expérience de laboratoire les perchaudes qui ont subi une baisse de la ration alimentaire (ration MS), mais qui étaient sur un ration de soutien, avaient réussi à maintenir le poids accumulé de leurs cæca pyloriques. La perte de poids des cæca pyloriques chez les perchaudes sauvages s'apparente aux études où des pertes de poids au niveau des cæca pyloriques, ou des intestins, ont été observées après une période prolongée de jeûne par la morue et le saumon Atlantique (Pelletier et al., 1994; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005).

Ces pertes de poids entre le printemps et l'été semblent avoir eu l'effet d'augmenter les concentrations de métaux dans les tissus intestinaux (figure 8). L'hypothèse la plus probable est

que les métaux ne sont pas perdus quand les cæca pyloriques diminuent de poids. Étant donné leur rôle de réservoir (Clearwater et al., 2000; Glover et Hogstrand, 2002), cette hypothèse est probable pour les métaux essentiels. Cette situation est aussi plausible pour les métaux non essentiels s'ils sont séquestrés dans la cellule sans qu'elle soit capable de les excréter.

5.2.3 Paramètres biométriques – Indice lipidique

L'indice lipidique des perchaudes sauvages ne semble pas être affecté négativement par la présence de métaux dans les lacs de Rouyn-Noranda car les indices lipidiques des perchaudes capturées dans les lacs contaminés étaient similaires à ceux des lacs de référence. Ceci dit, dans tous les cas, les indices lipidiques des perchaudes sauvages étaient plus faibles que ceux mesurés en laboratoire. Puisque même les perchaudes des lacs de référence accumulaient peu de lipides viscéraux, cette étude ne permet pas de déterminer si les métaux affectent cette accumulation. Les indices lipidiques des perchaudes sauvages variaient entre 0,4 % et 1,2 % (moyenne pour les lacs), ce qui serait comparable aux perchaudes de laboratoire sur la ration S (moyenne d'environ 0,8 %, voir figure 5). En comparaison, les perchaudes sur les rations SM et M avaient, respectivement, des indices lipidiques de 5 % et 5,5 %. Ceci apporte un support supplémentaire à la conclusion que les perchaudes sauvages sont exposées à un stress bioénergétique important, qu'elles vivent dans des lacs contaminés ou de référence. Les différences saisonnières ont aussi été examinées et, comme pour l'indice d'embonpoint des perchaudes de Rouyn-Noranda, aucune tendance n'était évidente. Cet aspect "aléatoire" démontre que l'accumulation de réserves d'énergie est un phénomène complexe, influencé par des facteurs spécifiques à chaque lac, et que les variations saisonnières de température sont insuffisantes pour expliquer les différences observées.

5.3 Relations entres les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes des lacs de référence

5.3.1 Relations avec l'indice d'embonpoint

Chez les perchaudes sauvages des lacs de référence, l'indice d'embonpoint était corrélé avec les capacités anabolique et aérobie. La régression multiple pour le printemps indiquait plusieurs relations négatives avec des enzymes aérobies, notamment la CS dans les cæca pyloriques. Il serait peu probable que des perchaudes avec un bon indice d'embonpoint diminueraient leur métabolisme aérobie dans les cæca pyloriques puisque la respiration aérobie (représentée par la CS) est essentielle pour augmenter le poids de ce tissu. Ces relations négatives seraient plus le résultat d'une dilution causée par la croissance des cæca pyloriques. Les activités des enzymes étaient capables de suffire aux besoins d'énergie pour l'anabolisme dans un tissu qui gagne du poids, donc la concentration de ces enzymes diminuerait même si leur capacité totale ne changeait pas.

Bien que les régressions multiples pour le printemps étaient relativement fortes (r^2 de 0,67 – 0,72), les régressions utilisant seulement les perchaudes capturées pendant l'été l'étaient beaucoup moins (r^2 de 0,18-0,33). Pour les perchaudes des lacs de référence récoltées pendant l'été, seule la NDPK musculaire corrélait, positivement, avec l'indice d'embonpoint, indiquant qu'un dépôt de protéines au niveau musculaire continue durant l'été. Le manque de corrélations avec les enzymes dans les cæca pyloriques pourrait être causé par l'importante perte de poids dans ce tissu chez les perchaudes provenant des lacs Dasserat et Opasatica. Mais durant cette même période, l'indice d'embonpoint diminuait chez les perchaudes du lac Dasserat et augmentait chez les perchaudes du lac Opasatica. Les pertes de poids dans les cæca pyloriques pourraient donc également indiquer une diminution de la consommation.

Les régressions multiples générées durant l'expérience de laboratoire étaient utiles comme cadre de référence, mais aucun des enzymes identifiés en laboratoire ne corrélait de façon similaire chez les perchaudes sauvages, allant à l'encontre des prédictions de l'Hypothèse 3. L'activité spécifique de la LDH musculaire et l'activité protéique de la G6PDH dans les cæca pyloriques n'étaient pas inclus dans les régressions pour les perchaudes sauvages. Pour ce qui est de la CS musculaire spécifique, une faible relation négative a été identifiée chez les perchaudes sauvages, tout le contraire de la forte relation positive identifiée en laboratoire. Ces différences étaient probablement causées par la gamme beaucoup plus restreinte, ainsi que par les valeurs beaucoup plus faibles, des indices d'embonpoint mesurés chez les perchaudes sauvages. L'importante croissance des perchaudes de laboratoire, particulièrement celles aux rations M et SM, poussait probablement les demandes métaboliques loin au delà de ce qui serait observable chez des perchaudes sauvages.

5.3.2 Relations avec le poids des cæca pyloriques

Le manque de corrélation entre les enzymes et le poids des cæca pyloriques est une grande différence avec ce qui a été observé en laboratoire. Il est possible que le temps de réaction des cæca pyloriques, qui est long, ne concorde pas avec les changements plus rapides des activités enzymatiques. Puisque l'apport de nourriture change constamment pour les perchaudes sauvages, une seule observation à un point précis dans le temps n'est probablement pas suffisante pour être capable de bien suivre les relations entre les enzymes et le poids des cæca pyloriques. Des études futures visant à examiner ces relations devraient prendre des échantillonnages réguliers sur une période de plus de 6 semaines.

5.3.3 Relations avec l'indice lipidique

Dans le seul cas où une régression significative a été identifiée des indicateurs de synthèse ou d'accumulation de protéines comme étaient corrélés avec l'indice lipidique des perchaudes des lacs de référence. Les indices d'accumulation de protéines dans les muscles (NDPK et concentration de protéine) étaient positivement corrélés avec l'indice lipidique, suggérant que l'accumulation de protéines se fait en parallèle à l'accumulation des lipides.

Le r^2 de la régression était faible, indiquant que les enzymes choisis n'arrivaient pas à expliquer une majorité de la variabilité dans les données. Deux explications sont possibles pour les r^2 faibles/non significatifs des régressions multiples. Premièrement, il est possible que le mauvais tissu ait été ciblé. Si peu de lipides alimentaires sont accumulés, la demande sur les voies de la lipogénèse dans les intestins sera faible. Dans une telle situation, la majorité de la lipogénèse se fait dans le foie. Donc, l'activité de la G6PDH dans les cæca pyloriques ne sera pas corrélée avec l'indice lipidique. Deuxièmement, la faible quantité de lipides accumulée, et donc la faible gamme de valeurs pour l'indice lipidique aurait pu mitiger toute tentative de corrélation.

5.4 Relations entres les activités enzymatiques et les paramètres biométriques – Perchaudes des lacs contaminés

5.4.1 Relations avec l'indice d'embonpoint

Pour les régressions examinant les saisons individuellement, aucun modèle significatif n'a pu être généré. Ceci est un énorme contraste avec les relations fortes qui ont été observées pour les perchaudes des lacs de référence. Ce manque de relation supporterait l'Hypothèse 4, que la présence de métaux perturbe le métabolisme des perchaudes.

5.4.2 Relations avec le poids des cæca pyloriques

Comme pour les lacs de référence, aucune relation n'a été significative entre les activités des enzymes et le poids des cæca pyloriques. Encore une fois, c'est probablement l'aspect ponctuel des échantillonnages qui limite notre capacité d'identifier des relations. Des échantillonnages pris à un interval régulier sur une longue période de temps seraient probablement requis pour être capables d'identifier ces relations.

5.4.3 Relations avec l'indice lipidique

Les régressions examinant les saisons individuellement étaient significatives, mais très faibles, n'expliquant qu'entre 15 % et 17 % de la variabilité de l'indice lipidique. L'activité enzymatique corrélée avec l'indice lipidique au printemps était la LDH musculaire spécifique. À l'été, la LDH musculaire protéique était aussi positivement corrélée avec l'indice lipidique, tandis que la PK musculaire protéique l'était négativement. Ces changements sont liés à la glycolyse (PK) et à la production d'énergie de façon anaérobie (LDH). Ceci pourrait indiquer une augmentation de l'énergie requise pour la capture de proies, mais avec les relations faibles qui ont été observées, d'autres facteurs risquent d'être plus influents sur l'accumulation de lipides viscéraux.

5.5 Différences interannuelles

Bien que ces études, individuellement, n'aient pas été conçues pour permettre l'étude des différences interannuelles, la similarité des dates d'échantillonnage, des lacs échantillonnés, des méthodes de capture et des données récoltées sur cinq années consécutives nous donnent une rare opportunité de faire le suivi de plusieurs populations de perchaudes dans le temps. La première observation qui ressort est qu'il n'y avait pas d'amélioration de la condition physique des

perchaudes dans le temps. Les indices d'embonpoint pour les années 2003 et 2004 étaient plus élevés que pour les années 2005 et 2006, et ceci dans les deux régions. Paradoxalement, les concentrations de métaux dans certains tissus et dans les contenus stomacaux étaient moindres en 2005/6 qu'en 2003/4.

Le fait que les concentrations de métaux étaient plus faibles pendant les mêmes années où l'indice d'embonpoint était bas, la cohérence des différences interannuelles entre les deux régions et le maintien de ces tendances dans les lacs de référence indiquent qu'une autre cause que la contamination pourrait expliquer les baisses d'indices d'embonpoint en 2005/6. Le seul facteur qui agirait à une aussi grande échelle (les deux régions d'étude) serait les changements météorologiques, un paramètre qui devrait être pris en compte (ex: en utilisant les degrés-journées pour planifier les campagnes d'échantillonnage) durant les programmes de suivi, afin de minimiser son influence. Le suivi des changements saisonnier et inter-annuels des paramètres biométriques apporte aussi un paradoxe. L'effet des changements météorologiques sur les paramètres biométriques était différent pour chaque lac d'une saison à l'autre. Ceci pourrait être causé par des différences de taille des perchaudes ou de la chimie de l'eau. Mais d'une année à l'autre, l'effet des changements météorologiques sur ces mêmes paramètres semble être remarquablement similaire.

Les différences interannuelles pour les paramètres biométriques et les concentrations de métaux dans les tissus ont probablement des implications pour les programmes de suivi de la réhabilitation des régions contaminées. Par exemple, les différences interannuelles pour l'indice d'embonpoint des perchaudes de Rouyn-Noranda variaient entre 31 % et 47 %, une gamme plus élevée que le 14 % à 30 % pour les différences inter-lacs dans une même région et une même année. Ceci fait en sorte qu'en 2004 les perchaudes du lac Dufault (contaminé) avaient des indices d'embonpoint plus élevés que les perchaudes des lacs de référence en 2005 et 2006. C'est

un cas similaire pour la concentration des métaux; les variations vont de 100 % à 375 % pour les concentrations de métaux dans l'alimentation et de 96 % à 160 % pour les concentrations de métaux dans les cæca pyloriques. Ces changements d'une année à l'autre sont beaucoup plus abrupts que ceux qui peuvent être observés dans, par exemple, des carottes de sédiments dans les mêmes régions (Nriagu et al., 1998; Couillard et al., 2004). Ceci dit, il faudrait tenir compte du fait que les changements observés dans les carottes de sédiments sont rarement faits entre deux années, mais plus souvent l'amalgame de plusieurs années de sédimentation. Les grandes variations pour les paramètres biométriques et les concentrations de métaux sont probablement un reflet des changements métaboliques causés par les changements dans l'environnement. Il reste encore à déterminer la rapidité des changements des concentrations tissulaires de métaux dans le temps et si les grandes variations sont un véritable reflet des différences d'une année à l'autre.

Les variations saisonnières influent aussi sur l'interprétation des différences interannuelles. Bien que les échantillonnages aient été regroupés en "saisons", les dates d'échantillonnage ont parfois plusieurs semaines d'écart d'une année à l'autre. Les études de laboratoire ont démontré que l'indice d'embonpoint et le poids des cæca pyloriques peuvent changer de façon importante sur une telle période de temps en réaction à un changement de régime alimentaire. De plus, dans les cæca pyloriques, les changements de poids saisonniers semblent aussi avoir un impact important sur la concentration des métaux. Afin d'examiner plus rigoureusement les différences interannuelles, des études futures devraient planifier des échantillonnages à des dates précises chaque année et même tenir compte des degrés-jours afin de minimiser l'influence des différences météorologiques d'une année à l'autre. Une autre alternative serait d'espacer plusieurs échantillonnages durant chaque année et de comparer les séries temporelles sur plusieurs années.

Ces grandes variations des paramètres biologiques constituent un problème pour les programmes qui suivent la réhabilitation des régions contaminées. Le but de ces programmes est d'examiner la santé des organismes qui vivent dans les environnements contaminés et d'en documenter les changements. Mais la grande variabilité de la réaction de ces organismes, possiblement causée par l'influence des conditions météorologiques et/ou par des interactions biologiques, ferait en sorte qu'un suivi direct de leur santé serait trop variable pour en tirer des tendances précises. Il serait donc essentiel de continuer d'inclure des mesures abiotiques (concentrations de métaux aqueux ou sédimentaires) à un programme de suivi pour compléter les mesures biologiques visant à faire le suivi de la santé des organismes qui vivent dans les milieux contaminés.

6 Récapitulatif des hypothèses

Hypothèse 1 : Avec une augmentation de la ration alimentaire, les mesures biométriques et l'activité enzymatique augmenteront.

Cette première hypothèse a été testée dans les expériences de laboratoire faites en 2006. Les figures 2 à 5 démontrent très clairement qu'avec une augmentation de la ration alimentaire, tous les paramètres biométriques (poids, TCS, indice d'embonpoint, poids des cæca et indice lipidique) augmentent de façon significative.

La plupart des activités enzymatiques dans les deux tissus ont augmenté avec une augmentation de la ration alimentaire (tableaux 6 et 7, Annexe A). Dans le muscle, les activités de la LDH, de la CS et de la NDPK étaient systématiquement plus élevées dans les traitements M ou SM que dans les autres traitements. Mais il y avait quelques exceptions. Dans le muscle, les activités spécifiques et protéiques de la CCO étaient remarquablement similaires parmi les perchaudes des traitements d'acclimatation, S, SM et M. Le cas est moins certain pour l'activité spécifique de la PK; l'activité pour les perchaudes du traitement SM était la plus élevée, mais les autres traitements (incluant le traitement M) n'étaient pas statistiquement différents.

De façon générale les activités des enzymes dans les cæca pyloriques ont aussi augmenté avec l'augmentation de la ration alimentaire, mais encore une fois, il y a quelques exceptions. Bien que les activités spécifiques de la CS et de la NDPK soient plus élevées dans les traitements M ou SM par rapport aux traitements S et MS, elles ne sont pas statistiquement différentes des activités chez les poissons en acclimatation.

La figure 13 reprend la figure 1 et montre les changements métaboliques et physiologiques observés chez les perchaudes recevant des rations alimentaires élevées. Avec l'augmentation de la ration alimentaire (énergie ingérée), une augmentation du dépôt des lipides

et des protéines se fait aussi, augmentant l'indice d'embonpoint. Le métabolisme augmente aussi, mais pas suffisamment pour empêcher le gain de poids. Une portion de l'énergie est investie pour augmenter la longueur du poisson, mais l'investissement est proportionnellement plus grand pour l'augmentation du poids, donc il n'y a pas d'impact négatif sur l'indice d'embonpoint. Avec la grande quantité d'énergie ingérée, les perchaudes de laboratoire ont aussi entreposé une portion de cette énergie dans leurs organes reproducteurs (observations personnelles), augmentant aussi l'indice d'embonpoint. Puisque les perchaudes ont été maintenues en laboratoire, il n'y a pas eu d'impacts négatifs de la contamination sur l'indice d'embonpoint.

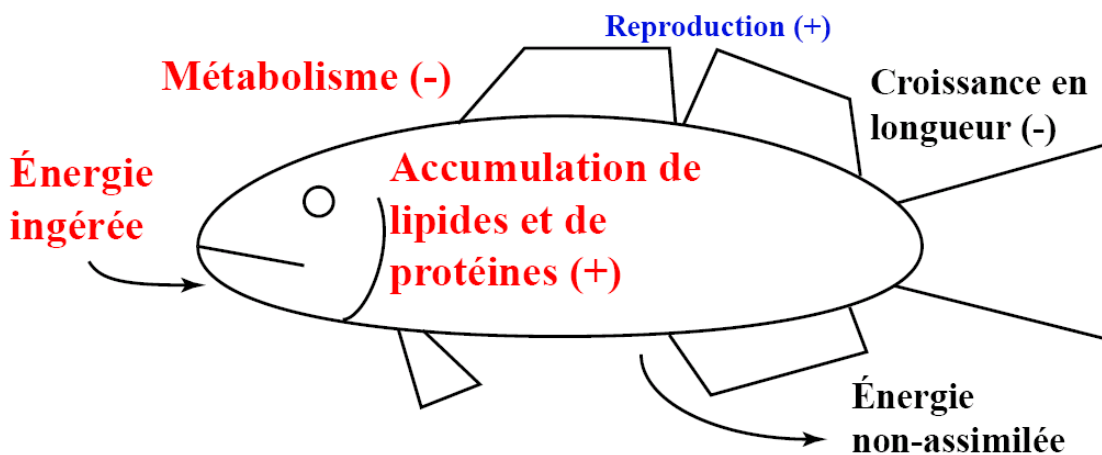


Figure 13 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques observés chez les perchaudes sur un régime alimentaire élevé. Les facteurs qui influencent l'indice d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuée sont en bleu.

Hypothèse 2 : Une ration de soutien n'entraînera pas une baisse de l'indice d'embonpoint ou de l'activité des enzymes.

Bien que certains paramètres biométriques aient diminué avec une baisse de ration alimentaire (TCS et indice lipidique), à la fin des 12 semaines expérimentales, l'indice d'embonpoint des perchaudes sur le régime MS n'était pas statistiquement plus faible que celui des perchaudes sur les régimes SM et M, supportant ainsi l'Hypothèse 2.

Pour ce qui est des activités enzymatiques, celles des perchaudes du traitement MS n'ont pas diminué systématiquement comparativement aux perchaudes des traitements SM et M, bien que des diminutions d'activité liées à une diminution de l'alimentation aient été observées dans certains cas. L'enzyme pour lequel la diminution était la plus remarquable était la CS musculaire. Les activités spécifiques et protéiques de cet enzyme avaient diminué chez les perchaudes du traitement MS par rapport aux perchaudes SM et M. En comparant les traitements MS et SM, des diminutions ont aussi été observées pour l'activité protéique de la PK musculaire et l'activité spécifique de la NDPK dans les cæca pyloriques des perchaudes du traitement MS. Mais puisque les activités des perchaudes du traitement MS n'étaient pas statistiquement différentes de celles des traitements S et M, il est probable que l'activité élevée chez les perchaudes des traitements SM soit une réponse transitoire à une augmentation de la ration alimentaire avant un retour à l'activité basale.

Hypothèse 3 : Les relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques des perchaudes sauvages des lacs de référence seront similaires à celles observées au laboratoire.

De façon générale, les résultats de cette étude ne supportent pas cette hypothèse. Les relations entre les activités enzymatiques et l'indice d'embonpoint au laboratoire n'étaient pas

similaires à celles observées avec les données de terrain. Le seul enzyme qui était commun aux deux régressions était la CS musculaire, mais les relations étaient inversées (positive pour les perchaudes de laboratoire, négative pour les perchaudes sauvages). Ce manque de concordance entre les deux études était probablement lié aux différences de taux de croissance et de consommation. Les perchaudes de laboratoire avaient un TCS et un niveau de consommation beaucoup plus élevé que les perchaudes récoltées sur le terrain.

Il y avait aussi un manque de concordance pour les régressions examinant les relations entre les activités enzymatiques et le poids des cæca pyloriques. Les faibles taux de croissance et de consommation des perchaudes sauvages, comparées aux perchaudes de laboratoire, sont probablement la cause de cette non concordance. De plus, les perchaudes de laboratoire avaient des cæca pyloriques qui augmentaient de poids (ou qui avaient un poids stable) tandis que les perchaudes sauvages récoltées l'été avaient des cæca pyloriques moins lourds que celles récoltées au printemps.

Les relations positives entre la LDH musculaire et l'indice lipidique constitueraient un point commun entre les régressions pour les perchaudes de laboratoire et les perchaudes sauvages. Cela dit, les relations étaient beaucoup moins fortes (r^2 moindre) et l'absence de la G6PDH dans les régressions pour les perchaudes sauvages et les faibles valeurs pour l'indice lipidique démontraient que les perchaudes sauvages avaient de la difficulté à accumuler des réserves lipidiques.

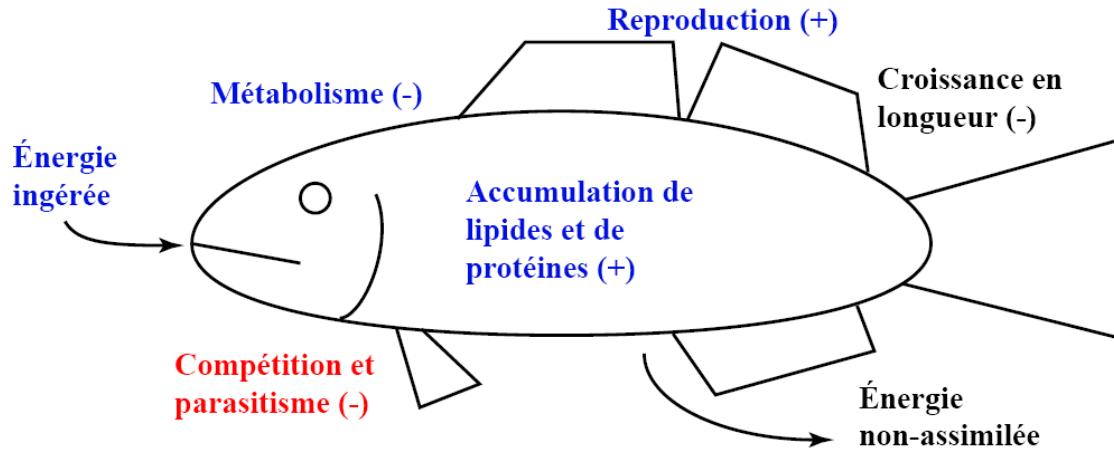


Figure 4 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques subis par les perchaudes vivant dans les lacs de référence. Les facteurs potentiels qui influencent l'indice d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuée sont en bleu.

La figure 14 représente les facteurs influençant l'indice d'embonpoint chez les perchaudes sauvages dans les lacs de référence en 2006. De façon générale l'énergie ingérée par les perchaudes sauvages était moindre que ce qu'on retrouvait au laboratoire. Malgré ceci, les dépenses n'ont pas nécessairement diminué de façon proportionnelle. Plus d'efforts métaboliques sont requis pour la recherche de la nourriture et l'homéostasie dans un environnement variable, ayant un impact négatif sur la capacité de croissance et l'indice d'embonpoint. L'accumulation de poids s'est faite préférentiellement en accumulant des protéines, les lipides allant pour satisfaire aux demandes métaboliques. La croissance en longueur était prioritaire pour limiter le danger de prédation (vitesse de nage, superficie de la silhouette) ainsi que pour diminuer les demandes métaboliques puisque les dépenses métaboliques deviennent proportionnellement moins importantes chez les poissons plus grands (Sogard et Olla, 2000; Pangle et al., 2004). Étant donné que des poissons plus âgés ont été requis pour avoir la même gamme de taille que dans le laboratoire, des investissements dans la reproduction auraient pu avoir un impact positif sur l'indice d'embonpoint des perchaudes récoltées l'été. Étant en milieu naturel, la compétition et le

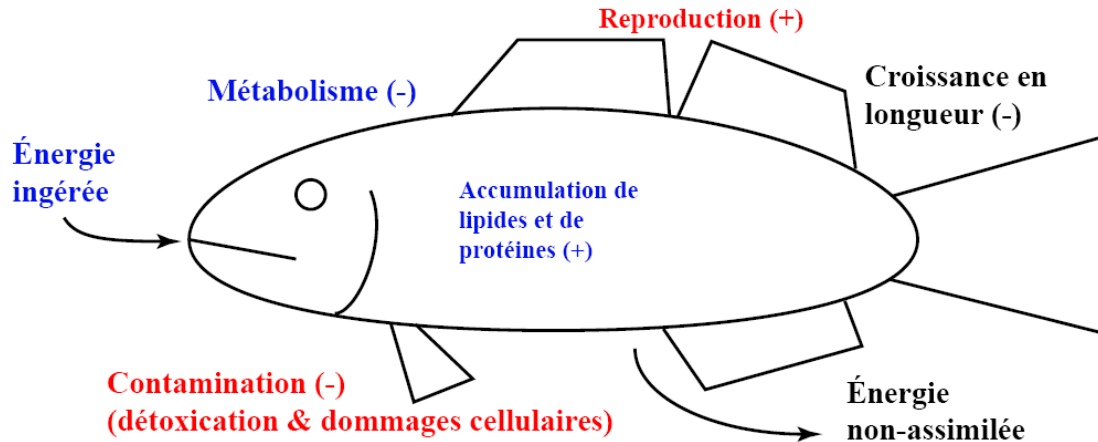


Figure 5 : Représentation des changements métaboliques et physiologiques subis par les perchaudes vivant dans les lacs contaminés. Les facteurs qui influent l'indice d'embonpoint et qui augmentent sont représentés par une police rouge, ceux dont l'importance est diminuent sont en bleu.

parasitisme ont probablement aussi eu un impact négatif sur l'indice d'embonpoint, en forçant les perchaudes dans des niches écologiques moins riches et en consommant à leur insu l'énergie ingérée, respectivement. Comme on le voit dans le Tableau 21 (Annexe D), les lacs de référence ont souvent des communautés de poissons plus diverses que celles des lacs contaminés. Les populations de compétiteurs (catostomidae, centrarchidae, cyprinidae et ictaluridae) dans ces lacs exercent probablement une pression sur tous les stades ontogéniques de la perchaude.

Hypothèse 4 : Les coûts bioénergétiques imposés par la vie en milieu contaminé feront que les relations entre les paramètres biométriques et les activités enzymatiques seront moins fortes.

L'Hypothèse 4 est largement supportée par les résultats de cette étude. Les régressions peu puissantes, et dans la majorité des cas non significatives, rendant compte des relations entre les activités des enzymes et l'indice d'embonpoint ou l'indice lipidique, témoignent d'une interférence au niveau métabolique chez les perchaudes qui vivaient en milieu contaminé.

La figure 15 représente les impacts métaboliques et physiologiques sur les indices d'embonpoint des perchaudes qui vivaient dans les lacs contaminés. Comme pour les perchaudes des lacs de référence, il est possible que l'apport d'énergie était limité et que les investissements dans la reproduction et la croissance en longueur ont eu un impact sur l'indice d'embonpoint. La différence majeure serait l'ajout des coûts pour la détoxification et la réparation des dommages cellulaires associés à la vie en milieux contaminés. Ces coûts, rajoutés aux dépenses métaboliques existantes, feraient en sorte que le potentiel pour le gain de poids serait moindre que pour les perchaudes de lacs de référence, d'où l'indice d'embonpoint inférieur chez les perchaudes vivant en milieu contaminé. La possibilité existe aussi que la qualité de la nourriture était moindre, puisque les proies sont moins diverses dans les lacs contaminés, ce qui aurait aussi eu un impact négatif sur l'indice d'embonpoint.

Hypothèse 5 : Il y aura d'importantes variations interannuelles pour les paramètres biométriques des perchaudes sauvages.

L'analyse des résultats de cette étude et des autres études examinées supporte fortement cette hypothèse. Les variations interannuelles pour l'indice d'embonpoint étaient importantes et souvent de plus grande amplitude que les variations observées le long du gradient de contamination ou que les variations saisonnières. La similarité des tendances, d'un lac à l'autre et même d'une région à l'autre, pointe vers une influence qui agit à très grande échelle, probablement les variations des conditions météorologiques. La grande variabilité interannuelle des paramètres biométriques pourrait limiter leur potentiel dans des campagnes de suivi qui visent à examiner la réhabilitation d'une région contaminée et la santé des organismes qui y vivent.

7 Conclusions

L'expérience de laboratoire où les régimes alimentaires ont été manipulés pour altérer le taux de croissance des perchaudes a été utile comme cadre de référence pour interpréter les relations entre les enzymes et les paramètres biométriques des perchaudes sauvages. Malgré ceci, les résultats obtenus dans cette expérience de laboratoire n'ont pas permis de prédire les relations entre les enzymes et les paramètres biométriques pour les perchaudes sauvages. Les expériences de laboratoire sont d'une utilité primordiale pour l'identification des mécanismes de toxicité. Mais la simplicité qui permet l'identification d'un mécanisme limite beaucoup l'efficacité des expériences en laboratoire pour la prédiction d'effets dans des milieux naturels.

Plusieurs conclusions sont ressorties des études de terrain. Premièrement, les perchaudes qui vivent dans les lacs contaminés des deux régions d'étude subissent des impacts négatifs sur leur santé en général et sur leur indice d'embonpoint spécifiquement. Cet impact négatif sur l'indice d'embonpoint est probablement causé par une combinaison de toxicité directe des métaux sur les perchaudes et des impacts indirects qui limiteraient la capacité des perchaudes de croître et d'accumuler des réserves énergétiques de façon efficace.

Deuxièmement, les perchaudes sauvages que nous avons examinées, qu'elles aient vécu en milieu contaminé ou non, subissaient des limitations importantes sur leur bilan énergétique. Le taux de croissance faible, le faible indice d'embonpoint, le manque de lipides viscéraux ainsi que la perte de poids des cæca pyloriques durant l'été indiquent tous que les perchaudes sauvages subissent des limitations d'énergie importantes. Cette limitation d'énergie rend les perchaudes sauvages d'autant plus sensibles à l'addition d'un stress dans leur environnement. Pour les perchaudes vivant en milieu contaminé, ceci implique que, malgré le fait d'être confrontées à

moins de compétition et de prédation, elles n'étaient toujours pas sur un pied d'égalité avec les perchaudes des lacs de référence au niveau bioénergétique.

Troisièmement, les différences interannuelles observées pour les paramètres biométriques et la concentration des métaux dans les tissus des perchaudes rendent leur utilisation problématique dans le cadre d'un programme de suivi. Afin de mitiger la confusion que pourrait apporter l'utilisation exclusive de données biologiques, d'autres paramètres abiotiques devraient être utilisés ainsi que des informations sur la structure des réseaux trophiques dans les lacs examinés.

Finalement, ces études ont démontré que l'examen de plusieurs variables est crucial afin de bien comprendre des variations de la physiologie causées par la contamination métallique. Puisque les métaux ont des effets directs et indirects, des paramètres capables d'apporter des informations sur les changements des réseaux trophiques ne doivent pas être négligés. Ces études ont confirmé l'utilité de l'indice d'embonpoint comme indicateur d'impact de la contamination par les métaux. Mais afin de mieux comprendre les impacts sur l'indice d'embonpoint, d'autres paramètres sont requis. Les cæca pyloriques sont un tissu particulièrement utile car ils peuvent fournir des indices de changements de la consommation, de la contamination métallique et potentiellement des limitations énergétiques.

Des études futures devraient examiner la réponse des cæca pyloriques aux changements de régime alimentaire afin de mieux définir la rapidité et l'étendue de leurs réponses. Les liens entre les changements de poids des cæca pyloriques et l'indice d'embonpoint seraient aussi très utiles, surtout pour mieux définir le décalage entre la réponse de ces deux paramètres. Des études sur le terrain devraient aussi œuvrer à examiner les changements des réseaux trophiques puisque ces changements auront un impact sur le comportement, le métabolisme et la physiologie des organismes sauvages vivants en milieu contaminé. Dernièrement, si des études sur plusieurs

années sont prévues, elles devraient tenir compte de l'importance des variations saisonnières et interannuelles dans la conception des plans d'échantillonnage. L'importance des variations saisonnières peut être compensée en minimisant l'étendue des échantillonnages dans le temps. L'utilisation de degré-journée pour standardiser les dates d'échantillonnage, combiné avec des mesures de contamination abiotique (ex : sédiments) serait utile afin de minimiser l'importance des variations interannuelles.

8 Références

- Aalto, S.K., Newsome, G.E. 1989. Evidence of demic structure for a population of yellow perch (*Perca flavescens*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. **46**: 184-190.
- Aalto, S.K., Newsome, G.E. 1990. Additional evidence supporting demic behaviour of a yellow perch (*Perca flavescens*) population. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **47**: 1959-1962.
- Almeida, J.A., Novelli, E.L.B., Dal Pai Silva, M., and Alves Júnior, R. 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Environ. Pollut. **114**: 169-175.
- Arnott, S.E., Yan, N.D. 2002. The influence of drought and re-acidification on zooplankton emergence from resting stages. Ecol. Appl. **12**: 138-153.
- Ash, R. 1980. Hydrolytic capacity of the trout (*Salmo gairdneri*) intestinal mucosa with respect to three specific dipeptides. Comp. Biochem. Physiol. **65B**: 173-176.
- Audet, D., Couture, P. 2003. Seasonal variation in tissue metabolic capacities of yellow perch (*Perca flavescens*) from clean and metal-contaminated environments. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **60**: 269-278.
- Bagatto, G., Alikhan, M.A. 1987. Copper, cadmium, and nickel accumulation in crayfish populations near copper-nickel smelters at Sudbury, Ontario, Canada. Bull. Env. Cont. Toxicol. **38**: 540-545.
- Bauermeister, A.E.M., Pirie, B.J.S., and Sargent, J.R. 1979. An electron microscopy study of lipid absorption in the pyloric caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed wax ester-rich zooplankton. Cell. Tis. Res. **200**: 475-486.

- Beamish, F.W.H. 1964. Respiration of fishes with special emphasis on standard oxygen consumption. II. Influence of weight and temperature on respiration of several species. *Can. J. Zool.* **42**: 177-188.
- Beamish, R.J. 1974. Loss of fish populations from unexploited remote lakes in Ontario, Canada as a consequence of atmospheric fallout of acid. *Wat. Res.* **8**: 85-95.
- Bélangier, F., Blier, P.U., and Dutil, J.-D. 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish. Physiol. Biochem.* **26**: 121-128.
- Bell, M.V., Dick, J.R., and Porter, A.E.A. 2003. Pyloric ceca are significant sites of newly synthesized 22:6n-3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids* **38**: 39-44.
- Bendell-Young, L.I., Harvey, H.H., and Young, J.F. 1986. Accumulation of cadmium by white suckers (*Catostomus commersoni*) in relation to fish growth and lake acidification. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**: 806-811.
- Bennett, P.M., Janz, D.M. 2007. Bioenergetics and growth of young-of the-year northern pike (*Esox lucius*) and burbot (*Lota lota*) exposed to metal mining effluent. *Ecotox. Environ. Saf.* **68**: 1-12.
- Benoit, D.A., Leonard, E.N. 1976. Toxic effects of cadmium on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Am. Fish. Soc.* **105**: 550-560.
- Benson, W.H., Birge, W.J. 1985. Heavy metal tolerance and metallothionein induction in fathead minnows: Results from field and laboratory investigations. *Env. Toxicol. Chem.* **4**: 209-217.
- Bergot, P., Blanc, J.M., and Escaffre, A.M. 1981. Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* **22**: 81-96.

- Bertolo, A., Magnan, P. 2005. The relationship between piscivory and growth of white sucker (*Catostomus commersoni*) and yellow perch (*Perca flavescens*) in headwater lakes of the Canadian Shield. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **62**: 2706-2715.
- Boisclair, D., Leggett, W.C. 1989. Among-population variability of fish growth: II. Influence of prey type. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**: 468-482.
- Borgmann, U., Norwierski, M., Grapentine, L.C., and Dixon, D.G. 2004. Assessing the causes of impacts on benthic organisms near Rouyn-Noranda, Quebec. *Environ. Pollut.* **129**: 39-48.
- Borgmann, U., Norwood, W.P. 2002. Metal bioavailability and toxicity through a sediment core. *Environ. Pollut.* **116**: 159-168.
- Borgmann, U., Norwood, W.P., Reynoldson, T.B., and Rosa, F. 2001. Identifying cause in sediment assessments: bioavailability and the Sediment Quality Triad. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 950-960.
- Bradley, R.W., Morris, J.R. 1986. Heavy metals in fish from a series of metal-contaminated lakes near Sudbury, Ontario. *Wat. Air Soil Pollut.* **27**: 341-354.
- Brodeur, J.C., Sherwood, G., Rasmussen, J.B., and Hontela, A. 1997. Impaired cortisol secretion in yellow perch (*Perca flavescens*) from lakes contaminated by heavy metals: in vivo and in vitro assessment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**: 2752-2758.
- Brungs, W.A. 1969. Chronic toxicity of zinc to the fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Trans. Am. Fish. Soc.* **98**: 272-279.
- Buddington, R.K., Diamond, J.M. 1987. Pyloric ceca of fish: A "new" absorptive organ. *Am. J. Phys.* **252**: G65-G76.
- Cairns Jr., J. 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience* **36**: 670-672.

- Calamari, D., Marchetti, R., and Vailati, G. 1980. Influence of water hardness on Cd toxicity to *Salmo gairdneri* Rich. Wat. Res. **14**: 1421-1426.
- Campbell, P.G.C., Stokes, P.M. 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **42**: 2034-2049.
- Campbell, P.G.C., Hontela, A., Rasmussen, J.B., Giguere, A., Gravel, A., Kraemer, L., Kovescs, J., Lacroix, A., Levesque, H., and Sherwood, G. 2003. Differentiating between direct (physiological) and food-chain mediated (bioenergetic) effects in fish in metal-impacted lakes. Hum. Ecol. Risk Assess. **9**: 847-866.
- Campbell, P.G.C., Kraemer, L.D., Giguere, A., Hare, L., and Hontela, A. 2008. Subcellular distribution of cadmium and nickel in chronically exposed wild fish: Inferences regarding metal detoxification strategies and implications for setting water quality guidelines for dissolved metals. Hum. Ecol. Risk Assess. **14**: 290-316.
- Carter, C.G., Houlihan, D.F., Brechin, J., and McCarthy, I.D. 1993. The relationships between protein intake and protein accretion, synthesis, and retention efficiency for individual grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). Can. J. Zool. **71**: 392-400.
- Carter, G.C., Seeto, G.S., Smart, A., Clarke, S., and van Barneveld, R.J. 1998. Correlates of growth in farmed juvenile southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* (Castelnau) Aquaculture **161**: 107-119.
- Cattaneo, A., Couillard, Y., Wunsam, S., and Courcelles, M. 2004. Diatom taxonomic and morphological changes as indicators of metal pollution and recovery in Lac Dufault (Québec, Canada). J. Paleolim. **32**: 163-175.
- Chapman, G.A. 1978. Toxicities of cadmium, copper, and zinc to four juvenile stages of chinook salmon. Trans. Am. Fish. Soc. **107**: 841-847.

- Chellappa, S., Huntingford, F.A., Strang, R.H.C. , and Thomson, R.Y. 1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *J. Fish. Biol.* **47**: 775-787.
- Clearwater, S.J., Baskin, S.J., Wood, C.M., and McDonald, D.G. 2000. Gastrointestinal uptake and distribution of copper in rainbow trout. *J. Exp. Biol.* **203**: 2455-2466.
- Clements, W.H., Rees, D.E. 1997. Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habits, and metal uptake of brown trout in the Arkansas River, Colorado. *Trans. Am. Fish. Soc.* **126**: 774-785.
- Collie, N.L. 1985. Intestinal nutrient transport in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and the effects of development, starvation and seawater adaptation. *J. Comp. Physiol.* **156B**: 163-174.
- Conlon, M., Gunn, J.M., and Morris, J.R. 1992. Prediction of lake trout (*Salvelinus namaycush*) presence in low-alkalinity lakes near Sudbury, Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 95-101.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Pellerin-Massicotte, J., and Auclair, J.C. 1995. 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.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., and Tessier, A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.* **38**: 299-313.

- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Tessier, A., Pellerin-Massicotte, J., and Auclair, J.C. 1995. Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. I. Temporal changes in metallothionein and metal (Cd, Cu, and Zn) concentrations in soft tissues. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **52**: 690-702.
- Couillard, Y., Courcelles, M., Cattaneo, A., and Wunsam, S. 2004. A test of the integrity of metal records in sediment cores based on the documented history of metal contamination in Lac Dufault (Quebec, Canada). *J. Paleolim.* **32**: 149-162.
- Couture, P., Rajotte, J.W. 2003. Morphometric and metabolic indicators of metal stress in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from Sudbury, Ontario: A review. *J. Environ. Monit.* **5**: 216-221.
- Couture, P., Busby, P., Gauthier, C., Rajotte, J.W., and Pyle, G. 2008. Seasonal and regional variations of metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. I. Factors influencing tissue metal concentrations. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **14**: 97-125.
- Couture, P., Dutil, J.-D., and Guderley, H. 1998. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 1591-1598.
- Couture, P., Kumar, P.R. 2003. Impairment of metabolic capacities in copper and cadmium contaminated wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquat. Toxicol.* **64**: 107-120.
- Couture, P., Pyle, G. 2008. Live fast and die young: Metal effects on condition and physiology of wild yellow perch from along two polymetallic contamination gradients. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **14**: 73-96.

- Couture, P., Rajotte, J.W., and Pyle, G. 2008. Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. Iii. Energetic and physiological indicators. Hum. Ecol. Risk Assess. **14**: 146-165.
- Cusimano, R.F., Brakke, D.F., and Chapman, G.A. 1986. Effects of pH on the toxicities of cadmium, copper, and zinc to steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. **43**: 1497-1503.
- de Boeck, G., Vlaeminck, A., and Blust R. 1997. Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. Arch. Environ. Contam. Toxicol. **33**: 415-422.
- de Schampelaere, K.A., Heijerick, D.G., and Janssen, C.R. 2002. Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*. Comp. Biochem. Physiol. **133C**: 243-58.
- Diamond, J. 1991. Evolutionary design of intestinal nutrient absorption: Enough but not too much. News Physiol. Sci. **6**: 92-96
- Dillon, P.J., Reid, R.A., and Girard, R. 1986. Changes in the chemistry of lakes near Sudbury, Ontario following reductions of SO₂ emissions. Wat. Air Soil Pollut. **31**: 59-65.
- Dixit, A.S., Dixit, S.S., and Smol, J.P. 1992. Long-term trends in lake water pH and metal concentrations inferred from diatoms and chrysophytes in three lakes near Sudbury, Ontario. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **49**: 17-24.
- Dutil, J.-D., Lambert, Y. 2000. Natural mortality from poor condition in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. **57**: 826-836.

- Dutil, J.-D., Lambert, Y., Guderley, H., Blier, P.U., Pelletier, D., and Desroches, M. 1998. Nucleic acids and enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) differing in condition and growth rate trajectories. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 788-795.
- Eastwood, S., Couture, P. 2002. Seasonal variations in condition and liver metal concentrations of yellow perch (*Perca flavescens*) from a metal-contaminated environment. *Aquat. Toxicol.* **58**: 43-56.
- Eaton, J.G., McKim, J.M., and Holcombe, G.W. 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species - I. Cadmium. *Bull. Env. Cont. Toxicol.* **19**: 95-103.
- Eaton, J.G. 1974. Chronic cadmium toxicity to the bluegill (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Trans. Am. Fish. Soc.* **103**: 729-735.
- Eisler, R. 1971. Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and other marine organisms. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **28**: 1225.
- Ellenberger, S.A., Baumann, P.C., and May, T.W. 1994. Evaluation of effects caused by high copper concentrations in Torch Lake, Michigan, on reproduction in yellow perch. *J. Great Lakes Res.* **20**: 531-536.
- Engelhard, G.H., Helno, M. 2006. Climate change and condition of herring (*Clupea harengus*) explain long-term trends in extent of skipped reproduction. *Oecologia* **149**: 593-603.
- Farag, A.M., Boese, C.J., Woodward, D.F., and Bergman, H.L. 1994. Physiological changes and tissue metal accumulation in rainbow trout exposed to foodborne and waterborne metals. *Env. Toxicol. Chem.* **13**: 2021-2029.
- Farag, A.M., Stansbury, M.A., Hogstrand, C., MacConnell, E., and Bergman, H.L. 1995. The physiological impairment of free-ranging brown trout exposed to metals in the Clark Fork River, Montana. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **52**: 2038-2050.

- Farag, A.M., Suedkamp, M.J., Meyer, J.S., Barrows, R., and Woodward, D.F. 2000. Distribution of metals during digestion by cutthroat trout fed benthic invertebrates contaminated in the Clark Fork River, Montana and Coeur d'Alene River, Idaho, U.S.A., and fed artificially contaminated *Artemia*. *J. Fish. Biol.* **56**: 173-190.
- Gagliano, M., McCormick, M.I. 2007. Maternal condition influences phenotypic selection on offspring. *J. Anim. Ecol.* **76**: 174-182.
- Gallon, C., Tessier, A., and Gobeil, C. 2006. Historical perspective of industrial lead emissions to the atmosphere from a Canadian smelter. *Environ. Sci. Technol.* **40**: 741-747.
- Gauthier, C., Campbell, P.G.C., and Couture, P. 2008. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Comp. Biochem. Physiol.* **151A**: 526-532.
- Gauthier, C., Couture, P., and Pyle, G.G. 2006. Metal effects on fathead minnows (*Pimephales promelas*) under field and laboratory conditions. *Ecotox. Environ. Saf.* **63**: 353-364.
- Giesy, J.P., Newell, A., and Laverse, G.J. 1983. Copper speciation in soft, acid, humic waters: effects on copper bioaccumulation by and toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Daphnidae). *Sci. Tot. Environ.* **28**: 12.
- Giguère, A., Campbell, P.G.C., Hare, L., and Cossu-Leguille, C. 2005. Metal bioaccumulation and oxidative stress in yellow perch (*Perca flavescens*) collected from eight lakes along a metal contamination gradient (Cd, Cu, Zn, Ni). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **62**: 563-577.
- Giguère, A., Campbell, P.G.C., Hare, L., and Couture, P. 2006. Sub-cellular partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in indigenous yellow perch (*Perca flavescens*) sampled along a polymetallic gradient. *Aquat. Toxicol.* **77**: 178-189.

- Giguère, A., Campbell, P.G.C., Hare, L., McDonald, D.G., and Rasmussen, J.B. 2004. Influence of lake chemistry and fish age on cadmium, copper, and zinc concentrations in various organs of indigenous yellow perch (*Perca flavescens*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **61**: 1702-1716.
- Giguère, A., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul Bernadette, and Pellerin, J. 2003. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. *Aquat. Toxicol.* **64**: 185-200.
- Glover, C.N., Hogstrand, C. 2002. *In vivo* characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. *J. Exp. Biol.* **205**: 141-150.
- Goolish, E.M., Adelman, I.R. 1987. Tissue-specific cytochrome oxidase activity in largemouth bass: The metabolic costs of feeding and growth. *Physiol. Zool.* **60**: 454-464.
- Guderley, H. 2004. Locomotor performance and muscle metabolic capacities: Impact of temperature and energetic status. *Comp. Biochem. Physiol.* **139B**: 371-382.
- Guderley, H., Dutil, J.-D., and Pelletier, D. 1996. The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: Estimates of growth rates under field conditions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**: 550-557.
- Gunn, J., Sein, R., Keller, B., and Becket, P. 2001. Liming of acid and metal contaminated catchments for the improvement of drainage water quality. *Wat. Air Soil Pollut.* **130**: 1439-1444.
- Gunn, J.M., Keller, W. 1984. *In situ* manipulation of water chemistry using crushed limestone and observed effects on fish. *Fisheries* **9**: 19-24.
- Gunn, J.M., Keller, W. 1990. Biological recovery of an acid lake after reductions in industrial emissions of sulphur. *Nature* **345**: 431-433.

- Handy, R.D., Sims, D.W., Giles, A., Campbell, H.A., and Musonda, M.M. 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. *Aquat. Toxicol.* **47**: 23-41.
- Hare, L., Carignan, R., and Huerta-Diaz, M.A. 1994. A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertebrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.* **39**: 1653-1668.
- Hare, L., Tessier, A. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* **380**: 430-432.
- Hayes, D.B., Taylor, W.W., and Schneider, J.C. 1992. Response of yellow perch and the benthic invertebrate community to a reduction in the abundance of white suckers. *Trans. Am. Fish. Soc.* **121**: 36-53.
- Heijerick, D.G., De Schamphelaere, K.A., and Janssen, C.R. 2002. Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: possibilities and limitations. *Comp. Biochem. Physiol.* **133C**: 207-18.
- Henderson, B.A., Wong, J.L., and Nepszy, S.J. 1996. Reproduction of walleye in Lake Erie: Allocation of energy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**: 127-133.
- Holcombe, G.W., Benoit, D.A., and Leonard, E.N. 1979. Long-term effects of zinc exposures on brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Am. Fish. Soc.* **108**: 76-87.
- Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., and Wood, C.M. 2000. Effects of long term sublethal Cd exposure in rainbow trout during soft water exposure: implications for biotic ligand modelling. *Aquat. Toxicol.* **51**: 93-105.
- Houlihan, D.F., Hall, S.J., Gray, C., and Noble, B.S. 1988. Growth rates and protein turnover in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **45**: 951-964.

- Hutchinson, N.J., Sprague, J.B. 1986. Toxicity of trace metal mixtures to american flagfish (*Jordanella floridae*) in soft, acidic water and implications for cultural acidification. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **43**: 647-655.
- Iles, A.C., Rasmussen, J.B. 2005. Indirect effects of metal contamination on energetics of yellow perch (*Perca flavescens*) resulting from food web simplification. Freshw. Biol. **50**: 976-992.
- Kamunde, C.N., Grosell, M., Lott, J.N.A., and Wood, C.M. 2001. Copper metabolism and gut morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic sublethal copper exposure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **58**: 293-305.
- Kaufman, S.D., Gunn, J.M., Morgan, G.E., and Couture, P. 2006. Muscle enzymes reveal walleye (*Sander vitreus*) are less active when larger prey (cisco, *Coregonus artedii*) are present. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **63**: 970-979.
- Keller, W., Pitblado, J.R. 1986. Water quality changes in Sudbury area lakes: A comparison of synoptic surveys in 1974-1976 and 1981-1983. Wat. Air Soil Pollut. **29**: 285-296.
- Keller, W., Pitblado, J.R., and Carborne, J. 1992. Chemical responses of acidic lakes in the Sudbury, Ontario, area to reduced smelter emissions, 1981-89. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **49**: 25-32.
- Kiessling, A., Storebakken, T., Asfard, T., Andersson, I.L., and Kiessling, K.-H. 1989. Physiological changes in muscle of rainbow trout fed different ration levels. Aquaculture **79**: 293-301.
- Kovecses, J., Sherwood, G.D., and Rasmussen, J.B. 2005. Impacts of altered benthic invertebrate communities on the feeding ecology of yellow perch (*Perca flavescens*) in metal-contaminated lakes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **62**: 153-162.

- Kraemer, L.D., Campbell, P.G.C., and Hare, L. 2005a. Dynamics of Cd, Cu and Zn accumulation in organs and sub-cellular fractions in field transplanted juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) Environ. Pollut. **138**: 324-337.
- Kraemer, L.D., Campbell, P.G.C., and Hare, L. 2005b. A field study examining metal elimination kinetics in juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). Aquat. Toxicol. **75**: 108-126.
- Kraemer, L.D., Campbell, P.G.C., and Hare, L. 2006. Seasonal variations in hepatic Cd and Cu concentrations and in the sub-cellular distribution of these metals in juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). Environ. Pollut. **142**: 313-325.
- Kraemer, L.D., Campbell, P.G.C., and Hare, L. 2008. Modeling cadmium accumulation in indigenous yellow perch (*Perca flavescens*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. **65**: 1623-1634.
- Kraemer, L.D., Campbell, P.G.C., and Hare, L.A.J.-C. 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.
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comp. Biochem. Physiol. **141A**: 450-460.
- Lacasse, S., Magnan, P. 1992. Biotic and abiotic determinants of the diet of brook trout, *Salvelinus fontinalis*, in lakes of the Laurentian Sheild. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **49**: 1001-1009.
- Laflamme, J.-S., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., and Hontela, A. 2000. Interrenal metallothionein and cortisol secretion in relation to Cd, Cu, and Zn exposure in yellow perch, *Perca flavescens*, from Abitibi lakes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **57**: 1692-1700.

- Lambert, Y., Dutil, J.-D. 1997. Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*)? Can. J. Fish. Aquat. Sci. **54 (Suppl. 1)**: 104-112.
- Lambert, Y., Dutil, J.-D., and Munro, J. 1994. Effects of intermediate and low salinity conditions on growth rate and food conversion of Atlantic cod (*Gadus morhua*) Can. J. Fish. Aquat. Sci. **51**: 1569-1576.
- Laurén, D.J., McDonald, D.G. 1987a. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Biochemistry. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **44**: 105-111.
- Laurén, D.J., McDonald, D.G. 1987b. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Physiology. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **44**: 99-104.
- Leis, A.L., Fox, M.G. 1994. Effect of mine tailings on the in situ survival of walleye (*Stizostedion vitreum*) eggs in a northern Ontario river. Ecoscience **1**: 215-222.
- Leis, A.L., Fox, M.G. 1996. Feeding, growth and habitat associations of young-of-year walleye (*Stizostedion vitreum*) in a river affected by a mine tailings spill. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **53**: 2408-2417.
- Lemieux, H., Blier, P., and Dutil, J.-D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in Atlantic cod (*Gadus morhua*)? Fish. Physiol. Biochem. **20**: 293-303.
- Lemieux, H., le François, N.R., and Blier, P.U. 2003. The early ontogeny of digestive and metabolic enzyme activities in two commercial strains of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) J. Exp. Zool. **299A**: 151-160.
- Levesque, H.M., Moon, T.W., Campbell, P.G.C., and Hontela, A. 2002. Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. Aquat. Toxicol. **60**: 257-267.

- Levesque, H.M., Dorval, J., Hontela, A., Van Der Kraak, G., and Campbell, P.G.C. 2003. Hormonal, morphological, and physiological responses of yellow perch (*Perca flavescens*) to chronic environmental metal exposures. *J. Toxicol. Environ. Health* **66A**: 657-676.
- Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I., and Leveille, G.A. 1977. Influence of dietary lipid on lipogenic enzyme activities in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *J. Nutr.* **107**: 846-854.
- Lippert, K.A., Gunn, J.M., and Morgan, G.E. 2007. Effects of colonizing predators on yellow perch (*Perca flavescens*) populations in lakes recovering from acidification and metal stress. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **64**: 1413-1428.
- Luoma, S.N., Rainbow, P.S. 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environ. Sci. Technol.* **39**: 1921-1931.
- Mackereth, R.W., Noakes, D.L.G., and Ridgway, M.S. 1999. Size-based variation in somatic energy reserves and parental expenditure by male smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*. *Environ. Biol. Fishes* **56**: 263-275.
- Magnan, P., Stevens, E.D. 1993. Pyloric caecal morphology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in relation to diet. *Environ. Biol. Fishes* **36**: 205-210.
- Mallory, M.L., McNicol, D.K., Cluis, D.A., and Laberge, C. 1998. Chemical trends and status of small lakes near Sudbury, Ontario, 1983-1995: evidence of continued chemical recovery. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 63-75.
- Mann, G.J., McCart, P.J. 1981. Comparison of sympatric dwarf and normal populations of least cisco (*Coregonus sardinella*) inhabiting Trout Lake, Yukon Territory. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **38**: 240-244.

- Mathers, E.M., Houlihan, D.F., and Cunningham, M.J. 1992. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: Growth-rate estimates of open-sea fish. *Mar. Biol.* 363-369.
- McCarter, J.A., Roch, M. 1984. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper - III. Kinetics of metabolism of metallothionein. *Comp. Biochem. Physiol.* **77C**: 83-87.
- McFarlane, G.A., Franzin, W.G. 1980. An examination of Cd, Cu, and Hg concentrations in livers of northern pike, *Esox lucius*, and white sucker, *Catostomus commersoni*, from five lakes near a base metal smelter at Flin Flon, Manitoba. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **37**: 1573-1578.
- McKim, J.M., Eaton, J.G., and Holcombe, G.W. 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish - II: Copper. *Bull. Env. Cont. Toxicol.* **19**: 608-616.
- McPherson, T.D., Mirza, R.S., and Pyle, G.G. 2004. Responses of wild fishes to alarm chemicals in pristine and metal-contaminated lakes. *Can. J. Zool.* **82**: 694-700.
- Méndez, G., Weiser, W. 1993. Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutilus rutilus* (Teleostei: Cyprinidae). *Environ. Biol. Fishes* **36**: 73-81.
- Meyer, J.S., Santore, R.C., Bobbitt, J.P., Debrey, L.D., Boese, C.J., Paquin, P.R., Allen, H.E., Bergman, H.L., and Di Toro, D.M. 1999. Binding of nickel and copper to fish gills predicts toxicity when water hardness varies, but free-ion activity does not. *Environ. Sci. Technol.* **33**: 913-916.
- Miller, P.A., Munkittrick, K.R., and Dixon, D.G. 1992. Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissues of white sucker (*Catostomus commersoni*) at metal-contaminated sites. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 978-984.

- Mommsen, T.P., Osachoff, H.L., and Elliott, M.E. 2003. Metabolic zonation in teleost gastrointestinal tract. *J. Comp. Physiol.* **173B**: 409-418.
- Mount, D.I., Stephan, C.E. 1969. Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **26**: 2449-2457.
- Mount, D.I. 1968. Chronic toxicity of copper to fathead minnows (*Pimephales promelas*, Rafinesque). *Wat. Res.* **2**: 215-233.
- Munkittrick, K.R., Dixon, D.G. 1988. Growth, fecundity, and energy stores of white sucker (*Catostomus commersoni*) from lakes containing elevated levels of copper and zinc. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **45**: 1355-1365.
- Munkittrick, K.R., Miller, P.A., Barton, D.R., and Dixon, D.G. 1991. Altered performance of white sucker populations in the Manitouwadge chain of lakes is associated with changes in benthic macroinvertebrate communities as a result of copper and zinc contamination. *Ecotox. Environ. Saf.* **21**: 318-26.
- Nelson, J.A., Magnuson, J.J. 1992. Metabolic stores of yellow perch (*Perca flavescens*): Comparison of population from an acidic, dystrophic lake and circumneutral, mesotrophic lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 5474-5482.
- Niva, T. 1999. Relations between diet, growth, visceral lipid content and yield of stocked brown trout in three small lakes in northern Finland. *Ann. Zool. Fennici* **36**: 103-120.
- Nriagu, J.O., Wong, H.K., Lawson, G., and Daniel, P. 1998. Saturation of ecosystems with toxic metals in Sudbury basin, Ontario, Canada. *Sci. Tot. Environ.* **223**: 99-117.
- Nriagu, J.O., Rao, S.S. 1987. Response of lake sediments to changes in trace metal emission from the smelters at Sudbury, Ontario. *Environ. Pollut.* **44**: 211-218.

- Ozoh, P.T.E. 1979. Malformations and inhibitory tendencies induced to *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) eggs and larvae due to exposures in low concentrations of lead and copper ions. *Bull. Env. Cont. Toxicol.* **21**: 668-675.
- Pagenkopf, G.K. 1983. Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: Role of complexation, pH, and water hardness. *Environ. Sci. Toxicol.* **14**: 342-347.
- Pangle, K.L., Sutton, T.M., Kinnunen, R.E., and Hoff, M.H. 2004. Overwinter survival of juvenile lake herring in relation to body size, physiological condition, energy stores and food ration. *Trans. Am. Fish. Soc.* **133**: 1235-1246.
- Paquin, P.R., Zoltay, V., Winfield, R.P., Wu, K.B., Mathew, R., Santore, R.C., and Di Toro, D.M. 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.* **133C**: 305-43.
- Pärt, P., Svanberg, O., and Kiessling, A. 1985. The availability of cadmium to perfused rainbow trout gills in different water qualities. *Wat. Res.* **19**: 427.
- Pelletier, D., Dutil, J.-D., Blier, P., and Guderley, H. 1994. Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *J. Comp. Physiol.* **164B**: 179-190.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D. 1993. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? *Fish. Physiol. Biochem.* **12**: 83-93.
- Pelletier, D., Blier, P.U., Dutil, J.-D., and Guderley, H. 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *J. Exp. Biol.* **198**: 1493-1497.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D. 1993. Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*) *J. Exp. Zool.* **265**: 477-487.

- Perceval, O., Couillard, Y., Pinel-Alloul, B., Bonneris, E., and Campbell, P.G.C. 2006 . Long-term trends in accumulated metals (Cd, Cu and Zn) and metallothionein in bivalves from lakes within a smelter-impacted region. *Sci. Tot. Environ.* **369**: 403-418.
- Perceval, O., Couillard, Y., Pinel-Alloul, B., Giguere, A., and Campbell, P.G.C. 2004. Metal-induced stress in bivalves living along a gradient of Cd contamination: Relating sub-cellular metal distribution to population-level responses. *Aquat. Toxicol.* **39**: 327-345.
- Persson, L., Byström, P., Wahlström, E., Andersson, J., and Hjelm, J. 1999. Interactions among size-structured populations in a whole-lake experiment: Size- and scale-dependent processes. *Oikos* **87**: 139-156.
- Pickering, Q., Brungs, W., and Gast, M. 1977. Effect of exposure time and copper concentration on reproduction of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Wat. Res.* **11**: 1079-1083.
- Pickering, Q.H., Gast, M.H. 1972. Acute and chronic toxicity of cadmium to the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* **29**: 1099-1106.
- Playle, R.C., Dixon, D.G., and Burnison, K. 1993. Copper and cadmium binding to fish gills: Estimates of metal-gill stability constants and modelling of metal accumulation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **50**: 2678-2687.
- Playle, R.C., Gensemer, R.W., and Dixon, D.G. 1992. Copper accumulation on gills of fathead minnows: Influence of water hardness, complexation and pH of the gill micro-environment. *Env. Toxicol. Chem.* **11**: 381-391.
- Post, J.R., McQueen, D.J. 1994. Variability in first-year growth of yellow perch (*Perca flavescens*): Predictions from a simple model, observations, and an experiment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **51**: 2501-2512.

- Post, J.R., Parkinson, E.A. 2001. Energy allocation in young fish: Allometry and survival. *Ecology* **82**: 1040-1051.
- Ptashynski, M.D., Pedlar, R.M., Evans, R.E., Baron, C.L., and Klaverkamp, J.F. 2002. Toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* **58**: 229-247.
- Ptashynski, M.D., Pedlar, R.M., Evans, R.E., Wautier, K.G., Baron, C.L., and Klaverkamp, J.F. 2001. Accumulation, distribution and toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) and lake trout, (*Salvelinus namaycush*). *Comp. Biochem. Physiol.* **130C**: 145-162.
- Pyle, G.G., Busby, P., Gauthier, C., Rajotte, J.W., and Couture, P. 2008. Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. II. Growth patterns, longevity, and condition. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **14**: 126-145.
- Pyle, G.G., Rajotte, J.W., and Couture, P. 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotox. Environ. Saf.* **61**: 287-312.
- Radi, A.A.R., Matkovics, B. 1988. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* **90C**: 69-72.
- Rajotte, J.W., Couture, P. 2002. Effects of environmental metal contamination on the condition, swimming performance, and tissue metabolic capacities of wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**: 1296-1304.
- Rennie, M.D., Collins, N.C., Shuter, B.J., Rajotte, J.W., and Couture, P. 2005. A comparison of methods for estimating activity costs of wild fish populations: More active fish observed to grow slower. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **62**: 767-780.

- Roch, M., McCarter, J.A. 1984a. Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) - I. Exposed to an artificial mixture of zinc, copper and cadmium. *Comp. Biochem. Physiol.* **77C**: 71-75.
- Roch, M., McCarter, J.A. 1984b. Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) - II. Held in a series of contaminated lakes. *Comp. Biochem. Physiol.* **77C**: 77-82.
- Santore, R.C., Mathew, R., Paquin, P.R., and DiToro, D. 2002. Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow, and *Daphnia magna*. *Comp. Biochem. Physiol.* **133C**: 271-85.
- Scherer, E., McNichol, R.E., and Evans, R.E. 1997. Impairment of lake trout foraging by chronic exposure to cadmium: a black-box experiment. *Aquat. Toxicol.* **37**: 1-7.
- Scudder, B.C., Carter, J.L., and LeLand, H.V. 1988. Effects of copper on development of the fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Aquat. Toxicol.* **12**: 107-124.
- Shaw, T.L., Brown, V.M. 1971. Heavy metals and the fertilization of rainbow trout eggs. *Nature* **230**: 251.
- Sheridan, M.A. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* **107B**: 495-508.
- Sherwood, G.D., Rasmussen, D.J., Rowan, D.J., Brodeur, J., and Hontela, A. 2000. Bioenergetic costs of heavy metal exposure in yellow perch (*Perca flavescens*): in situ estimates with a radiotracer (¹³⁷Cs) technique. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**: 441-450.
- Sherwood, G.D., Kovacs, J., Hontela, A., and Rasmussen, J.B. 2002a. Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**: 1-5.

- Sherwood, G.D., Pazzia, I., Moeser, A., Hontela, A., and Rasmussen, J.B. 2002b. Shifting gears: Enzymatic evidence for the energetic advantage of switching diet in wild-living fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**: 229-241.
- Shimero, S., Shikata, T., Hosokawa, H., Masumoto, T., and Kheyyali, D. 1997. Metabolic response to feeding rates in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* **151**: 371-377.
- Skidmore, J.F. 1966. Resistance to zinc sulphate of zebrafish (*Brachydanio rerio*) embryos after removal or rupture of the outer egg membrane. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **23**: 1037-1041.
- Skidmore, J.F. 1970. Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate. *J. Exp. Biol.* **52**: 481-494.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Gernanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D. , Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., and Klenk, D. C. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150, 76-85. 85.
- Sogard, S.M., Olla, B.L. 2000. Endurance of simulated winter conditions by age-0 walleye pollock: Effects of body size, water temperature and energy stores. *J. Fish. Biol.* **56**: 1-21.
- Soofiani, N.M., Hawkins, A.D. 1982. Energetic costs at different levels of feeding in juvenile cod, *Gadus morhua* L.. *J. Fish. Biol.* **21**: 577-592.
- Stevens, E.D., Wagner, G.N., and Sutterlin, A. 1999. Gut morphology in growth hormone transgenic Atlantic salmon. *J. Fish. Biol.* **55**: 517-526.
- Sullivan, J.F., Atchison, G.J., Kolar, D.J., and McIntosh, A.W. 1978. Changes in the predator-prey behavior of fathead minnows (*Pimephales promelas*) and largemouth bass (*Micropterus salmoides*) caused by cadmium. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **35**: 446-451.

- Taylor, L.N., McFarlane, W.J., Pyle, G.G., Couture, P., and McDonald, D.G. 2004. Use of performance indicators in evaluating chronic metal exposure in wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquat. Toxicol.* **67**: 371-385.
- Tessier, A., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., and Auclair, J.C. 1993. Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnology and Oceanography* **38**: 1-17.
- Ulla, O., Gjedrem, T. 1985. Number and length of pyloric caeca and their relationship to fat and protein digestibility in rainbow trout. *Aquaculture* **47**: 105-111.
- Vinikour, W.S., Goldstein, R.M., and Anderson, R.V. 1980. Bioconcentration patterns of zinc, copper, cadmium and lead in selected fish species from the Fox River, Illinois. *Bull. Env. Cont. Toxicol.* **24**: 727-734.
- Waiwood, K.G., Beamish, F.W.H. 1978. Effects of copper, pH and hardness on the critical swimming performance of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Wat. Res.* **12**: 611-619.
- Wang, D., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., and Jolicoeur, P. 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.
- Weatherley, A.H., Gill, H.S. 1981. Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Biol.* **18**: 195-208.
- Weatherley, A.M., Gill, H.S. 1983. Relative growth of tissues at different somatic growth rates in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Biol.* **22**: 43-60.

- Winterhalder, K. 1995. Early history of human activities in the Sudbury area and ecological damage to the landscape. *Dans* Restoration and recovery of an industrial region: Progress in restoring the smelter-damaged landscape near Sudbury, Canada. *Édité par* Gunn, J.M. Springer, New York pp. 17-31.
- Woodward, D.F., Brumbaugh, W.G., DeLonay, A.J., Little, E.E., and Smith, C.E. 1994. Effects on rainbow trout fry of a metals-contaminated diet of benthic invertebrates from the Clark Fork River, Montana. *Trans. Am. Fish. Soc.* **123**: 51-62.
- Wren, C.D., MacCrimmon, H.R., and Loescher, B.R. 1983. Examination of bioaccumulation and biomagnification of metals in a precambrian shield lake. *Wat. Air Soil Pollut.* **19**: 277-291.
- Yan, N.D., Girard, R.E., et Lafrance, C.J. 1979. Survival of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in submerged enclosures in lakes treated with neutralizing agents near Sudbury, Ontario. Ontario Ministry of the Environment. LTS 79-2. 29 p.

Partie II **Articles Scientifiques.**

1.1 Article 1.

GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. 2008. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Comp. Biochem. Phys.*, vol. 151A, p. 526-532.

Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*).

Charles Gauthier^{*#}, Peter G.C. Campbell*, Patrice Couture*

***: Institut national de la recherche scientifique : Centre eau, terre et environnement
Québec, QC, Canada**

#: Corresponding author:

**Institut national de la recherche scientifique : Centre eau, terre et environnement
490 rue de la Couronne
Quebec, QC
G1K 9A9
Canada
Email: c_gaut@yahoo.ca
Tel: 418-660-4321
Fax: 418-654-2600**

Abstract

This study on yellow perch (*Perca flavescens*) examines a series of enzymatic markers and the relative weights of pyloric caeca and visceral lipids, their response to changes in feeding regime and their potential to infer recent changes in growth rate and fish condition. Fish were exposed to four different feeding regimes for 12 weeks resulting in specific growth rates ranging from 0.3% to 3.5%. Growth and condition responded rapidly to changes in diet and the weight of pyloric caeca and visceral lipids reflected increases in diet intake. Growth rate was correlated with muscular citrate synthase and caecal nucleoside diphosphate kinase activities, whereas condition was correlated with muscular citrate synthase and lactate dehydrogenase activities and with caecal glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. Results showed that enzyme activities and biometric parameters responded rapidly to an increase in dietary regime, but that the reaction to a reduction in diet was much less rapid. Plateaus were attained for both condition and visceral lipid index, but the relative weight of pyloric caeca continued to increase throughout the experimental period. Results from this study could be used to infer recent growth and energetic status in wild yellow perch and provide an indicator of food availability in their environment.

Keywords: *Perca flavescens*, enzymes, growth, growth indicators, condition, pyloric caeca, visceral lipids

Introduction

A fish's growth rate is a reflection of its health as well as the quality of its environment. The most common measure of growth rate in wild fish is length (or weight) at age, where age is determined using annular growth in calcified structures, providing information on an annual time scale. Unfortunately, the study of fish growth rates in the wild is often limited by our inability to determine growth rates on shorter time scales. Being able to measure short-term changes in growth rates is very pertinent since many of the factors that influence growth fluctuate on times scales measured in months or weeks. Examples include seasonal environmental changes such as temperature and food abundance as well as the reproductive status of the fish. Another important metric that varies on short time scales is fish condition, the ratio between fish weight and length. Fish condition is correlated with a fishes accumulated energy reserves (Chellappa et al., 1995; Lambert et Dutil, 1997) which can have an important impact on a fishes survival or reproductive success.

A limited number of studies have examined correlates of short-term growth in lab-raised fish. Experiments performed on the Atlantic cod (*Gadus morhua*) have linked intestinal aerobic metabolism to growth rates (Pelletier et al., 1994; Dutil et al., 1998; Couture et al., 1998) whereas muscular lactate dehydrogenase (LDH) activity has been linked to fish condition (Guderley et al., 1996; Dutil et al., 1998; Couture et al., 1998). Another study examined several ways to express enzyme activities and proposed that protein or DNA corrected activities were more useful than weight normalized activities for inferring changes in enzyme activities in response to changes in growth rate (Pelletier et al., 1995).

Our study used these previous publications on Atlantic cod as a guide to examine a very different species of fish, the yellow perch (*Perca flavescens*). Adult Atlantic cod are a large benthopelagic saltwater fish inhabiting the northern Atlantic. They primarily store their lipid reserves in the liver and feed intermittently on large meals. In contrast, yellow perch are a freshwater fish of small size that mainly inhabit littoral zones. They feed continuously and store their lipids in adipose tissue surrounding the intestinal tract. Their ubiquity across North America and their importance as a prey species also make yellow perch a particularly relevant species with which to study correlates of recent growth.

To examine relationships among enzymatic and biometric parameters, we manipulated the dietary regime of yellow perch for a period of twelve weeks in such a way as to produce 4

different growth trajectories with specific growth rates (%/d) ranging from ~0.3%/d to ~3.5%/d. The activities of several enzymes from various metabolic pathways in the white muscle and pyloric caeca were examined. In white muscle we examined the activities of pyruvate kinase (PK), which is implicated in glycolysis, LDH, an indicator of anaerobic metabolism, citrate synthase (CS), part of the Krebs cycle, cytochrome c oxidase (CCO), which is the last enzyme complex of the electron transport chain, and nucleoside diphosphate kinase (NDPK) an enzyme involved in protein anabolism. In the pyloric caeca we examined CS, CCO, NDPK and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), the latter generating reducing agents required in fatty acid production. Changes in specific growth rate (SGR), condition and food conversion efficiency (FCE) were tracked over the course of the experiment, whereas relative weights of pyloric caeca and the visceral lipid index (VLI) were recorded at the end of the feeding experiments.

The primary objective of this study was to determine the best parameters for inferring recent changes in growth rate and fish condition. We hypothesized that the enzymes involved in energy production (CCO, CS) and anabolism (G6PDH, NDPK) would exhibit increased activities in response to increasing growth rate. Enzymes that are a reflection of the energetic status of the fish (G6PDH, LDH and PK) should also increase with increasing condition. However, after a period of rapid growth, we expected that a return to a maintenance diet should not lead to reduced activities of these enzymes. While the cost of protein synthesis in starved fish ranges from 11% to 24% of the total oxygen consumption (Houlihan et al., 1988; Carter et al., 1993) representing a significant portion of the daily energy requirements, perch in this study were returned to a maintenance diet that should have provided sufficient energy resources to maintain increased tissue mass and enzyme activities. Furthermore, fish exposed to prolonged period of starvation have been shown to change their behaviour, reducing energy expenditures associated with activity, to avoid reducing energy expenditures associated with maintenance metabolism (Méndez et Weiser, 1993).

A second objective was to examine how the relative weights of the pyloric caeca and visceral lipids respond to changes in dietary regime. These two tissues have rarely been examined in yellow perch and not within the context of controlled feeding experiments. Pyloric caeca are hollow, finger like projections of the intestinal tissue, located immediately posterior to the pyloric valve that regulates the movement of food from the stomach to the intestine. The primary role of pyloric caeca in fish is to increase the surface area in contact with the diet, thereby

increasing the capacity to digest and assimilate food (Buddington et Diamond, 1987). Several studies have also shown that pyloric cæca respond to changes in dietary intake by similarly changing their weight (Bélanger et al., 2002; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005) and increased pyloric cæcum weight has been correlated with higher food conversion efficiency and growth rate (Bergot et al., 1981; Magnan et Stevens, 1993; Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005). Visceral lipids on the other hand are an accumulation of adipose cells surrounding the intestinal tract of fish. They are a reflection of the accumulated energy reserves (Nelson et Magnuson, 1992) and an indicator of reproductive potential (Henderson et al., 1996; Mackereth et al., 1999) and survival (Niva, 1999). Being energy stores, visceral lipids should be correlated with fish condition and since energy stores are derived from ingested food, we also expect that the relative weight of pyloric cæca should be correlated with the visceral lipid index.

Materials and Methods

Experimental fish

Young of the year yellow perch were purchased from Kinmount Fish Farms (Kinmount, ON), transported to the Parc Aquarium du Québec (Québec City, QC) and placed in a 1 m³ circular tank with a continual flow of treated water from the St-Lawrence River. They were kept for a period of 2 months and fed daily a ration of frozen brine shrimp at a rate of approximately 2% body weight per day. After this period the perch were transferred into 38 L glass aquariums supplied from the same water source and kept under flow-through conditions for the duration of the experiment. Twelve aquariums received 8 perch and four aquariums received 10 perch that were acclimated to the experimental setup for 2 weeks and fed commercial trout pellets at a ration of 2% body weight per day. At the end of the acclimation period the aquariums containing 8 fish had their numbers reduced to 6 fish per aquarium. The sacrificed fish were used to determine a baseline for the physiological parameters, before the implementation of experimental feeding regimes. We expected higher levels of mortality in the aquarium on a maintenance diet, which is why the higher stocking was maintained in the aquariums with 10 fish.

An outbreak of bacterial fin rot occurred during the acclimation period, which was treated by adding 1.25‰ marine salt to the aquariums. This treatment continued through the second week of the experimental period (total treatment time of 4 weeks) and was done in all tanks, even if the fish did not show visible signs of fin rot. A total of 12 mortalities occurred during treatment in the various aquariums; of those only 6 occurred during the experimental period (~5%). At the end of the treatment period, there were no remaining signs of fin rot, the fish appeared healthy, displayed behaved normally and were feeding normally, although the caudal fin on some fish was damaged. For this reason, we measured standard length during the experimental period, a metric that does not include the caudal fin.

At the end of the acclimation period, as well as every two weeks during the experimental period, fish were weighed (± 0.01 g) and their standard length determined (± 1 mm). At each weighing, the fish were calmed in a buffered solution of 10 mg/L MS222 to minimize stress. During the 12 week experimental period, the perch were subjected to different dietary regimes. In the aquariums with 10 fish, perch were fed at 0.5% body weight per day for the entire 12 weeks and are designated the Staple (S) treatment. The twelve aquariums with 6 perch were divided into three experimental groups of 4 aquariums. In the Maximum (M) treatment, perch

were fed at 3% body weight per day for the entire 12 weeks. The other two treatments alternated the M and S feeding regimes. In the MS treatment, perch were fed at 3% for the first 6 weeks and at 0.5% for the final 6 weeks. Fish in the SM treatment received the opposite regime, 0.5% for the first 6 weeks and 3% for the final six weeks.

At the end of the 12 week experimental period, perch were calmed in buffered MS222 (10 mg/L), killed by a blow to the head, weighed (± 0.01 g) and their standard length determined (± 1 mm). White muscle samples were taken near the dorsal fin on the left side of the fish, complete gastro-intestinal (GI) tracts were removed and the pyloric caeca were dissected from the GI tract. Muscle samples and pyloric caeca were flash frozen in liquid nitrogen and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for later enzyme analyses. The GI tract and fish carcasses were frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ to preserve them for later manipulation. Visceral lipids were separated from the thawed GI tracts and weighed (± 0.1 mg). White muscle weight was determined by dissecting the entire white muscle on the right side of the fish and multiplying by two.

Biometric calculations

A series of calculations were performed to determine condition and visceral lipid indices for each fish as well as growth rate and food conversion efficiency for each aquarium. Fish condition is a measure of robustness and is a ratio between length and weight. Fulton's condition factor (FCF), calculated as $(\text{weight} / \text{length}^3) \times 1000$, was used in this experiment. It should be noted that since we used standard length to calculate condition, this will cause a small bias when compared to other measurements of FCF in perch which typically use total length. The visceral lipid index (VLI) was calculated as $(\text{visceral lipid weight} / \text{fish weight}) \times 100$. Specific growth rate was calculated as $(\ln(\text{Initial weight} / \text{Final weight}) / \text{elapsed days}) \times 100$ to give the percent weight gain per day. Food conversion efficiency (FCE) was calculated as $((\text{Food consumed} / \text{Weight gain}) / \text{elapsed days}) \times 100$ to give the percentage of food converted into body weight per day. Since all food was consumed at each feeding, no corrections were required for uneaten food.

An allometric correction was used to correct the weight of the pyloric caeca of each fish. Since the increase in pyloric caecum weight was not linearly correlated with the increase in total fish weight (best fit was a second order polynomial function), the use of an allometric correction is more appropriate than a simple % body weight index. The equation used to correct the weight was $((\text{fish weight} / \text{mean weight})^{\text{slope}}) \times \text{caecum weight}$, where "mean weight" is the mean fish

weight for the dataset (10.75 g in this case) and "slope" is the slope of the logarithmic relationship between fish weight and cæcum weight (1.0523 for this dataset). The cæcum weight was corrected for each fish and statistical analyses were performed on corrected cæcum weight.

Enzyme analyses

All chemicals were purchased from Sigma-Aldrich Canada except thymidine diphosphate (TDP) which was purchased from Plenum Scientific Research Inc. Tissues were homogenized in ice-cold buffer for three bursts of 20 seconds using an Ultra Turrax T25 tissue homogeniser. Homogenization conditions were pH 7.5, 20 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-ethanesulfonic acid), 1 mM ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA), 0.1% Triton X-100. Homogenization of pyloric cæca also included 1 mM phenylmethane-sulfonyl fluoride (PMSF).

Enzymes were measured on a Varian Cary 100 Bio spectrophotometer using a 6x6 multi cell block, maintained at a temperature of 20°C. Reactions were measured for 5 minutes and a linear portion of at least 3 minutes was used to calculate reaction rates. Reaction conditions for the various enzymes were as follows.

CCO: Phosphate buffer 100 mM, pH 7.0, Cytochrome C 0.07 mM, 0.33% potassium ferricyanide in blanks. (EC#: 1.9.3.1)

CS: Phosphate buffer 100 mM, pH 8.0, Trizma base 100 mM, Dithiobis(2-nitrobenzoic acid (DTNB) 0.1 mM, Acetyl CoA 0.1 mM, Oxaloacetate 0.3 mM (omitted in controls). (EC#: 2.3.3.1)

G6PDH: Imidazole buffer (Imidazole 50 mM, MgCl₂ 25 mM, KCl 70 mM), pH 7.5, β-Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) 0.3 mM, Glucose-6-Phosphate 200 mM (omitted in controls). (EC#: 1.1.1.49)

LDH: Phosphate buffer 100 mM, pH 7.0, β-Nicotinamide adenine dinucleotide (β-NADH) 0.16 mM, Pyruvate 0.5 mM. (EC#: 1.1.1.27)

NDPK: Imidazole buffer (Imidazole 50 mM, MgCl₂ 20 mM, KCl 70 mM), pH 7.5, β-NADH 0.24 mM, adenosine triphosphate (ATP) 2 mM, Phospho(enol)pyruvic acid (PEP) 1.1 mM, TDP 70 mM (omitted in controls), LDH and PK in excess. (EC#: 2.7.4.6)

PK: Imidazole buffer (Imidazole 50 mM, MgCl₂ 20 mM, KCl 70 mM), pH 7.5, β-NADH 0.16 mM, adenosine diphosphate (ADP) 20 mM, PEP 500 mM (omitted in controls), LDH in excess. (EC#: 2.7.1.40)

Proteins: Proteins in homogenised tissues were degraded using a 10M urea solution containing 2.3% acetic acid and dosed using the bicinchoninic acid assay (Smith *et al.* 1985).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the JMP 5.0 (SAS Institute) software package. All data were examined for normality and where non-normal, \log_{10} transformed data were used for statistical analyses. Comparisons between two means were done using ANOVA, whereas multiple comparisons among treatments (for all parameters) were done using a Tukey HSD multiple comparisons test with a confidence threshold of $p=0.05$. Bivariate Pearson correlations were used to examine relationships between biometric parameters using \log_{10} transformed data. Forward stepwise multiple regressions were used to examine the relationships between enzyme activities and growth rate or condition. Terms were included in the regressions only if they were significant at $p<0.05$.

Results

Biometric and physiological responses to changes in dietary regime

The progression of perch weight and specific growth for each treatment is shown in Figure 1. There were no significant differences in the initial weight of perch among the treatments ($p=0.817$). Final weight of perch in the M and MS treatments was significantly higher than final weight for the S treatment ($p<0.05$) with intermediate values for perch in the SM treatment. Initial growth rates in all treatments were similar ($p=0.765$), although slightly negative. Growth rate responded rapidly to increases in dietary regime, as evidenced by the large differences between weeks 2 and 4 for perch from the M and MS treatments ($p<0.0001$ for both) and between weeks 6 and 8 for SM perch ($p<0.0001$). A reduction in dietary regime also led to a rapid return to minimal growth, as evidenced by the significantly reduced growth between weeks 6 and 8 for perch on the MS regime ($p=0.013$). There was also a gradual reduction in growth rate for perch in the M treatment after the initial rapid increase. At the end of the experiment (weeks 11-12), the highest growth rates were observed in the SM perch, followed by M perch, which demonstrated a higher growth than S perch whereas the growth rates for MS perch did not differ from values for the M or S perch (Figure 1).

The progression of perch condition over the experimental period is shown in Figure 2. There were no significant differences in initial perch condition ($p=0.851$). With an increase in dietary regime, condition increased rapidly and reached a plateau around 1.6. The rapid reaction to increased diet was particularly evident between weeks 6 and 8 for the SM treatment ($p=0.0014$) as well as between weeks 2 and 4 in the M and MS treatments ($p=0.0163$ and 0.0003 respectively). A reduction in dietary regime led to a gradual, although non significant ($p=0.0622$), reduction in condition for the MS treatment. Final condition indices for all fish exposed to the maximal diet (M, MS and SM) were not significantly different from each other, but were significantly higher than in fish from the S treatment. Nevertheless, fish from the S treatment did manage to increase their condition somewhat over the 12 weeks ($p=0.039$).

The progression of FCE over the 12 week period is shown in Figure 3. Food conversion efficiency showed a generally declining tendency for the experimental period (weeks 4 to 12), a decline that was only significant for the M perch ($p=0.0078$). At the end of the experimental period, perch in treatments with mixed regimes (MS and SM) exhibited significantly higher FCEs than perch in the M treatment, with intermediate values for fish in the S treatment.

The final weights of pyloric cæca are shown in Figure 4. All of the perch exposed to the maximal feeding regime (M, MS and SM) had significantly heavier pyloric cæca than perch from the S treatment or from the acclimation period. Perch in the M treatment also had heavier pyloric cæca than SM perch. This increase in pyloric cæca weight occurred after as little as 6 weeks on maximal diet (SM). Perch that spent the final six weeks on the staple diet (MS) showed no signs of a reduction in the relative weight of their pyloric cæca.

The VLI responded in a fashion very similar to pyloric cæca (Figure 5). Perch from the M, MS and SM treatments all had VLIs significantly higher than fish from the S treatment. The VLI seemed to reach a plateau around 5-6% of total body weight. The accumulation of lipids was rapid, reaching 5% in as little as 6 weeks (SM treatment). Interestingly, 6 weeks on staple diet (MS) was sufficient to significantly reduce the VLI to levels lower than those found in the M treatment.

Bivariate correlations among biometric parameters were performed using condition, pyloric cæca weight, SGR, FCE and VLI. The results are presented in Table 1. Condition was significantly correlated with all other biometrics, except FCE. In addition to condition, SGR was also correlated with VLI. Pyloric cæca weight was tightly correlated with VLI and white muscle weight, which were also correlated with each other. No biometric parameters correlated with FCE.

Response of enzyme activities to changes in dietary regime

Specific enzyme activities for muscle and pyloric cæca are presented in Figures 6 and 7 respectively while protein-corrected activities for both tissues are presented in Table 2. Specific activities were more useful than protein-corrected activities in differentiating among the various feeding regimes. The enzymes that increased in specific activity with an increase in dietary regime for both tissues were CS and NDPK. An increase was also observed in muscular PK and LDH as well as G6PDH in the pyloric cæca. A reduction in dietary regime elicited little or no response in specific or protein-corrected enzyme activities. When we compare perch from the MS treatment to those in the M or SM treatment, there were significant reductions in specific activities of muscular CCO and CS as well as specific pyloric cæca NDPK and protein concentration. Increases in protein-corrected enzyme activities associated with increases in diet were observed for muscular LDH. Similar changes were observed in the pyloric cæca for

protein-corrected CCO, CS and NDPK. Decreases in response to decreased feeding were observed only for protein-corrected muscular CS.

The results of linear regression models between enzyme activities and biometric parameters (SGR, condition, FCE, pyloric cæca weight and VLI) are presented in Table 3. Growth rate was most strongly and positively correlated with specific muscle CS, although protein-corrected NDPK activity in the pyloric cæca was also positively correlated with SGR. Specific activities for muscular CS and LDH were positively correlated with perch condition, as was protein-corrected G6PDH. The FCE showed a positive relationship with muscular protein concentrations as well as NDPK in the pyloric cæca. However, CS in the pyloric cæca was negatively correlated with FCE. Pyloric cæca weights exhibited a positive relationship with G6PDH and muscular protein and a negative relationship with cæcal NDPK. The VLI was also positively correlated with cæcal G6PDH, as well as muscular LDH.

Discussion

Enzymes as correlates of biometric parameters in yellow perch

Growth is vital in the ability of young fish to survive and for reproductive capacity as adults. In this study, the enzyme which most strongly correlated with recent growth in yellow perch was specific muscular CS. Citrate synthase is a rate-limiting enzyme in the Krebs cycle and as such plays an important role in regulating aerobic energy metabolism within the cell. The energy produced by aerobic metabolism can then be channelled into anabolic pathways since increased growth implies increased energy requirements for the production of structural proteins, enzymes, and the replication of their RNA precursors. Furthermore, since white muscle represents about half the weight of a fish, it is the major site of protein production in growing fish and an increased aerobic capacity is essential to sustain the increased growth, a process that is exclusively aerobic. These results are in contradiction to those for Atlantic cod where no relationship is apparent between growth rate and muscular aerobic capacity (Pelletier et al., 1995). Our data also revealed a positive relationship between protein-corrected NDPK activities in the pyloric caeca and growth, this despite reduced protein concentrations in the pyloric caeca of fish with high growth rates. An increase in protein-corrected activity indicates that NDPK was preferentially increased (vs. other proteins in the cell) as a response to increased growth. These results suggest increased protein synthesis and could reflect increased production of digestive enzymes or nutrient transporters required to process the increased food consumption and transfer the nutrients to the blood stream. The lower protein concentration in pyloric caeca could be an indication that proteins were being broken down and the amino acids used to synthesise proteins destined for export from the cells (digestive enzymes and lipoproteins for example).

The absence of significant relationships between aerobic metabolism in the pyloric caeca and growth contrasts with previous research on Atlantic cod that has shown that an increase in the specific activity of intestinal aerobic enzymes, notably CCO, is linked to an increase in growth rate (Pelletier et al., 1994; Couture et al., 1998). A possible explanation for this lack of relationship could be in the feeding habits of the fish. Atlantic cod are "binge" feeders, consuming very large meals at irregular intervals. It has been noted that a very large proportion of the aerobic scope for Atlantic cod is taken up when digesting their meals (Soofiani et Hawkins, 1982). An increase in intestinal aerobic metabolism would therefore be a benefit to Atlantic cod, allowing them to process their meals more quickly. Perch, on the other hand, feed constantly and

as a result are almost always in the process of digesting smaller meals. Their intestinal aerobic metabolism would therefore not be expected to be as limiting a factor for nutrient absorption as in Atlantic cod.

The condition factor reflects energy status and is an important and broadly used metric of fish health. In our study, much like in the Atlantic cod (Couture et al., 1998), perch condition factor was correlated with muscular LDH, along with specific muscular CS and protein-corrected caecal G6PDH. The positive relationship between white muscle CS activity and condition factor follows the same rationale as for growth. The increased tissue growth, especially in white muscle, associated with increased condition factor would require a parallel increase in the capacity of the enzymes supplying energy to anabolic pathways. An increase in muscular LDH has been interpreted as a reflection of improved energetic capacity in muscle tissue (Pelletier et al., 1993; Dutil et al., 1998) and it has been hypothesised that muscular cytoplasmic proteins (like LDH) could be used as a protein store in fish (Houlihan et al., 1988), much like visceral lipids act as a lipid store. The increase in protein-corrected pyloric caeca G6PDH indicates a preferential investment in this enzyme vs. other proteins in the cellular pool. An investment in fatty acid anabolism at the intestinal level indicates either *de novo* synthesis, which has been observed in pyloric caeca of rainbow trout (Bell et al., 2003), or the repackaging of absorbed fatty acids for export to other tissues (Bauermeister et al., 1979). Given the large accumulation of visceral lipid reserves in the perch fed the maximal diet, and the strong correlation between VLI and condition factor in our study, both strategies may occur.

Other interesting observations were made with regards to condition in perch. First, condition reached a plateau within six weeks in fish fed at a 3% daily ration. This occurred in the M, SM and MS treatments, although there was a trend towards reduced condition in the final 6 weeks for the MS treatment. Knowing where this plateau is situated would enable future researchers to evaluate the extent to which wild populations are capable of accumulating energy reserves. Second, the correlation coefficient between condition and VLI is much higher than the correlation coefficient between condition and muscle weight (see Table 1). Perch are known to invest more in girth than length when growing, which has often been linked to the "dorsal hump" composed of white muscle that develops in healthy perch. The correlation between muscle weight and condition gives credence to this suggestion, but given that the relationship between

condition and VLI is much stronger, condition in perch appears to be more a reflection of visceral lipid accumulation than of muscle growth.

The correlates of FCE included positive relationships with muscle protein content and caecal NDPK and a negative relationship with caecal CS. The positive relationship with muscle protein content likely reflects the importance of this tissue as a protein sink during growth. The relationships between FCE and caecal enzymes for both specific and protein-corrected activities indicate that not only were the enzymatic capacities altered, but the enzymes in question were specifically up- or downregulated. In the case of NDPK, its positive relationship with FCE likely represents a preferential investment in protein anabolism, which would include digestive enzymes and nutrient transporters to increase digestion capacity. In contrast to NDPK, both protein and weight specific caecal CS activity were lower in fish expressing high FCE values. A reduction of the protein-corrected CS activity could indicate a preferential investment in other metabolic pathways. Similarly, a "reduction" in the specific activity could simply be due to growth dilution, if the amount of the enzyme was maintained, while the tissue gained in weight. This hypothesis is supported by our observation that there were no significant differences in the total (weight specific activity x tissue weight) pyloric caeca CS activity among the various dietary regimes (data not shown).

Several correlates of pyloric caeca weight were identified, including caecal NDPK and G6PDH, as well as muscle protein concentrations. The negative relationship between corrected pyloric caeca weight and both specific and protein-corrected pyloric caeca NDPK could be an indication that the proteins produced in the caeca are not contributing to the increased pyloric caeca weight. If much of the proteins produced by the cells were digestive enzymes, they would not contribute to increasing the weight of pyloric caeca. The production of lipoproteins is another potential route of protein loss for pyloric caeca since they are exported to the blood stream. Increased lipoprotein production is also supported by the increased activity of G6PDH. An increase in the activity of this enzyme is indicative of increased fatty acid synthesis or transformation within the cell, a phenomenon that has previously been observed in pyloric caeca (Bauermeister et al., 1979; Bell et al., 2003). Although the lipids are eventually exported to the blood stream, their transitive presence within the pyloric caeca would increase caecal weight, contributing to the observed positive relationship with G6PDH. As for the positive relationship between pyloric caeca weight and muscular protein concentration, it is likely related to the

increased dietary regime. When dietary levels increase, fish increase the protein concentration in their tissues (Guderley et al., 1996; Carter et al., 1998; Dutil et al., 1998) while at the same time increasing the weight of their pyloric caeca.

The final biometric parameter examined was VLI. The VLI is an indicator of energy status and accumulated lipid stores (Nelson et Magnuson, 1992; Mackereth et al., 1999), it is therefore not surprising that VLI was correlated with muscular LDH, an indicator of muscular protein storage and energy status (Houlihan et al., 1988). The relationship between VLI and pyloric caeca G6PDH, an indicator of lipid production, was also expected. There is evidence that pyloric caeca can be an important organ for lipid production in fish (Bell et al., 2003). However, there is no evidence that lipids are stored in this organ, a function which, in perch, is performed by the visceral lipids. The positive relationship between VLI and pyloric caeca G6PDH is further support for the role of this tissue as a producer of lipids since it indicates that the accumulated lipid reserves are very much a function of the capacity of pyloric caeca to synthesise or modify fatty acids.

Response of pyloric caeca and visceral lipids to different dietary regimes

Pyloric caeca and visceral lipids are two tissues that have received little attention in yellow perch and to our knowledge their response to feeding regimes has yet to be examined. Our examination of these tissues indicates that both tissues can provide important information about the health, energy status and recent feeding activity of yellow perch. Fish from the SM and MS treatments were able to increase the relative weight of their pyloric caeca by 7-8-fold in six weeks while fish in the M treatment increased the relative weight of their pyloric caeca by more than 13-fold when compared to fish from the S treatment. In contrast to other metrics like condition factor and VLI, there is no indication that the weight of the pyloric caeca had reached a plateau at the end of our experiment. This would indicate that the ability of pyloric caeca to react to changes in diet is slower than for other metrics, but also that the magnitude of the reaction is larger (vs. a maximum 6-fold increase in VLI).

The size of pyloric caeca did not respond to a reduction in dietary regime during the course of our experiment. Six weeks after a return to the S diet, the pyloric caeca of perch from the MS treatment showed no signs of weight loss. Yellow perch maintained the increased weight of the pyloric caeca even when on a diet that provided barely enough resources to maintain minimal growth. This is in contrast to other studies that have shown that pyloric caeca responded

rapidly to starvation. After as little as two days of fasting, a significant decrease in weight was observed in the pyloric caeca of Atlantic salmon (Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005) and a decrease in pyloric caeca weight was apparent after a 5 week fast by Atlantic cod (Bélanger et al., 2002). The lack of weight loss in pyloric caeca observed in this study was likely due to the fact that the fish were fed a maintenance regime and not starved like in the above mentioned studies.

In our study, pyloric caeca weight was a good correlate of condition, VLI, and white muscle weight, explaining respectively 88%, 88% and 92% of the variability. As reported with rainbow trout (Bergot et al., 1981; Ulla et Gjedrem, 1985), there was no relationship between pyloric caeca weight and FCE in yellow perch. This lack of relationship is perplexing, especially considering the close relationship between muscle weight and pyloric caeca weight, but is further support for the hypothesis that the limiting factor for growth in yellow perch is more likely to be muscle aerobic and anabolic capacities than the ability to rapidly digest and absorb food. The close relationship between pyloric caeca weight and VLI (and condition) further supports the hypothesis that pyloric caeca are involved in lipid metabolism.

While pyloric caeca weight was a good indicator of recent feeding activity, VLI is a representation of the energy resources accumulated over time and an indicator of a fish's ability to survive periods of fasting or to invest into reproduction (Nelson et Magnuson, 1992; Henderson et al., 1996; Niva, 1999). In our experiment, perch responded rapidly to increased dietary intake by setting aside excess energy resources as visceral lipids. In as little as six weeks, perch from the SM treatment were able to reach a VLI of 5-6% and, from an energetic standpoint, be on equal footing with fish fed maximal diet for twice as long. While condition and pyloric caeca weight for fish from the MS treatment showed no differences from the M treatment, the former had a lower VLI compared to fish from the M treatment, suggesting that some of the lipids were consumed during the six weeks on the minimal diet. This could be an indication that fish from the MS treatment were maintaining other parameters (i.e. enzyme activities, pyloric caeca weight and/or condition) at the expense of accumulated energy reserves.

In conclusion, this study has identified several parameters that should prove useful for interpreting changes in condition and recent growth of wild yellow perch. Muscular CS and caecal NDPK were found to be a good correlates of increased growth while increased condition was correlated to muscular LDH and pyloric caeca G6PDH. The relative weights of pyloric caeca and visceral lipids were both found to be good indicators of recent increases in feeding and

energy status. Plateaus were also identified for condition and VLI, which should allow subsequent studies to better interpret the health and energy status of yellow perch caught in the wild and evaluate the extent of any energy limitations to which they may be subjected.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Natural Science and Engineering Research Council of Canada for funding this project. Thanks also to the staff at the Parc Aquarium du Québec for their help and expertise during the growth trials and to the technical staff at the INRS-ETE for their help and advice.

References

- Bauermeister, A.E.M., Pirie, B.J.S., and Sargent, J.R., 1979. An electron microscopy study of lipid absorption in the pyloric caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed wax ester-rich zooplankton. *Cell. Tis. Res.* 200, 475-486 .
- Bell, M.V., Dick, J.R., and Porter, A.E.A., 2003. Pyloric ceca are significant sites of newly synthesized 22:6n-3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids* 38, 39-44.
- Bergot, P., Blanc, J.M., and Escaffre, A.M., 1981. Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) *Aquaculture* 22, 81-96.
- Buddington, R.K., Diamond, J.M., 1987. Pyloric ceca of fish: A "new" absorptive organ. *Am. J. Phys.* 252, G65-G76.
- Bélangier, F., Blier, P.U., and Dutil, J.-D., 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish. Physiol. Biochem.* 26, 121-128.
- Carter, C.G., Houlihan, D.F., Brechin, J., and McCarthy, I.D., 1993. The relationships between protein intake and protein accretion, synthesis, and retention efficiency for individual grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *Can. J. Zool.* 71, 392-400.
- Carter, G.C., Seeto, G.S., Smart, A., Clarke, S., and van Barneveld, R.J., 1998. Correlates of growth in farmed juvenile southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* (Castelnau) *Aquaculture* 161, 107-119.
- Chellappa, S., Huntingford, F.A., Strang, R.H.C. , and Thomson, R.Y., 1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *J. Fish. Biol.* 47, 775-787.
- Couture, P., Dutil, J.-D., and Guderley, H., 1998. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55, 1591-1598.
- Dutil, J.-D., Lambert, Y., Guderley, H., Blier, P.U., Pelletier, D., and Desroches, M., 1998. Nucleic acids and enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) differing in condition and

- growth rate trajectories. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55, 788-795.
- Guderley, H., Dutil, J.-D., and Pelletier, D., 1996. The physiological status of atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: Estimates of growth rates under field conditions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53, 550-557.
- Henderson, B.A., Wong, J.L., and Nepszy, S.J., 1996. Reproduction of walleye in Lake Erie: Allocation of energy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53, 127-133.
- Houlihan, D.F., Hall, S.J., Gray, C., and Noble, B.S., 1988. Growth rates and protein turnover in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 951-964.
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M., 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 141A, 450-460.
- Lambert, Y., Dutil, J.-D., 1997. Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54 (Suppl. 1), 104-112.
- Mackereth, R.W., Noakes, D.L.G., and Ridgway, M.S., 1999. Size-based variation in somatic energy reserves and parental expenditure by male smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*. *Environ. Biol. Fishes* 56, 263-275.
- Magnan, P., Stevens, E.D., 1993. Pyloric caecal morphology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in relation to diet. *Environ. Biol. Fishes* 36, 205-210.
- Méndez, G., Weiser, W., 1993. Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutilus rutilus* (Teleostei: Cyprinidae). *Environ. Biol. Fishes* 36, 73-81.
- Nelson, J.A., Magnuson, J.J., 1992. Metabolic stores of yellow perch (*Perca flavescens*): Comparison of population from an acidic, dystrophic lake and circumneutral, mesotrophic lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49, 5474-5482.

- Niva, T., 1999. Relations between diet, growth, visceral lipid content and yield of stocked brown trout in three small lakes in northern Finland. *Ann. Zool. Fennici* 36, 103-120.
- Pelletier, D., Dutil, J.-D., Blier, P., and Guderley, H., 1994. Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *J. Comp. Physiol.* 164B, 179-190.
- Pelletier, D., Blier, P.U., Dutil, J.-D., and Guderley, H., 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *J. Exp. Biol.* 198, 1493-1497.
- Pelletier, D., Guderley, H., and Dutil, J.-D., 1993. Effects of growth rate, temperature, season, and body size on glycolytic enzyme activities in the white muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*) *J. Exp. Zool.* 265, 477-487.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D. , Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., and Klenk, D. C. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150, 76-85. 85.
- Soofiani, N.M., Hawkins, A.D., 1982. Energetic costs at different levels of feeding in juvenile cod, *Gadus morhua* L.. *J. Fish. Biol.* 21, 577-592.
- Ulla, O., Gjedrem, T., 1985. Number and length of pyloric caeca and their relationship to fat and protein digestibility in rainbow trout. *Aquaculture* 47, 105-111.

Table 1: Bivariate correlations between the biometric parameters examined. Values are correlation coefficients, those in bold are statistically significant ($p < 0.01$), $n = 16$ each. Cæca weight, VLI, white muscle weight and condition are values at the end of the 12 week experimental period. SGR and FCE are values calculated for the final two weeks.

	Condition	SGR	Cæca Wt.	VLI	Muscle Wt.
SGR	0.697				
Cæca Wt.	0.884	0.36			
VLI	0.926	0.685	0.872		
Muscle Wt.	0.586	0.002	0.925	0.570	
FCE	0.065	0.374	-0.134	0.089	0.0032

Table 2: Protein-corrected enzyme activities (IU/mg protein) for muscle and pyloric cæca at the end of the 12 week experimental period. Different letter in the same row indicate significant differences among treatments. Values are means with SEMs below (n=17-36).

Tissue	Enzyme	p	Acclim	S	MS	SM	M	
Muscle	PK	<0.0001	0.741 ^C	1.186 ^{AB}	0.882 ^{BC}	1.235 ^A	0.926 ^{BC}	
			0.059	0.081	0.068	0.068	0.069	
	LDH	<0.0001	0.910 ^C	1.522 ^B	2.323 ^A	2.199 ^A	2.622 ^A	
			0.078	0.131	0.131	0.202	0.154	
	CS	0.0003	0.013 ^{AB}	0.011 ^{BC}	0.009 ^C	0.014 ^A	0.012 ^{ABC}	
			0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	
	CCO	0.0013	0.094 ^A	0.094 ^A	0.063 ^B	0.074 ^{AB}	0.080 ^{AB}	
			0.006	0.007	0.005	0.007	0.005	
	NDPK	0.0008	0.579 ^A	0.447 ^B	0.480 ^{AB}	0.507 ^{AB}	0.556 ^A	
			0.019	0.024	0.014	0.032	0.029	
	Cæca	CS	<0.0001	0.021 ^B	0.024 ^B	0.040 ^A	0.039 ^A	0.044 ^A
				0.001	0.001	0.002	0.002	0.002
CCO		<0.0001	0.025 ^C	0.053 ^B	0.079 ^A	0.073 ^A	0.083 ^A	
			0.002	0.002	0.006	0.003	0.002	
NDPK		<0.0001	0.045 ^C	0.049 ^C	0.076 ^{AB}	0.090 ^A	0.067 ^B	
			0.002	0.002	0.002	0.005	0.005	
G6PDH		<0.0001	0.004 ^B	0.005 ^B	0.012 ^A	0.014 ^A	0.013 ^A	
			0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	

Table 3: Linear regression models using specific or protein-corrected enzyme activities as correlates of biometric parameters. For each metric the r^2 and significance for the regression are presented as well as the terms, their direction and significance within the regression. Tank means at the end of the experiment were used for all regressions (n=16 each).

Metric	Specific		Protein-corrected	
	Term	p	Term	p
Growth rate	$r^2=0.899$	<0.0001	$r^2=0.555$	0.0014
Weeks 11-12	Muscle CS (+)	<0.0001	Cæca NDPK (+)	0.0014
Final	$r^2=0.859$	<0.0001	$r^2=0.716$	<0.0001
Condition	Muscle CS (+)	0.0252	Cæca G6PDH (+)	<0.0001
	Muscle LDH (+)	<0.0001		
FCE	$r^2=0.744$	0.0014	$r^2=0.542$	0.0092
Weeks 11-12	Muscle Protein (+)	0.0034	Cæca CS (-)	0.0382
	Cæca CS (-)	0.0023	Cæca NDPK (+)	0.0032
	Cæca NDPK (+)	0.0202		
Corrected	$r^2=0.843$	<0.0001	$r^2=0.771$	<0.0001
Cæca Wt.	Muscle Protein (+)	0.0135	Cæca NDPK (-)	0.0111
	Cæca NDPK (-)	0.0021	Cæca G6PDH (+)	0.0001
	Cæca G6PDH (+)	<0.0001		
Lipid index	$r^2=0.919$	<0.0001	$r^2=0.822$	<0.0001
	Muscle LDH (+)	<0.0001	Muscle LDH (+)	0.0178
	Cæca G6PDH (+)	0.0513	Cæca G6PDH (+)	0.0269

Figure captions

Figure 1: Progression of perch weight (A) and specific growth rate (B) during the 12 week experimental period. Values are means for each treatment (n=4 each) \pm SEMs. Different letters at the end of each trace represent significant differences among treatments at the end of the experiment (weight) or for the final two weeks (SGR). The treatments are M (solid), S (dotted), SM (dot-dash) and MS (dashed)

Figure 2: Progression of perch condition over the 12 week experimental period. Values are means for each treatment (n=4 each) \pm SEMs. Different letters at the end of each trace represent significant differences in final condition. Treatments are the same as for Figure 1.

Figure 3: Progression of perch food conversion efficiency (FCE) over the 12 week experimental period. Values are means for each treatment (n=4 each) \pm SEMs. Different letters at the end of each trace represent significant differences in FCE for the final two weeks. Treatments are the same as for Figure 1.

Figure 4: Final corrected wet weight of pyloric caeca for each treatment. Values are means + SEM (n=4 each). Different letters above the bars indicate significant differences among treatments.

Figure 5: Final visceral lipid index (VLI) for each treatment. Values are means + SEM (n=17-36). Different letters above bars indicate significant differences among treatments.

Figure 6: Specific activities and protein concentration for perch white muscle at the end of the experiment. Values are means + SEM (n=17-36). Different letters above bars indicate significant differences among treatments.

Figure 7: Specific activities and protein concentrations for perch pyloric caeca at the end of the experiment. Values are means + SEM (n=17-36). Different letters above bars indicate significant differences among treatments.

Figure 1

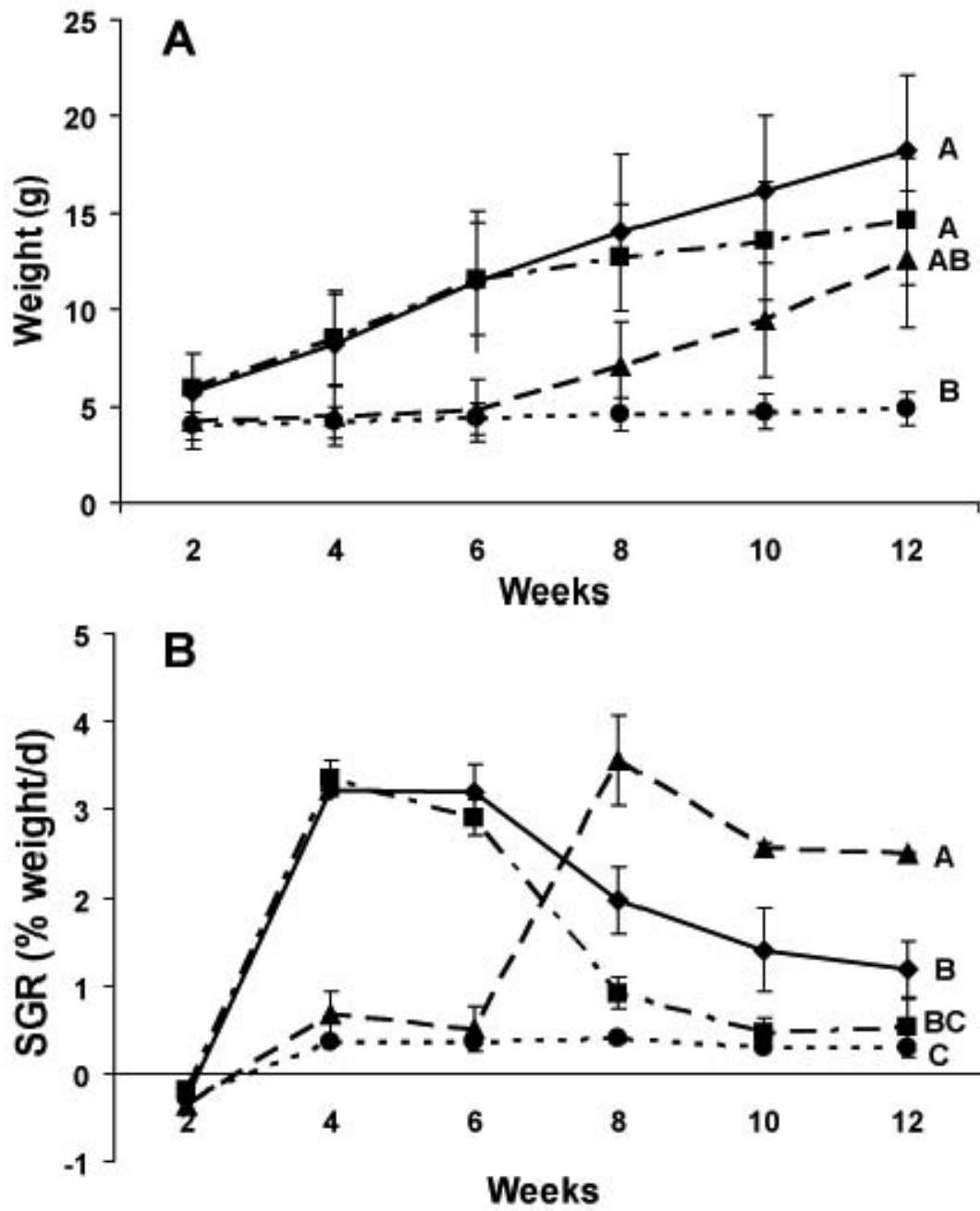


Figure 2

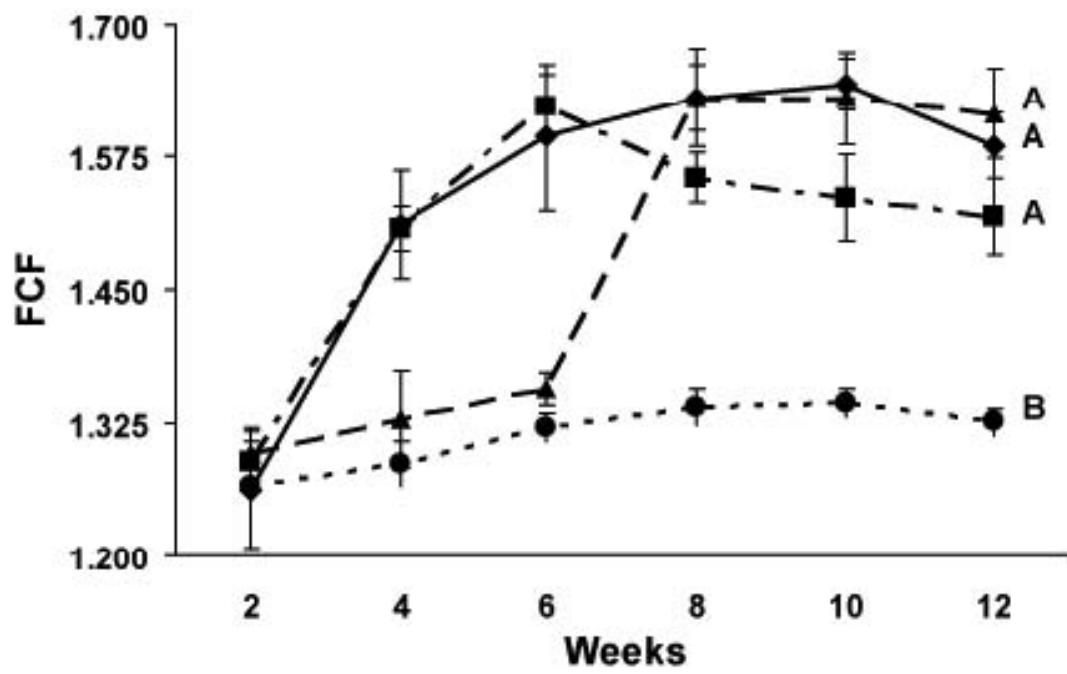


Figure 3

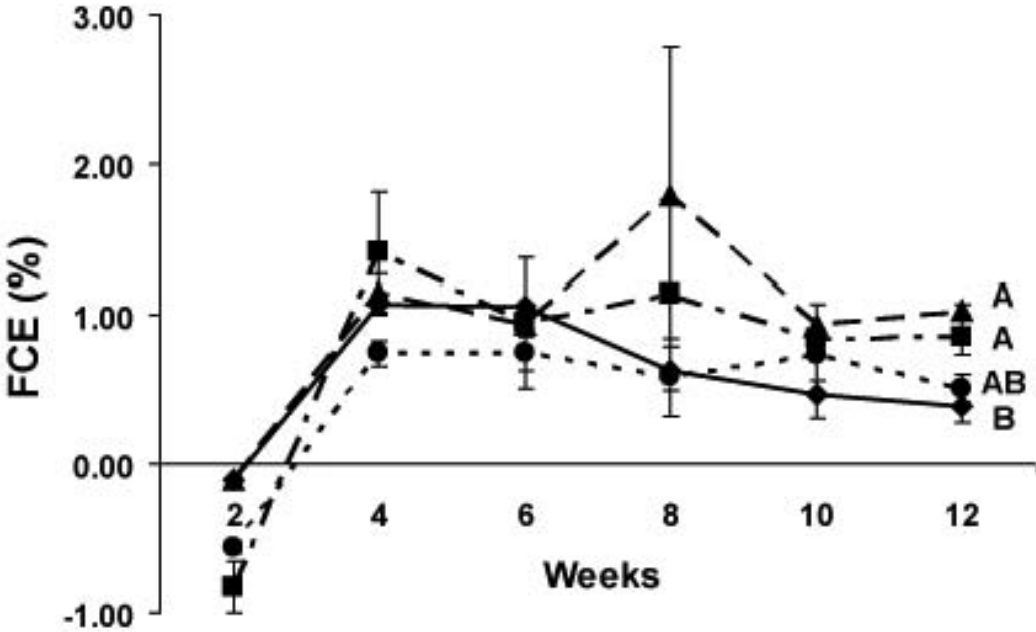


Figure 4

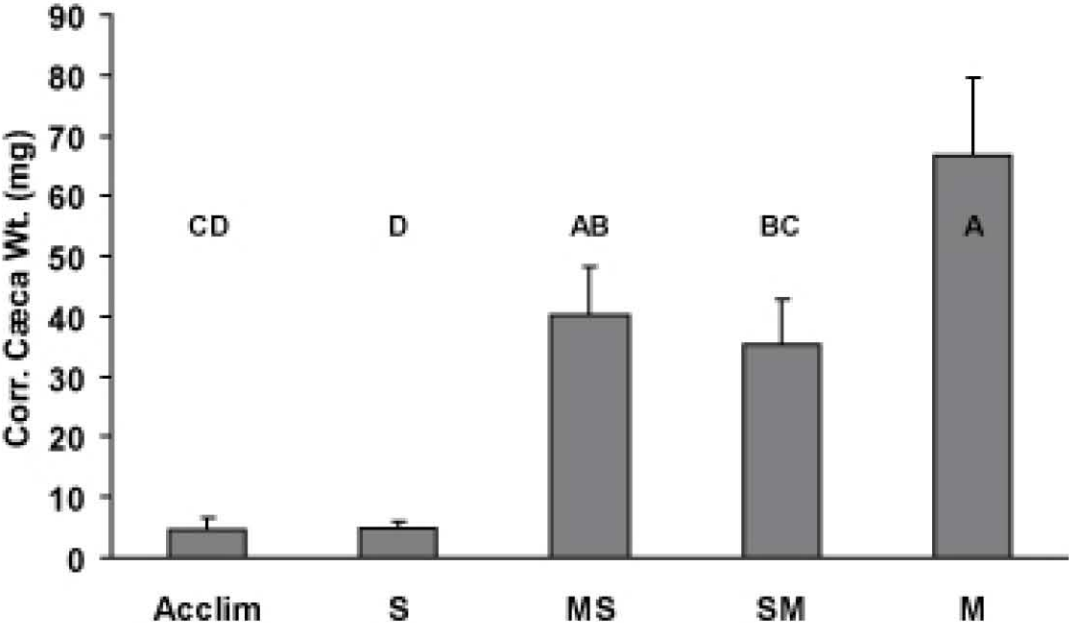


Figure 5

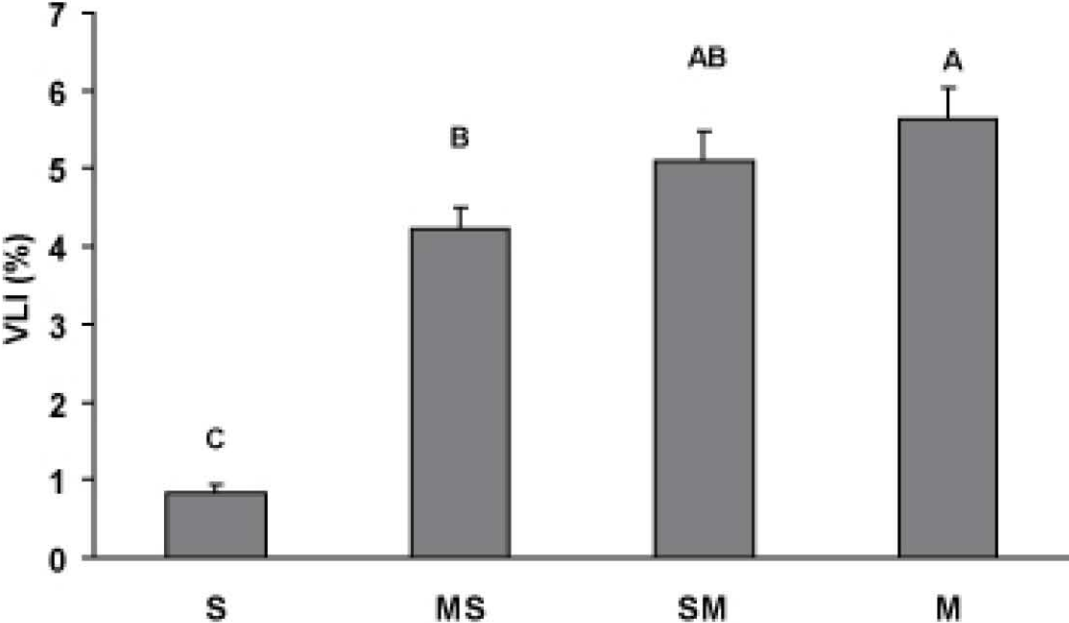


Figure 6

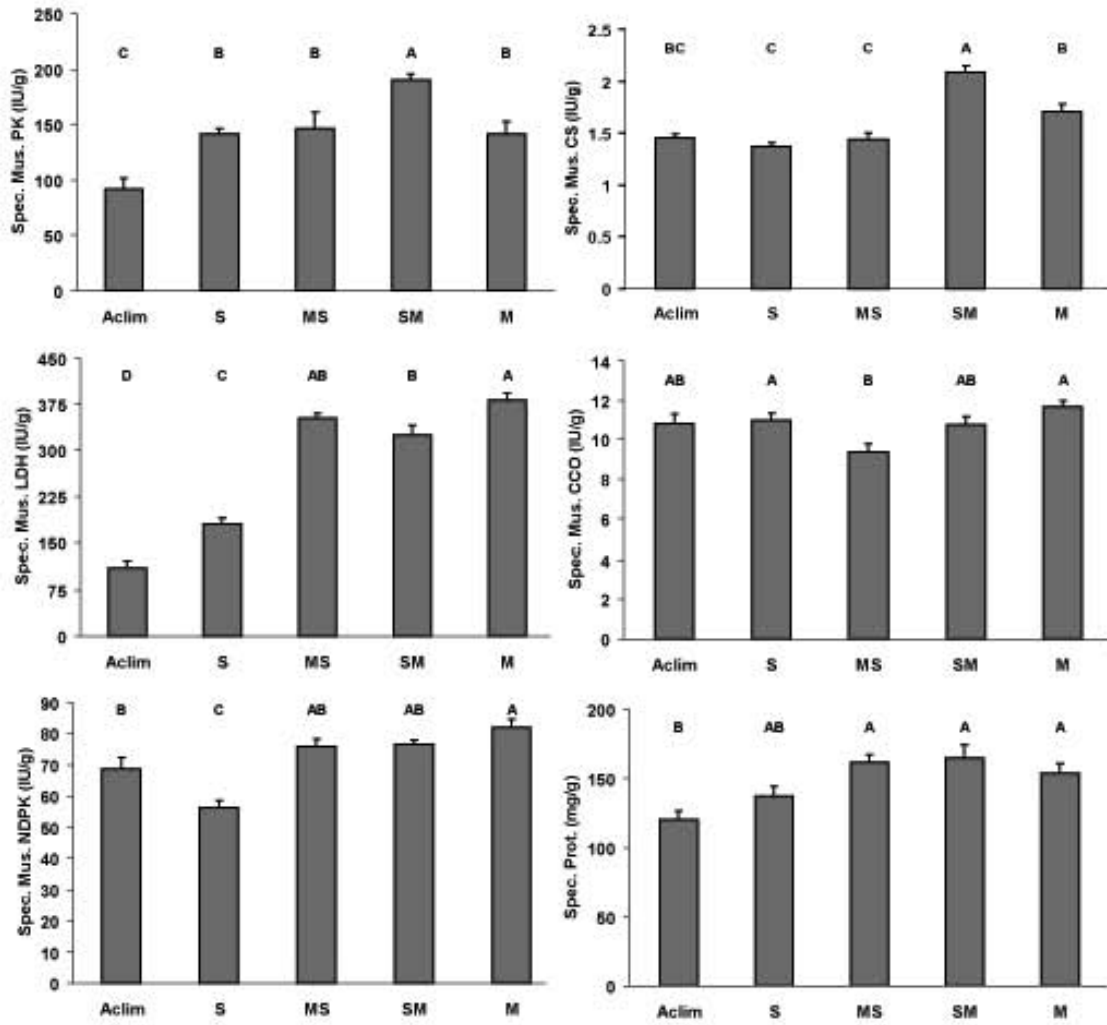
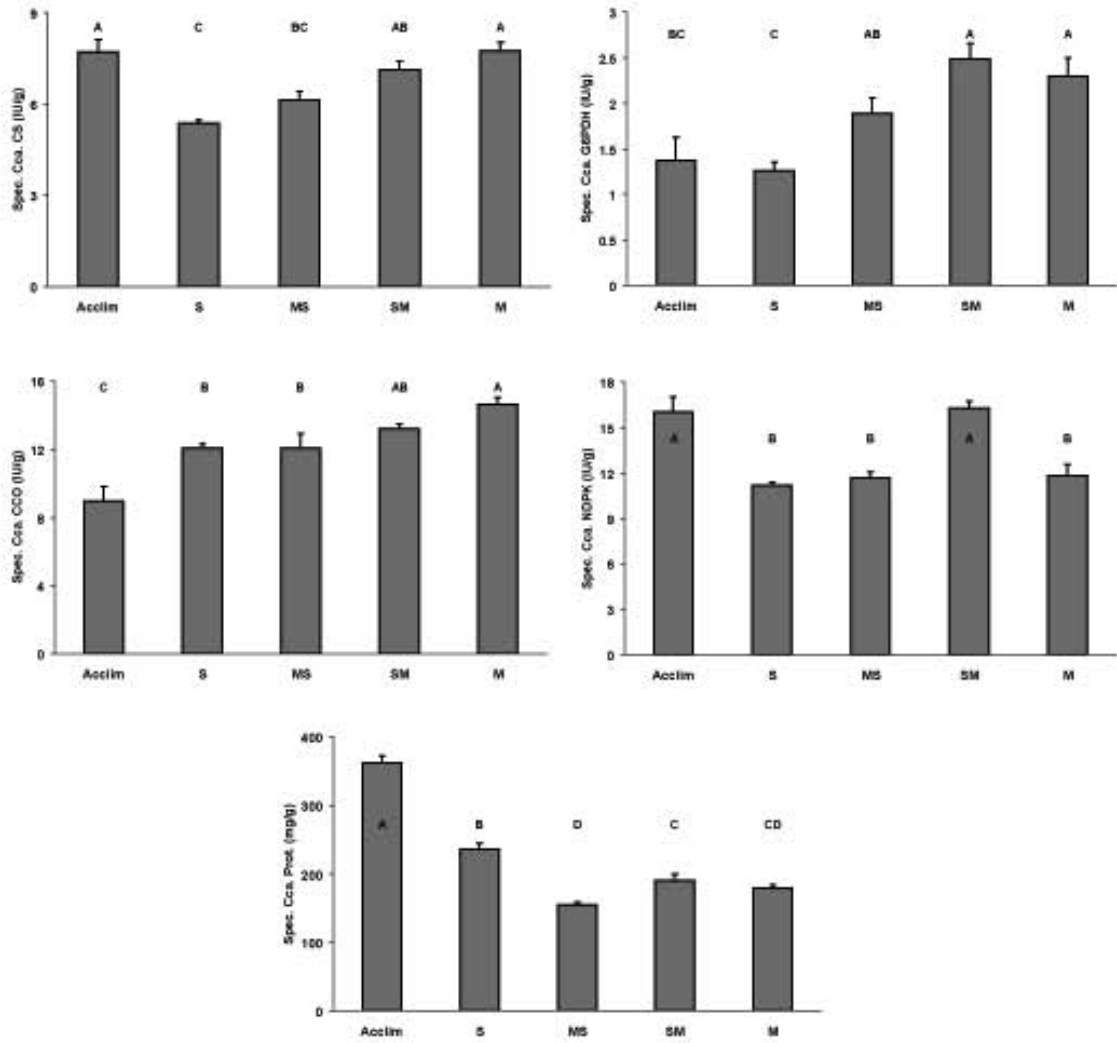


Figure 7



1.2 **Article 2.**

GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. 2009. Condition and pyloric cæca as indicators of food web effects in fish living in metal-contaminated lakes *Ecotox. Environ. Saf.* 72:2066-2074

Condition and pyloric cæca as indicators of food web effects in fish living in metal-contaminated lakes

Charles Gauthier*, Peter G.C. Campbell, Patrice Couture

Institut national de la recherche scientifique

Eau, terre et environnement

490 rue de la Couronne

Québec, QC

G1K 9A9

Canada

*: Corresponding author

Tel: (418) 654-2530 x4468

Fax: (418) 654-2600

Email: c_gaut@yahoo.ca

Abstract

Variations in fish condition, pyloric cæca (PC) mass and tissue metal concentrations were examined in two consecutive summers in yellow perch collected along two polymetallic gradients in Canada, Sudbury (ON) and Rouyn-Noranda (QC). The potential of PC mass variations to help interpret food web mediated changes in condition was also evaluated. The lack of relationships between PC weight and condition, even in reference lakes, indicated that factors other than feeding rate influenced fish condition. Inter-annual variations in fish condition (12%-58%), PC weight (14%-20%) and tissue metal concentrations (30-550%) were often of greater magnitude than differences between reference and contaminated fish sampled in the same year. The apparent lack of correspondence between feeding rate and condition and the large inter-annual variation in examined metrics highlight the need to better understand the ecological underpinnings that influence metal toxicity in field situations.

Keywords

Pyloric cæca; copper; cadmium; nickel; condition; yellow perch; inter-annual variations; indirect effects

Introduction

Ecotoxicology faces the challenge of discriminating between the direct toxic effects of contaminants and their indirect effects (Campbell et al., 2003), the latter often being the result of changes in the community structure of a given environment. For example, contaminants can reduce the abundance of benthic invertebrates, which in turn affects the ability of benthivorous fish to feed themselves (Munkittrick et al., 1991; Kovecses et al., 2005; Iles et Rasmussen, 2005). However, indirect effects of contaminants can also have a positive impact on organisms living in contaminated systems. If a contaminant reduces the presence of predators or competitors, the surviving organisms can often exhibit signs of improved health (Bertolo et Magnan, 2005).

In order to increase our understanding of the effects of chronic metal exposure on yellow perch (*Perca flavescens*), and to examine the importance of indirect or food web mediated effects, we considered two metrics, fish condition and pyloric caeca weight, in fish collected from lakes representing two metal contamination gradients. Fish condition is a well-known indicator of health in individual fish or populations. Condition indices in their various forms are relationships between a fish's length and weight, giving an indication of accumulated energy reserves or feeding activity during the previous few weeks. Fish may store the accumulated energy or use it for reproduction, maintenance or other expenditures that do not contribute to somatic growth. Fish condition is also an important predictor of survival and of the ability of young fish to overwinter (Dutil et Lambert, 2000; Engelhard et Helno, 2006; Bennett et Janz, 2007). Living in a metal-contaminated environment increases energy expenditures (Sherwood et al., 2000) and reduced fish condition is frequently associated with metal contamination in a variety of species (Munkittrick et Dixon, 1988; Bennett et Janz, 2007; Pyle et al., 2008). However, the interpretation of this decrease in fish condition is often confounded by other factors such as eutrophication (Pyle et al., 2005; Bennett et Janz, 2007), impaired prey

communities (Clements et Rees, 1997) and seasonal variability (Eastwood et Couture, 2002; Audet et Couture, 2003).

As a second metric, we used the weight of the pyloric caeca (PC). Pyloric caeca are finger-like projections of the intestine located posterior to the pyloric valve, which controls the flow of food from the stomach to the intestine. Their role is to increase the surface area of intestinal tissue in contact with ingested food, augmenting the potential for absorption of nutrients and secretion of digestive enzymes (Buddington et Diamond, 1987). Studies also indicate that PC have a post-absorption role and contribute to the transformation of nutrients (Bell et al., 2003). Previous studies on Atlantic salmon (*Salmo salar*) have shown that changes in PC mass mimic changes in diet quantity (Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005), and laboratory research has shown that PC in yellow perch increase in weight when ration increases (Gauthier et al., 2008).

The main objective of this study was to examine the potential of using differences in PC mass to improve our understanding of direct and indirect effects of metal contamination on fish condition: changes in PC mass that are unrelated to variations in fish condition would indicate that factors other than food intake affect fish condition. A secondary objective was to evaluate the potential of PC as indicators of dietary metal exposure, this being the first time that metal accumulation in PC has been systematically examined in fish collected along metal concentration gradients.

Materials and methods

Study lakes

Five lakes in each of two regions with a history of environmental metal contamination were selected along metal concentration gradients, ranging from clean to heavily contaminated. Lake choice in the Sudbury area was based on personal knowledge (research activities in the region by P. Couture) as well as studies that had examined metal deposition (Nriagu et al., 1998) and effects on fish (Pyle et al., 2005; Gauthier et al., 2006). Lakes in Rouyn-Noranda were chosen based on studies examining effects on fish and invertebrates (Hare et Tessier, 1996; Sherwood et al., 2002a; Giguere et al., 2004). Recently published studies (Couture et al., 2008) were also used to choose study lakes in both regions.

For ease of interpretation, we have ranked the lakes in each region (Table 1) by historical contamination, based on published sediment metal concentrations. Clean lakes were attributed low ranks whereas contaminated lakes were given high ranks. Therefore, the cleanest lake in Sudbury was identified as S1 whereas the most contaminated lake in Rouyn-Noranda was given the rank R5.

Sudbury

In the Sudbury region, yellow perch were collected from August 9th to the 15th in 2004 and July 28th to August 3rd in 2005. The two contaminated lakes studied in Sudbury were Whitson Lake (S5) and Hannah Lake (S4). Whitson Lake is located 13 km north of the Inco smelting complex whereas Hannah Lake is on the western border of Sudbury and approximately 4 km from the Inco smelting complex. Due to difficulties in capturing sufficient yellow perch and in accessing certain lakes, intermediate and reference lakes were different in 2004 and 2005. The intermediate lake sampled in 2004 was Richard Lake (S3a), located 12 km south-east from the smelters. In 2005, Ramsey Lake (S3b) was chosen as an intermediate lake and is located 5

km east of the smelters. Reference lakes in 2004 were Geneva Lake (S2a) and Barlow Lake (S1a), 50 km north-west and 38 km south-east of Sudbury respectively. In 2005, reference lakes were chosen near North Bay: Nosbonsing Lake (S2b) and James Lake (S1b), 140 km and 150 km east of Sudbury respectively. Therefore, in the Sudbury region, inter-annual variations were only examined in the two contaminated lakes Hannah and Whitson.

Rouyn-Noranda

In Rouyn-Noranda, perch were collected from July 27th to August 7th in 2004 and July 19th to the 26th in 2005. Contaminated lakes were Lake Dufault (R5) and Lake Osisko (R4), located, respectively, 1 km southeast and 4 km north of the Horne smelting complex. Lake Bousquet (R3) was chosen as an intermediate lake and is located 25 km east of Rouyn-Noranda. The two reference lakes were Lake Dasserat (R1) and Lake Opasatica (R2), each approximately 26 km west of Rouyn-Noranda. Although these two lakes are located at a distance from smelting operations similar to Lake Bousquet, dominant winds in the region flow west to east and the reference lakes have been largely spared the airborne deposition originating from smelting operations.

Fish sampling and tissue collection

Fish were sampled using a seine net or by angling; gill nets were used in 2004 but not in 2005 because of the inconsistency of this technique for capturing yellow perch as well as mortality of other incidentally captured species. Fish were selected to ensure as wide a size range as possible for each lake. Between 25 and 30 live and actively swimming fish were kept for analysis and immediately placed in a large plastic container containing aerated lake water. Fish were usually sacrificed and dissected in a mobile laboratory on the lakeshore, but on occasion they were transported for up to 1 hour before dissection. Length (± 1 mm) and weight (± 0.01 g) were determined for each fish, and PC and stomach contents were collected for metal analyses. All samples were stored frozen at -20°C until analysis. Animals were captured and sacrificed using methods approved by the Ontario Ministry of Natural Resources and the Ministère des Ressources naturelles et de la faune du Québec.

Fish condition

Fish condition was calculated by determining a single scaling coefficient (slope of the logarithmic relationship between length and weight) for each region (Rouyn-Noranda and Sudbury) that included fish from both years (Supporting Data, Figures S1 to S4). Length vs. weight slopes were generated for each lake in each year to verify that the slopes were similar among lakes, ensuring the statistical validity of the pooling approach. The equation $\text{Kn} = (W_f/L^{\text{SC}}) \times 100$ (where "W_f" is fish weight, "L" is fish length and "SC" is the scaling coefficient) was used to calculate "Kn", a condition calculation used when fish size varies appreciably within a given data set (Couture et Rajotte, 2003). Fish weights ranged from 2.8 g to 375 g in Rouyn-Noranda and from 1.3 g to 86 g in Sudbury. For Rouyn-Noranda and Sudbury, scaling coefficient were 3.13 and 3.01 respectively.

Calculation of corrected pyloric caeca weights

Pyloric caeca samples were thawed and re-examined to ensure that excess intestinal or stomach tissue had been removed, and remaining food particles were removed by rinsing with Milli-Q® grade water and PC were blotted dry. The PC were then transferred to pre-weighed microcentrifuge tubes to determine wet weight.

Since the weights of PC vary non-linearly with the fish weight, standard proportional mass indices (e.g., the hepatosomatic index) are inappropriate to compare relative PC weights over a broad size range of fish. Allometric corrections were therefore used to calculate size corrected PC weights for each fish. Allometric corrections are an established method for examining non-linear physiological relationships among different sized organisms (Beamish, 1964; Weatherley et Gill, 1983). The plotted slopes of fish weight vs. PC weight for each lake were first examined to determine if fish from different lakes in a given region could be grouped together (i.e., similar slopes) (Supporting information, Figures S5 to S8). An allometric relationship between fish weight and PC weight, of the form $\log W_c = b \times \log W_f + \log a$ (where "a" is a constant and "b" is a scaling coefficient, W_c is the PC weight and W_f is the fish weight), was then determined for each sampling region and year. Resulting equations were $\log W_c = 0.90 \times \log W_f + 0.42$ ($r^2=0.92$) and $\log W_c = 0.81 \times \log W_f + 0.60$ ($r^2=0.88$) for Rouyn-Noranda fish in 2004 and 2005 respectively whereas for Sudbury fish the equations were $\log W_c = 0.93 \times W_f + 0.42$ ($r^2=0.91$) and $\log W_c = 0.82 \times W_f + 0.61$ ($r^2=0.90$) for 2004 and 2005 respectively. Using the scaling coefficients determined above ("b"), PC weights were corrected using the following equation:

$$W_{\text{corr}} = (W_m/W_f)^b \times W_c$$

where W_{corr} is the corrected PC weight, W_m is the mean fish weight for the dataset, W_f is the fish weight, "b" is the allometric exponent of the relationship and W_c is the uncorrected PC weight. Mean fish weights for 2004 were 46.8 g and 10.6 g for Rouyn-Noranda and Sudbury respectively whereas mean fish weights for 2005 were 18.0 g and 19.8 g for Rouyn-Noranda and Sudbury respectively. To examine inter-annual differences in PC weight, allometric corrections were recalculated to a mean fish weight for both years (32.0 g for Rouyn-Noranda fish, N = all 5 lakes; 8.0 g for Sudbury fish, N = 2, since only lakes Whitson (S5) and Hannah (S4) were sampled in both 2004 and 2005) and new allometric exponents determined ($\log W_c = 0.83 \times \log W_f + 0.55$ ($r^2=0.91$) and $\log W_c = 0.99 \times \log W_f + 0.45$ ($r^2=0.81$) for Rouyn-Noranda and Sudbury respectively).

Tissue metal analysis

Stomach contents and PC were analyzed for metal concentrations. Samples were lyophilized for 48 h and dry weights determined using a Sartorius RC 210D electronic balance (± 0.01 mg). The samples were transferred into Teflon[®] vials containing trace metal grade nitric acid, the lids were tightly closed and samples were heated in an 1100 W microwave oven at full power for periods of 30, 20, 15 and 10 s. Samples were allowed to rest for 1 to 2 min between heating periods. No solids remained in the acid after the microwave digestions. The digested tissues were left to cool overnight before being transferred into acid-washed polypropylene tubes containing Milli-Q[®] grade water sufficient for a 1/10 dilution. During digestions, one blank (trace metal grade HNO₃) and one digestion standard (TORT-2, NRC Canada) were included for each 20 samples digested. Samples were digested in batches of 20 samples, and the digested samples were stored at 4°C until analysis.

The concentrations of Cd, Cu and Ni in the digested samples were determined by Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) and analysis blanks and standards

were included every 12 samples. Internal standards were within 10% of nominal values in all cases and recovery of TORT-2 digestion standards was also within 10% in all cases, except for stomach contents in 2005, where recovery rates for Cd, Cu and Ni were between 73% and 76% of nominal values. A correction factor of 1.33 was therefore applied to all metals in 2005 stomach contents to correct for lower recovery rates.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the statistics software package JMP 5.1 (SAS Institute Inc.). Data were examined for normality and \log_{10} transformations were used to improve normality. Transformed data was used for most analyses because of improved normality. Where data were not normal, the results of parametric tests (ANOVA and Pearson's correlations), were confirmed using non-parametric methods (Chi square and Spearman's rank correlations). For ease of interpretation all graphs present non-transformed data. Analyses of variance (ANOVA) were used to examine inter-annual differences and ANOVAs with Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) multiple comparison tests were used to examine differences among lakes within a given region and year. Linear regression analysis was used to examine relationships between corrected PC weights and fish condition using log-transformed data.

Results

Tissue metal concentrations

For the Rouyn-Noranda region, the contamination gradient was most evident for Cd in both years and was particularly pronounced in the PC (Tables 2 and 3). Copper was also present at higher concentrations in the tissues of fish from contaminated lakes, though in both years the gradient was more evident in diet with Cu concentrations being particularly elevated in the stomach contents of Lake Osisko (R4) fish. Nickel concentrations were not consistently elevated

in fish from contaminated Rouyn-Noranda lakes. In fish from the Sudbury region, gradients were consistently observed for Ni and Cd in both PC and stomach contents for both years (Tables 2 and 3). Copper concentrations in both PC and stomach contents were also elevated in Hannah Lake (S4) fish and to a lesser extent in Whitson Lake (S5) fish.

When examining fish metal concentrations over the two sampling years, we observed important differences for the metal concentrations in PC and stomach content. It was therefore decided to examine these differences systematically and to relate these inter-annual differences to observed differences in physiological metrics (condition and PC weight). In Sudbury, inter-annual variations were only examined in the two most contaminated lakes. In all cases where differences between years were statistically significant, metal concentrations in 2004 were higher (Table 4). Differences ranged from as little as 30% (Osisko PC) to as much as 560% (Opasatica diet) and were more frequently observed in the stomach contents (12 of 18 cases) than in the PC (6 of 18 cases). Inter-annual differences in PC and stomach content metal concentrations were also more frequently observed in contaminated lakes than in reference lakes (42% vs. 25%). Inter-annual differences in Cd concentrations were more frequent in the Rouyn-Noranda area (41% vs. 25% of cases in Sudbury) whereas differences in Ni concentrations were more often observed in the Sudbury area (100% vs. 17% of cases in Rouyn-Noranda).

Fish condition

The condition of yellow perch showed a trend of decreased condition in fish from contaminated lakes (Figures 1 and 2), but there were certain exceptions to this trend. Lake Opasatica (R2) fish in 2005 displayed lower condition than fish from Lake Bousquet (R3), which had intermediate contamination. Fish from James Lake (S1b) had condition factors lower than fish from contaminated lakes (Hannah (S4) and Whitson (S5)) whereas the condition of fish from Barlow (S1a) was not different from that of fish in Hannah and Whitson lakes. Inter-annual

differences in condition were observed in fish from all lakes sampled in both years and in all cases fish condition in 2004 was higher than in 2005 ($p < 0.0001$ in all cases). Fish condition was higher in 2004 than in 2005, by the following percentages: Dasserat (R1): 31%, Opasatica (R2): 31%, Bousquet (R3): 29%, Osisko (R4): 30%, Dufault (R5): 44%, Hannah (S4): 8% and Whitson (S5): 16%. It should be noted that these differences cannot be attributed to differences in fish sizes between years. The method for calculating condition compensates for these size differences and the slopes for determining scaling coefficients in each year were systematically lower in 2005 vs. 2004 (see Figures S1-S4).

Pyloric caeca weights

Allometrically corrected PC weights are presented in Figures 3 and 4. The large regional differences in corrected PC weights in fish sampled in 2004 (Figure 3) reflect differences in mean weight of the fish sampled that year and used for the allometric corrections (46.8 g and 10.6 g for Rouyn-Noranda and Sudbury respectively). The large difference in mean fish weights was a consequence of our inability to capture larger sized fish in the Sudbury region in 2004, a result of the scarcity of large fish and difficulty in finding yellow perch. In 2004, Hannah Lake (S4) fish had larger PC than fish from reference lakes (Barlow (S1a) and Geneva (S2a)), but no significant inter-lake differences among Sudbury fish were identified in 2005. Similarly, no significant inter-lake differences were identified among corrected PC weights of Rouyn-Noranda fish in 2004. However, in 2005, fish from reference lakes (Dasserat (R1) and Opasatica (R2)) as well as Lake Bousquet (R3) had larger corrected PC weights than fish from Lake Dufault (R5). Pyloric caeca weights of fish from Dasserat (R1) were also significantly larger than those from Lake Osisko (R4). Examination of inter-annual differences showed that corrected PC were heavier in 2005 for both regions. Rouyn-Noranda fish had PC that were 14% heavier in 2005 ($p < 0.0001$)

whereas in fish from the two lakes from the Sudbury region, PC were heavier by 20% (p=0.0002).

Relationships between metal concentrations in pyloric caeca and diet

Relationships between metal concentrations in the PC and diet were examined (Table 5). In both regions and both study years, significant positive relationships were found for Cd. Similar results were found for Cu, although the relationship in Rouyn-Noranda in 2004 was not significant. Sudbury was the only region where significant relationships were found between dietary and PC Ni concentrations, relationships in both years being positive.

Relationships between fish condition and pyloric caeca weight

There were few significant relationships between corrected PC weights and fish condition. Only two negative relationships, i.e., smaller PC in fish with higher condition, were observed in 2004 for fish from lakes Hannah (S4) ($r^2=0.16$; $p=0.026$) and Richard (S3a) ($r^2=0.22$; $p=0.043$).

Discussion

Using PC weight to understand food web mediated changes in condition

The primary objective of this study was to examine the potential of PC weight as an aid in the interpretation of metal effects on the condition of wild yellow perch. Several laboratory studies have indicated that increased PC weight reflects increases in feeding rate (Krogdahl et al., 2005; Bakke-McKellep, 2005; Gauthier et al., 2008) and food conversion efficiency (Bergot et al., 1981), and that PC weight can also be affected by the type of diet (Magnan et al., 1993). We also know that PC weight is closely and positively linked to condition in laboratory-raised yellow perch (Gauthier et al., 2008).

Evidence collected in this study indicates that in wild yellow perch, PC weight does not correlate with Kn. This is in marked contrast to results obtained in laboratory trials (Gauthier et al., 2008). This discrepancy between the laboratory and field trials could be explained by the differences in activity of the fish. Fish in laboratory experiments were kept in aquaria and fed twice daily, therefore they did not have to spend energy to forage for food. Wild fish must spend quite substantial amounts of energy to forage for food and the increased expenditure is sometimes sufficient to erase advantages associated with increased feeding (Rennie et al., 2005). Another interesting finding was that pyloric caeca weights were not correlated with metal concentrations in the PC or the diet (data not shown). This suggests that differences in PC size for fish in contaminated lakes cannot be attributed to a direct toxic effect of metals.

Of the twenty comparisons performed, only two significant relationships between Kn and corrected PC weight were identified. However, these two cases were negative relationships, indicating that fish with higher condition had smaller PCs. Both of the instances where negative relationships between PC weight and Kn were observed were from contaminated Sudbury lakes

(Hannah and Richard lakes). Analysis of PC weights revealed heavier PC in yellow perch from contaminated Sudbury lakes in 2004 (Figure 3) and a similar, though non-significant, tendency in 2005 (Figure 4). Larger PCs in fish from contaminated lakes could reflect an increase in food intake to offset the negative effects of metal contamination, a reaction observed in *Cyprinus carpio* exposed to sublethal dietary copper (de Boeck et al., 1997). It has also been suggested that perch from the Sudbury region have been exposed to elevated environmental metal concentrations for a long enough period to have evolved mechanisms to control metal uptake (Couture et al., 2008). If yellow perch from contaminated lakes in Sudbury are able to control metal uptake in the gut, they could take advantage of lower predator densities (personal observations over several years of sampling in these lakes) to increase dietary intake and compensate for the negative effects associated with the presence of metals. A lower predator density (or even their absence in certain lakes) may mean that yellow perch can forage for a greater portion of the day (Post et Parkinson, 2001), which would allow them to compensate for the increased energetic demands of living in contaminated systems. The two negative relationships between PC weight and condition could also be an indication that increased feeding has had the unintended consequence of sufficiently increasing exposure to dietary metals to cause direct toxicity.

In contrast to the Sudbury area, yellow perch collected in the Rouyn-Noranda area in 2005 exhibited a trend of smaller PCs in fish from contaminated lakes than in those from reference lakes. Although no significant differences were found in 2004, a similar trend of smaller PCs with increasing contamination was also noted. If metal-contaminated environments in Rouyn-Noranda had lower densities of benthic invertebrates (vs. reference lakes), as has been observed (Kovecses et al., 2005), smaller PCs in contaminated lakes could be an indicator that yellow perch in those lakes have greater difficulty finding food.

The contrasts between the two study regions also highlight the difficulties involved in understanding the complex interactions that exist within an aquatic community, interactions that can cause negative effects on fish health. Whereas reduced condition in Rouyn-Noranda yellow perch living in contaminated systems may be caused by difficulty in finding food (indicated by smaller PC), this is not the case in Sudbury fish. In Sudbury, the yellow perch in contaminated systems seem to be feeding more than those in reference lakes, but are still exhibiting lower condition. The specific causes are unknown but could include increased energetic demands for detoxification or cellular repair, less nutritious food or increased foraging costs.

Using PC as indicators of dietary metal exposure

Metal gradients in the PC were found to reflect gradients in dietary contamination for the non-essential metals Cd and Ni. However, the correlations weren't as good for Cu, which is subject to metabolic regulation. The correlation between dietary and PC metal concentrations, as well as the apparent insensitivity of PC weight to the metals in the diet, suggest that PCs could be a useful organ within which to measure dietary metal exposure, especially for non-essential metals.

The interpretation of dietary contamination is a daunting task complicated by a host of factors including the extent of digestion, absorption by the gut, release of assimilated metals and uncertainties related to bioavailability (Meyer *et al.* 2005). Since PCs are a major site of absorption and are the first part of the intestine exposed to food digested in the stomach, they are an obvious organ in which to measure bioavailable dietary contaminants. Pyloric caeca also offer a more complete dataset compared to measuring metals in stomach contents since even if the digestive tract is empty (a common occurrence in field-sampled fish), the exposure of individuals to metals in the diet can still be estimated. Pyloric caeca also give a more holistic picture of dietary contamination, compared to metal concentrations in gut contents, since they integrate the

contamination for several meals over time and intrinsically account for differences in bioavailability of dietary metals. Given the large variability in dietary metal concentrations among fish, it is reasonable to assume that individual fish will be exposed to equivalent variability over the course of several meals. When compared to point estimates of diet contamination, the averaging of this variability in a single PC will inevitably lead to weak correlations between dietary and PC metal concentrations, as reported here. In our dataset, dietary metal concentrations explained between 11% and 54% of the variability in PC metal concentrations (Table 5).

Inter-annual variations

An interesting observation during this study was the extent and consistency of inter-annual variations in fish condition, PC weight and metal concentrations. When metal concentrations were examined in the PC and diet, higher concentrations were always observed in 2004. Such among year variations have been previously reported, with variations ranging from 135% to 250% for liver Cd and 130% to 570% for liver Cu (Couture et Rajotte, 2003). Identifying the causes of these changes is beyond the scope of this study, but further research examining the 100% to 375% differences in the stomach content metal concentrations and differences of 96% to 160% in PC metal concentrations from yellow perch living in contaminated lakes should be conducted. Water quality data taken during the sampling periods (not shown) show variations ranging from 2% to 80% in dissolved metal concentrations for contaminated lakes, inter-annual variations that were much smaller than those observed for tissue metals. Furthermore, in 40% of the cases, aqueous metal concentrations were higher in 2005, not lower.

Important annual differences were also observed for condition factor and, as reported for tissue metal concentrations, fish collected in 2004 always had higher values. This concordance,

higher metal concentrations and higher condition in 2004, could be linked and suggests a response to a common, dominant factor, possibly linked to year to year weather changes.

Inter-annual variations in condition factor were greater than those observed between reference and contaminated lakes within a year. For example, in Rouyn-Noranda lakes, fish in 2004 had condition factors 29% to 45% higher than their counterparts in 2005, whereas fish condition in Lake Dasserat (R1) was 17% higher than in Lake Dufault (R5) in 2004 and 30% higher in 2005. Studies done in the Sudbury region have identified seasonal differences in condition factor ranging from 4% to 14% (Eastwood et Couture, 2002; Audet et Couture, 2003) whereas in 2006 seasonal differences in the Rouyn-Noranda region ranged from 0% to 17% (C. Gauthier, unpublished data). This demonstration of the generality of year-to-year variability highlights the need to consider annual variations in environmental monitoring studies within a region.

In contrast to inter-annual differences in condition factor and dietary metal concentrations, corrected PC weights for fish collected in 2005 were heavier by 14% and 20% for the Rouyn-Noranda and Sudbury regions respectively vs. 2004 values. In this case though, inter-lake differences were of approximately the same magnitude as inter-annual variations (ranging from 14% to 38%). Increased PC mass is generally linked to increased feeding (Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005; Gauthier et al., 2008), which should lead to increased condition. This does not appear to be the case since PC were larger in 2005 whereas condition was higher in 2004. In contrast to our observations for lab-raised yellow perch (Gauthier *et al.* 2008), there seems to be a de-coupling of the relationship between PC weight and condition in wild fish. It could be that fish in 2005 were feeding more, but that factors such as increased predation and competition or increased foraging costs were preventing them from increasing their condition factor.

Though not among the primary objectives of this study, the results obtained here lend further support to the hypothesis that fish inhabiting metal-contaminated environments typically exhibit reduced condition. Both study regions have a long history of research examining the impacts of mining and smelting activities on the local environments. A recent study (Couture et Pyle, 2008) examined a variety of factors and highlighted the complexity involved with studies of the effects of metal contamination on fish condition. The present study adds inter-annual variations to the list of factors to consider, especially if long-term trends are to be examined. More research efforts are required to improve our understanding of the ecological underpinnings of these effects. Although the unravelling of these effects will be a daunting task, a better understanding of how altered communities affect the health and condition of fish will no doubt prove essential in the eventual rehabilitation of contaminated environments.

Conclusions

This study examined the potential of PC mass for interpreting changes in fish condition observed in metal contaminated environments. The general lack of correlation between PC mass and fish condition observed in most of the perch populations indicates that factors other than feeding rate determine the ability of fish to accumulate energetic reserves. However, negative correlations between PC mass and condition observed in fish living in two contaminated lakes suggest direct dietary metal toxicity induced by increased feeding.

The correlations between metal concentrations in PC and those in stomach contents allow us to propose that PC are a useful organ with which to monitor dietary contamination. Our data also suggest that within-lake inter-annual variations in fish condition, PC mass and dietary and PC metal concentrations are large and need to be considered in long-term monitoring studies. Given the importance of indirect effects on the condition of yellow perch from metal-

contaminated environments suggested by our study, future studies should consider in more detail contaminant-related changes in ecological variables.

Being able to better interpret the effects of metal contamination on fish condition and having an indication of the potential magnitude of year to year variations is needed to better interpret long-term trends in these two regions, which are recovering from a long history of environmental degradation.

Acknowledgements

Funding for this study was provided by the Natural Science and Engineering Research Council of Canada. The authors would also like to thank all the technical staff at INRS-ETE for their help analysing samples as well as the students from INRS and Nipissing University for their help during field sampling.

References

- Audet, D., Couture, P., 2003. Seasonal variation in tissue metabolic capacities of yellow perch (*Perca flavescens*) from clean and metal-contaminated environments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60, 269-278.
- Beamish, F.W.H., 1964. Respiration of fishes with special emphasis on standard oxygen consumption. II. Influence of weight and temperature on respiration of several species. *Can. J. Zool.* 42, 177-188.
- Bell, M.V., Dick, J.R., and Porter, A.E.A., 2003. Pyloric ceca are significant sites of newly synthesized 22:6n-3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids* 38, 39-44.
- Bennett, P.M., Janz, D.M., 2007. Bioenergetics and growth of young-of-the-year northern pike (*Esox lucius*) and burbot (*Lota lota*) exposed to metal mining effluent. *Ecotox. Environ. Saf.* 68, 1-12.
- Bergot, P., Blanc, J.M., and Escaffre, A.M., 1981. Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 22, 81-96.
- Bertolo, A., Magnan, P., 2005. The relationship between piscivory and growth of white sucker (*Catostomus commersoni*) and yellow perch (*Perca flavescens*) in headwater lakes of the Canadian Shield. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 2706-2715.
- Buddington, R.K., Diamond, J.M., 1987. Pyloric ceca of fish: A "new" absorptive organ. *Am. J. Phys.* 252, G65-G76.
- Campbell, P.G.C., Hontela, A., Rasmussen, J.B., Giguère, A., Gravel, A., Kraemer, L., Kovescs, J., Lacroix, A., Levesque, H., and Sherwood, G., 2003. Differentiating between direct

(physiological) and food-chain mediated (bioenergetic) effects in fish in metal-impacted lakes. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 9, 847-866.

Clements, W.H., Rees, D.E., 1997. Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habits, and metal uptake of brown trout in the Arkansas River, Colorado. *Trans. Am. Fish. Soc.* 126, 774-785.

Couture, P., Rajotte, J.W., 2003. Morphometric and metabolic indicators of metal stress in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from Sudbury, Ontario: A review. *J. Environ. Monit.* 5, 216-221.

Couture, P., Busby, P., Gauthier, C., Rajotte, J.W., and Pyle, G., 2008. Seasonal and regional variations of metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. I. Factors influencing tissue metal concentrations. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 14, 97-125.

Couture, P., Pyle, G., 2008. Live fast and die young: Metal effects on condition and physiology of wild yellow perch from along two polymetallic contamination gradients. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 14, 73-96.

de Boeck, G., Vlaeminck, A., and Blust R., 1997. Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 415-422. 97.

Dutil, J.-D., Lambert, Y., 2000. Natural mortality from poor condition in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57, 826-836.

Eastwood, S., Couture, P., 2002. Seasonal variations in condition and liver metal concentrations

- of yellow perch (*Perca flavescens*) from a metal-contaminated environment. *Aquat. Toxicol.* 58, 43-56.
- Engelhard, G.H., Helno, M., 2006. Climate change and condition of herring (*Clupea harengus*) explain long-term trends in extent of skipped reproduction. *Oecologia* 149, 593-603.
- Gauthier, C., Campbell, P.G.C., and Couture, P., 2008. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Comp. Biochem. . Physiol.* 151, 526-532
- Gauthier, C., Couture, P., and Pyle, G.G., 2006. Metal effects on fathead minnows (*Pimephales promelas*) under field and laboratory conditions. *Ecotox. Environ. Saf.* 63, 353-364.
- Giguère, A., Campbell, P.G.C., Hare, L., McDonald, D.G., and Rasmussen, J.B., 2004. Influence of lake chemistry and fish age on cadmium, copper, and zinc concentrations in various organs of indigenous yellow perch (*Perca flavescens*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61, 1702-1716.
- Hare, L., Tessier, A., 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* 380, 430-432.
- Iles, A.C., Rasmussen, J.B., 2005. Indirect effects of metal contamination on energetics of yellow perch (*Perca flavescens*) resulting from food web simplification. *Freshw. Biol.* 50, 976-992.
- Kovacs, J., Sherwood, G.D., and Rasmussen, J.B., 2005. Impacts of altered benthic invertebrate communities on the feeding ecology of yellow perch (*Perca flavescens*) in metal-contaminated lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 153-162.

- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M., 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 141A, 450-460.
- Magnan, P., Stevens, E.D., 1993. Pyloric caecal morphology of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, in relation to diet. *Environ. Biol. Fishes* 36, 205-210.
- Meyer, J.S., Adams, W.J., Brix, K.V., Luoma, S.N., Mount, D.R., Stubblefield, W.A., and Wood, C.M. 2005. *Toxicity of Dietborne Metals to Aquatic Organisms*. SETAC Press, Pensacola.
- Munkittrick, K.R., Dixon, D.G., 1988. Growth, fecundity, and energy stores of white sucker (*Catostomus commersoni*) from lakes containing elevated levels of copper and zinc. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1355-1365.
- Munkittrick, K.R., Miller, P.A., Barton, D.R., and Dixon, D.G., 1991. Altered performance of white sucker populations in the Manitowadge chain of lakes is associated with changes in benthic macroinvertebrate communities as a result of copper and zinc contamination. *Ecotox. Environ. Saf.* 21, 318-26.
- Nriagu, J.O., Wong, H.K., Lawson, G., and Daniel, P., 1998. Saturation of ecosystems with toxic metals in Sudbury basin, Ontario, Canada. *Sci. Tot. Environ.* 223, 99-117.
- Post, J.R., Parkinson, E.A., 2001. Energy allocation in young fish: Allometry and survival. *Ecology* 82, 1040-1051.
- Pyle, G.G., Busby, P., Gauthier, C., Rajotte, J.W., and Couture, P., 2008. Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca*

- flavescens*) along two polymetallic gradients. II. Growth patterns, longevity, and condition. Hum. Ecol. Risk Assess. 14, 126-145.
- Pyle, G.G., Rajotte, J.W., and Couture, P., 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. Ecotox. Environ. Saf. 61, 287-312.
- Rennie, M.D., Collins, N.C., Shuter, B.J., Rajotte, J.W., and Couture, P., 2005. A comparison of methods for estimating activity costs of wild fish populations: More active fish observed to grow slower. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 62, 767-780.
- Sherwood, G.D., Rasmussen, D.J., Rowan, D.J., Brodeur, J., and Hontela, A., 2000. Bioenergetic costs of heavy metal exposure in yellow perch (*Perca flavescens*): in situ estimates with a radiotracer (^{137}Cs) technique. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57, 441-450.
- Sherwood, G.D., Kovacs, J., Hontela, A., and Rasmussen, J.B., 2002. Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 59, 1-5.
- Weatherley, A.M., Gill, H.S., 1983. Relative growth of tissues at different somatic growth rates in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish. Biol. 22, 43-60.

Table 1: Lake name, region, contamination rank and geographical coordinates for study lakes.

Region	Lake	Rank	Longitude	Latitude
Rouyn	Dasserat	R1	48° 13' 29" N	79° 24' 04"W
Rouyn	Opasatica	R2	48° 04' 37" N	79° 17' 41"W
Rouyn	Bousquet	R3	48° 12' 59" N	78° 38' 52"W
Rouyn	Osisko	R4	48° 14' 35" N	79° 00' 24"W
Rouyn	Dufault	R5	48° 18' 20" N	78° 59' 54"W
Sudbury	Barlow	S1a	46° 17' 39" N	80° 34' 33"W
Sudbury	James	S1b	46° 17' 16" N	78° 59' 47"W
Sudbury	Geneva	S2a	46° 45' 52" N	81° 32' 35"W
Sudbury	Nosbonsing	S2b	46° 11' 54" N	79° 12' 50"W
Sudbury	Richard	S3a	46° 26' 14" N	80° 55' 00"W
Sudbury	Ramsey	S3b	46° 27' 05" N	80° 53' 07"W
Sudbury	Hannah	S4	46° 26' 34" N	81° 02' 24"W
Sudbury	Whitson	S5	46° 35' 19" N	80° 58' 28"W

Table 2: Metal concentrations for yellow perch pyloric cæca (Cæca) and stomach contents (Diet) collected in 2004. All values are µg/g dry wt. Different letters in the Sig column indicate significant differences in metal concentrations for that compartment and region.

Region	Lake	Compartment	n	Cd			Cu			Ni		
				Mean	SEM	Sig	Mean	SEM	Sig	Mean	SEM	Sig
Rouyn	Dasserat (R1)	Cæca	22	0.97	0.10	c	8.10	0.67	ab	0.30	0.05	ab
Rouyn	Opasatica (R2)	Cæca	24	0.78	0.11	c	6.45	0.57	bc	0.25	0.07	b
Rouyn	Bousquet (R3)	Cæca	24	1.77	0.15	b	5.32	0.39	c	0.39	0.09	ab
Rouyn	Osisko (R4)	Cæca	24	2.55	0.31	b	8.30	0.46	a	0.50	0.09	a
Rouyn	Dufault (R5)	Cæca	25	7.13	1.10	a	9.55	0.85	a	0.32	0.05	ab
Rouyn	Dasserat (R1)	Diet	21	7.19	1.37	b	80.1	14.2	b	3.92	0.7	b
Rouyn	Opasatica (R2)	Diet	24	8.75	2.51	b	128	48.6	b	5.57	0.67	ab
Rouyn	Bousquet (R3)	Diet	24	13.6	1.62	a	58	6.6	b	4.7	0.49	ab
Rouyn	Osisko (R4)	Diet	23	20	4.27	a	292	42.9	a	10.4	2.17	a
Rouyn	Dufault (R5)	Diet	21	30.7	4.14	a	324	59.5	a	3.6	0.42	b
Sudbury	Barlow (S1a)	Cæca	24	0.85	0.08	c	6.03	0.23	c	3.46	0.55	bc
Sudbury	Geneva (S2a)	Cæca	24	0.77	0.11	c	6.64	0.37	bc	2.35	0.29	c
Sudbury	Richard (S3a)	Cæca	23	2.70	0.42	b	7.55	0.76	bc	5.06	0.84	b
Sudbury	Hannah (S4)	Cæca	25	4.84	0.50	a	15.35	1.95	a	13.14	2.26	a
Sudbury	Whitson (S5)	Cæca	25	2.86	0.49	b	8.75	0.76	b	5.85	0.72	b
Sudbury	Barlow (S1a)	Diet	18	2.94	0.61	c	54.1	8.57	c	22.3	3.81	c
Sudbury	Geneva (S2a)	Diet	23	2.59	0.53	c	53.6	8.25	c	34.8	11.7	c
Sudbury	Richard (S3a)	Diet	22	7.93	2.24	bc	68.7	16.7	c	146	63.3	bc
Sudbury	Hannah (S4)	Diet	24	24.8	2.53	a	318	32.9	a	272	34.3	a
Sudbury	Whitson (S5)	Diet	24	8.75	1.53	b	130	22	b	99	26.9	b

Table 3: Metal concentrations for yellow perch pyloric cæca (Cæca) and stomach contents (Diet) collected in 2004. All values are µg/g dry wt. Different letters in the Sig column indicate significant differences in metal concentrations for that compartment and region.

Region	Lake	Compartment	n	Cd			Cu			Ni		
				Mean	SEM	Sig	Mean	SEM	Sig	Mean	SEM	Sig
Rouyn	Dasserat (R1)	Cæca	25	0.91	0.07	c	6.4	0.34	bc	0.14	0.04	b
Rouyn	Opasatica (R2)	Cæca	25	0.87	0.09	c	4.65	0.28	d	0.24	0.04	b
Rouyn	Bousquet (R3)	Cæca	25	1.51	0.12	b	5.41	0.31	cd	0.42	0.07	a
Rouyn	Osisko (R4)	Cæca	25	1.96	0.27	b	8.55	0.66	a	0.26	0.02	ab
Rouyn	Dufault (R5)	Cæca	25	7.14	0.99	a	8.43	0.76	ab	0.48	0.08	a
Rouyn	Dasserat (R1)	Diet	24	3.75	0.41	b	57.4	4.86	b	3.64	0.39	a
Rouyn	Opasatica (R2)	Diet	17	1.33	0.22	c	28.2	4.85	c	5.49	1.15	a
Rouyn	Bousquet (R3)	Diet	20	4.79	0.86	b	29.5	3.45	c	7.86	1.14	a
Rouyn	Osisko (R4)	Diet	20	6.17	0.76	ab	238	49.1	a	5.33	0.67	a
Rouyn	Dufault (R5)	Diet	20	9.96	1.36	a	80.8	25.8	b	4.22	0.86	a
Sudbury	James (S1b)	Cæca	25	0.14	0.01	d	4.87	0.37	bc	0.25	0.06	b
Sudbury	Nosbonsing (S2b)	Cæca	25	0.26	0.02	c	5.02	0.28	bc	0.29	0.04	b
Sudbury	Ramsey (S3b)	Cæca	25	2.43	0.37	b	6.99	0.57	b	3.86	0.37	a
Sudbury	Hannah (S4)	Cæca	16	4.34	0.42	a	14.8	3.14	a	6.27	1.71	a
Sudbury	Whitson (S5)	Cæca	25	3.56	0.36	a	3.98	0.29	c	2.47	0.3	a
Sudbury	James (S1b)	Diet	3	0.14	0.02	b	4.43	0.89	b	5.56	2.51	bc
Sudbury	Nosbonsing (S2b)	Diet	22	0.79	0.15	b	47.1	3.91	a	7.77	2.85	c
Sudbury	Ramsey (S3b)	Diet	19	5.35	0.85	a	75.1	10.8	a	52.1	7.89	ab
Sudbury	Hannah (S4)	Diet	12	5.22	1.24	a	214	82.1	a	148	68.7	a
Sudbury	Whitson (S5)	Diet	7	6.13	0.43	a	63.0	14.9	a	47.1	10.7	a

Table 4: Inter-annual differences in PC and diet metal concentrations. Empty cells indicate no statistically significant difference ($p>0.05$). Where statistical differences were observed, data from 2004 were always higher and % difference is indicated.

Lake	Tissue	Cd	Cu	Ni
Dasserat	Cæca	-	-	-
R1	Diet	-	-	-
Opasatica	Cæca	-	38%	-
R2	Diet	557%	353%	-
Bousquet	Cæca	-	-	-
R3	Diet	183%	96%	-
Osisko	Cæca	30%	-	96%
R4	Diet	224%	-	95%
Dufault	Cæca	-	-	-
R5	Diet	208%	301%	-
Hannah	Cæca	-	-	109%
S4	Diet	375%	-	83%
Whitson	Cæca	-	131%	160%
S5	Diet	-	106%	111%

Table 5: Relationships between metal concentrations in diet vs. pyloric caeca. Values are r^2 ($p < 0.001$), NS indicates a non significant relationship. All relationships were positive.

Region	Year	Cd	Cu	Ni
Rouyn	2004	0.11	NS	NS
	2005	0.30	0.26	NS
Sudbury	2004	0.37	0.23	0.26
	2005	0.54	0.19	0.43

Figure Captions

Figure 1: Condition factor of yellow perch captured in 2004. Rouyn-Noranda (dark bars) and Sudbury (light bars) lakes are arranged with contamination gradients increasing left to right for each region. Values are means + standard deviations. Different letters within each region represent significant differences ($p \leq 0.05$) among samples.

Figure 2: Condition factor of yellow perch captured in 2005. Rouyn-Noranda (dark bars) and Sudbury (light bars) lakes are arranged with contamination gradients increasing left to right for each region. Values are means + standard deviations. Different letters within each region represent significant differences ($p \leq 0.05$) among samples.

Figure 3: Corrected wet weights of pyloric caeca collected in 2004. Values for Rouyn-Noranda were corrected to a mean fish weight of 46.8 g whereas those from Sudbury were corrected to a mean fish weight of 10.6 g. Values are means plus standard deviations. Different letters within each region represent significant differences ($\alpha \leq 0.05$) among samples.

Figure 4: Corrected wet weights of pyloric caeca collected in 2005. Values for Rouyn-Noranda were corrected to a mean fish weight 18.0 g of whereas those from Sudbury were corrected to a mean weight of 19.8 g. Values are means plus one standard deviation. Different letters within each region represent significant differences ($\alpha \leq 0.05$) among samples.

Figure 1

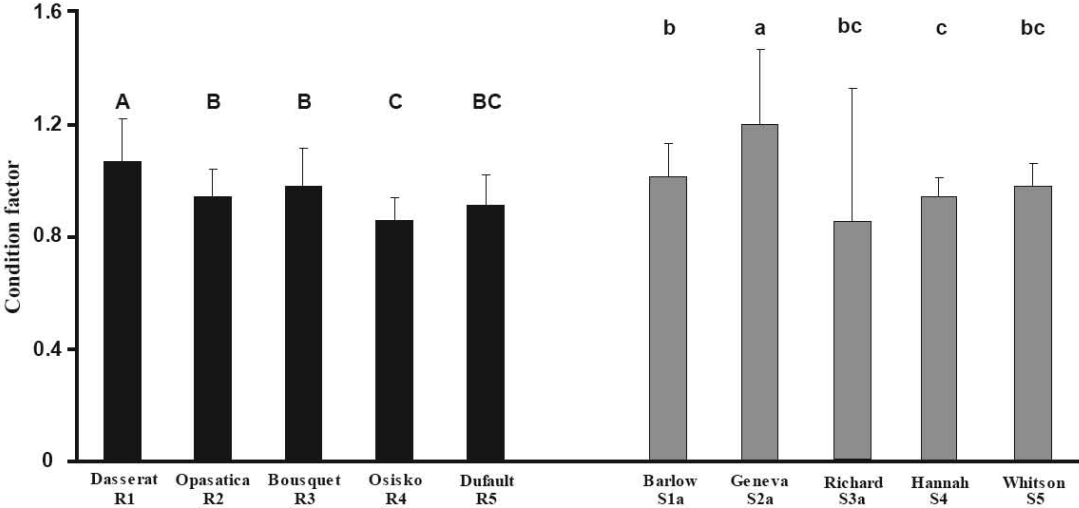


Figure 2

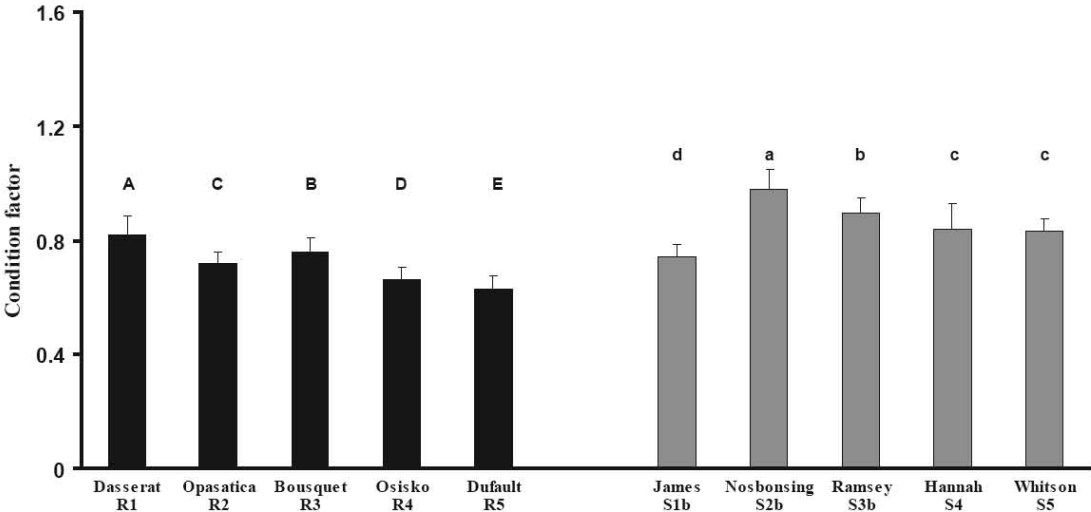


Figure 3

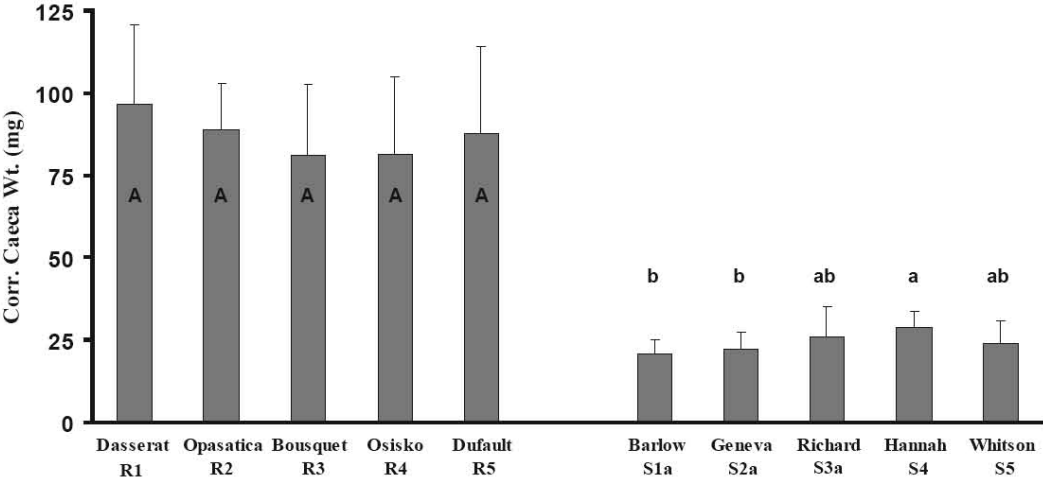
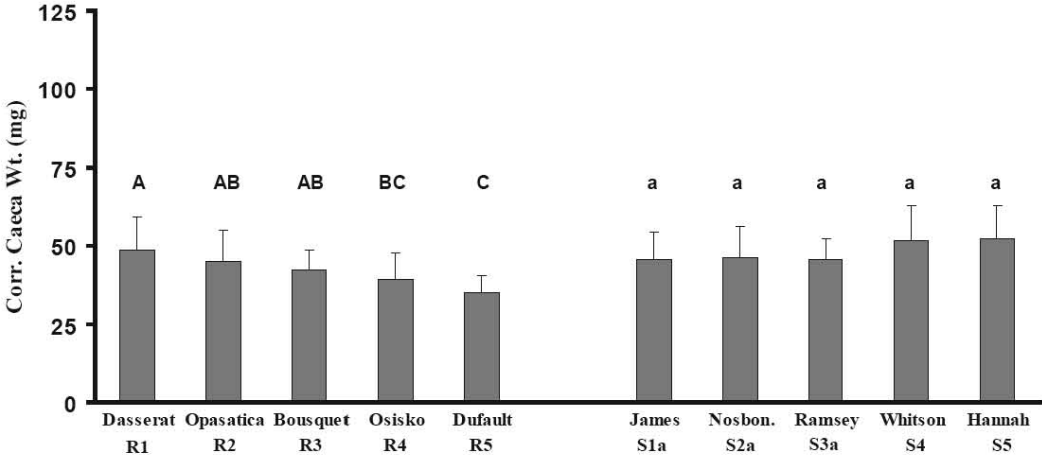


Figure 4



Headings for supplemental figures

Figure S1: Relationship between log₁₀ transformed weight and length for each fish captured in Rouyn-Noranda in 2004. n=243

Figure S2: Relationship between log₁₀ transformed weight and length for each fish captured in Sudbury in 2004. n=393

Figure S3: Relationship between log₁₀ transformed weight and length for each fish captured in Rouyn-Noranda in 2005. n=250

Figure S4: Relationship between log₁₀ transformed weight and length for each fish captured in Sudbury in 2005. n=250

Figure S5: Relationship between fish weight and uncorrected PC weight using logarithmic scales for each fish captured in Rouyn-Noranda in 2004. n=243

Figure S6: Relationship between fish weight and uncorrected PC weight weight using logarithmic scales for each fish captured in Sudbury in 2004. n=295

Figure S7: Relationship between fish weight and uncorrected PC weight weight using logarithmic scales for each fish captured in Rouyn-Noranda in 2005. n=114

Figure S8: Relationship between fish weight and uncorrected PC weight weight using logarithmic scales for each fish captured in Sudbury in 2005. n=118

Figure S1

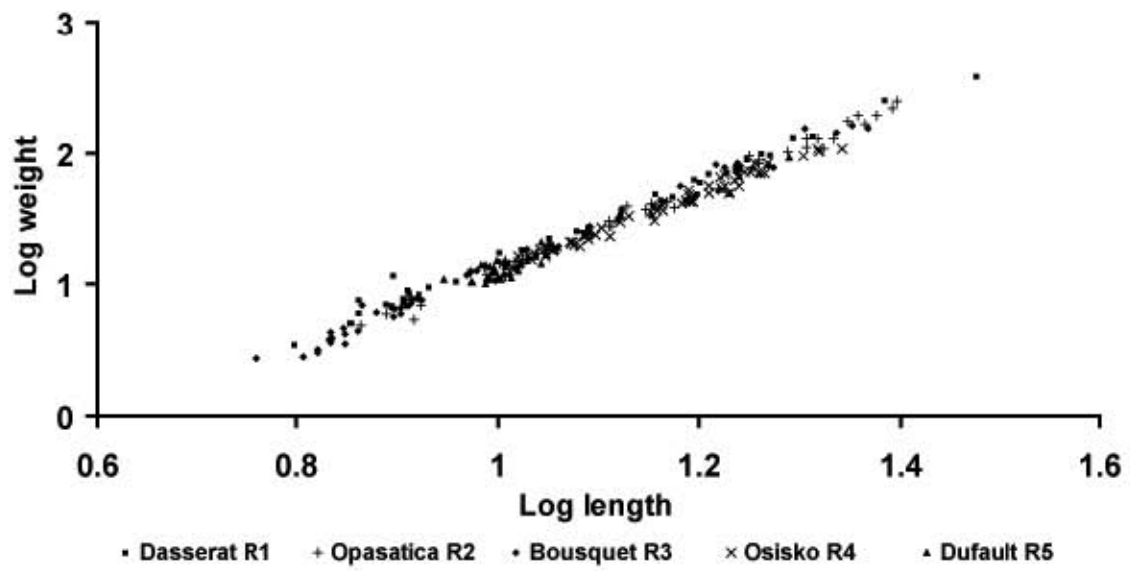


Figure S2

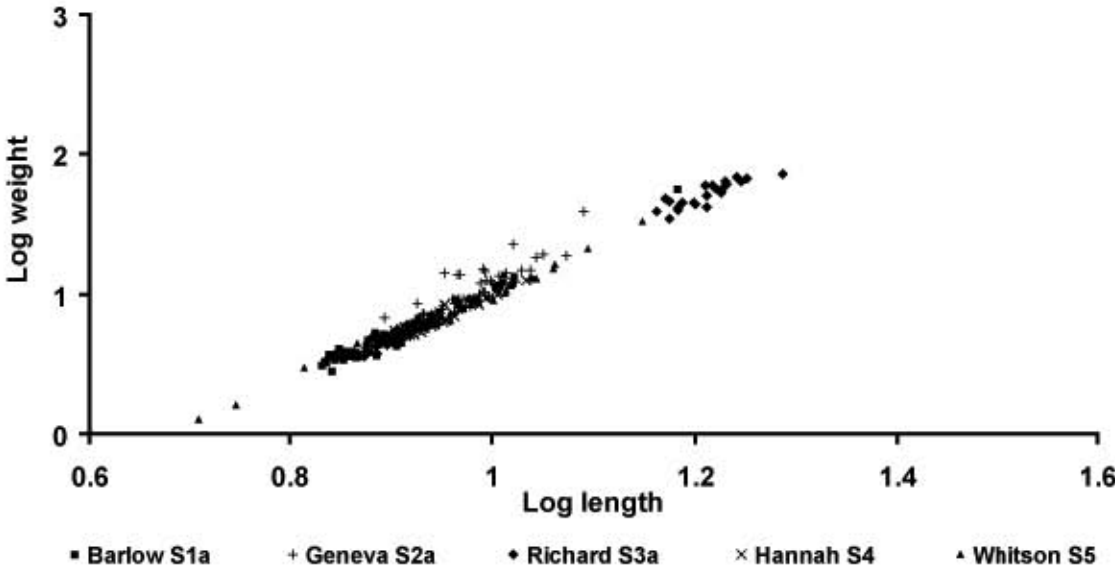


Figure S3

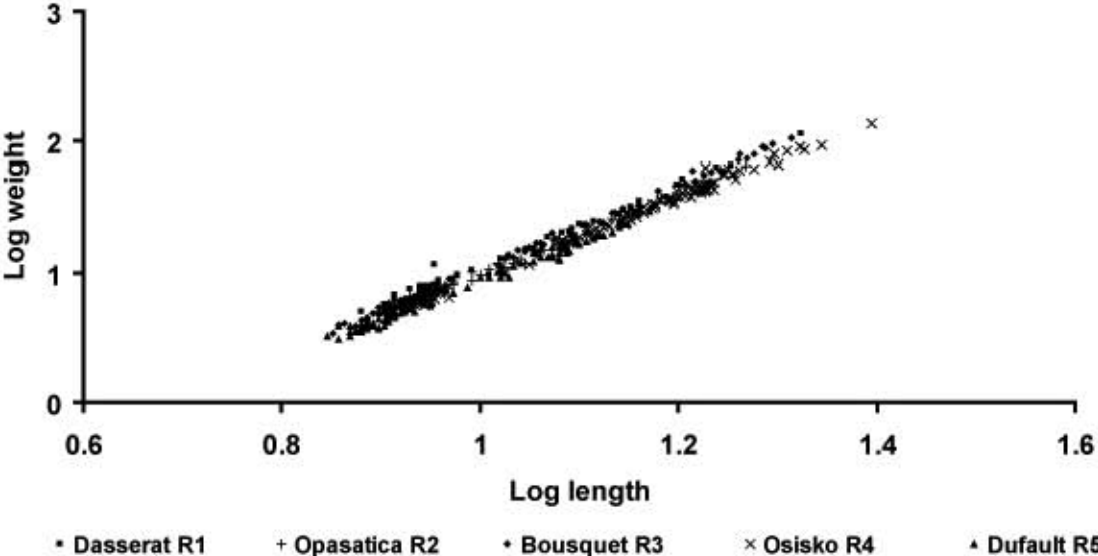


Figure S4

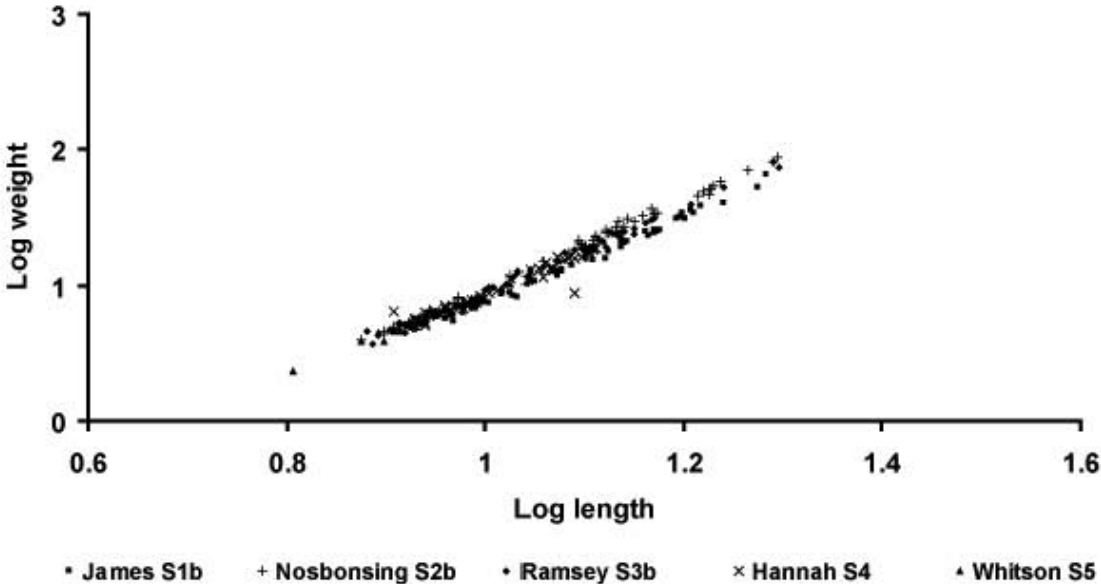


Figure S5

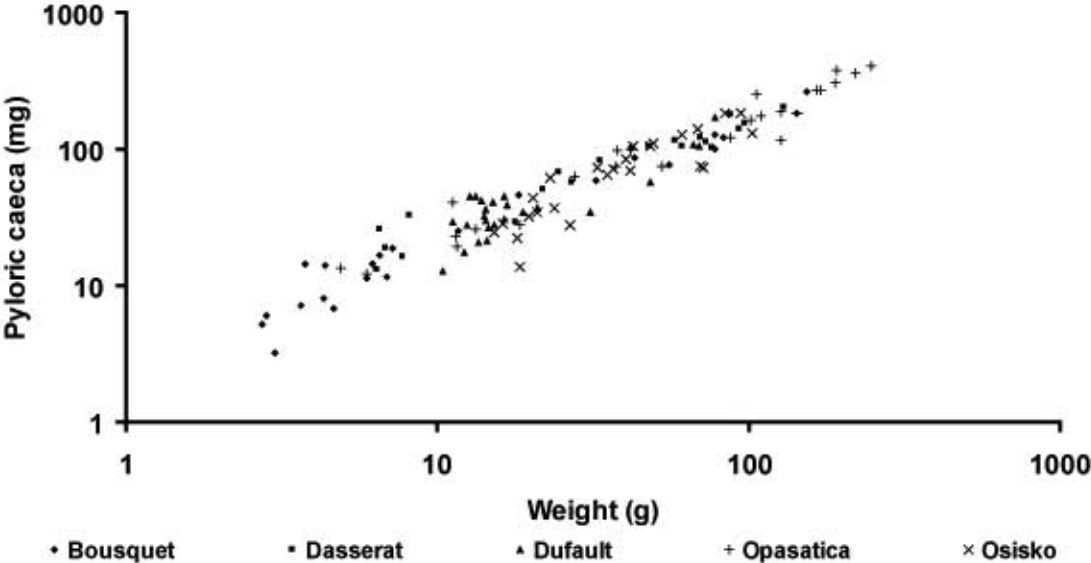


Figure S6

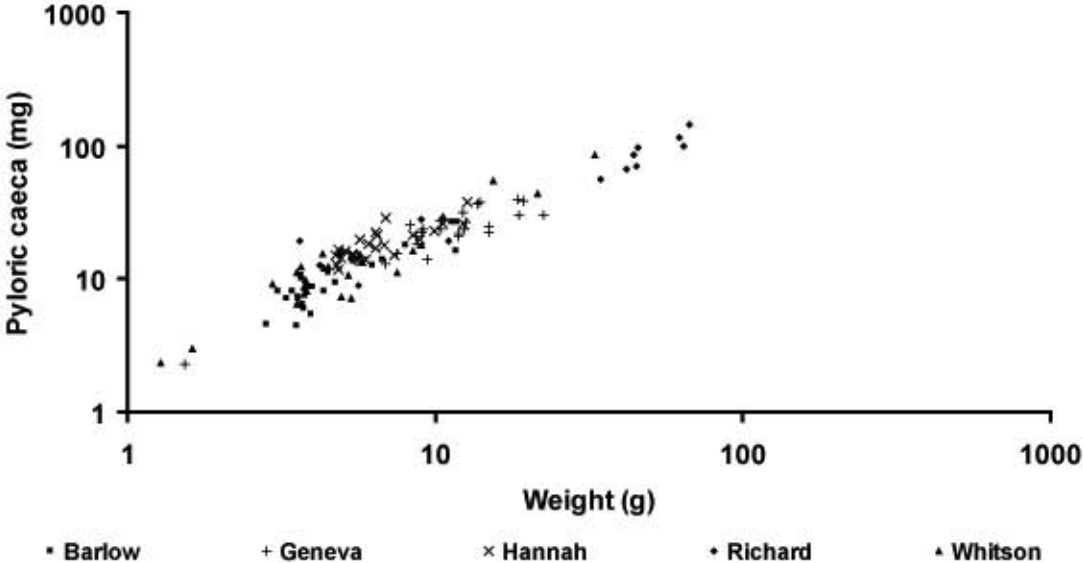


Figure S7

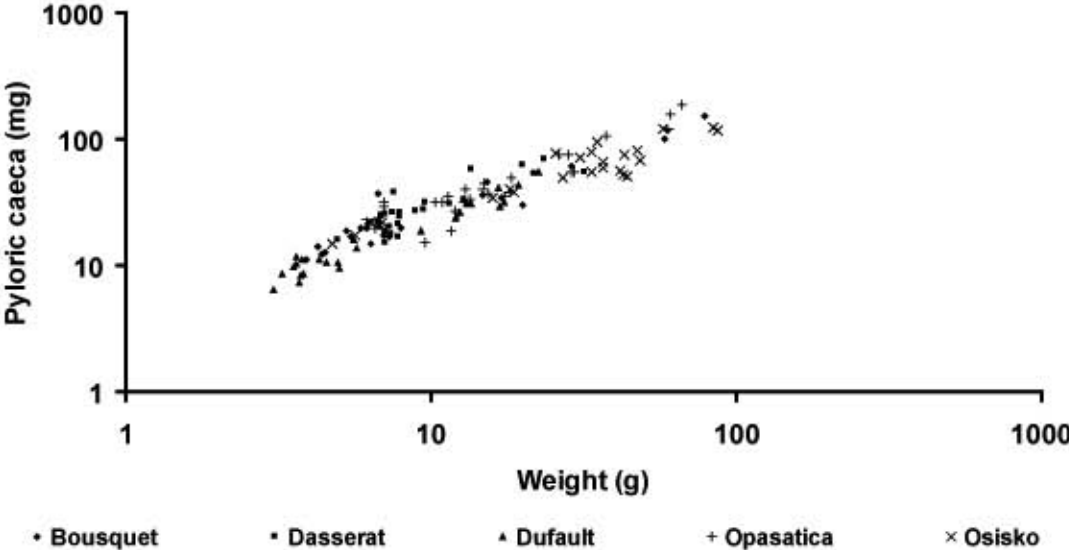
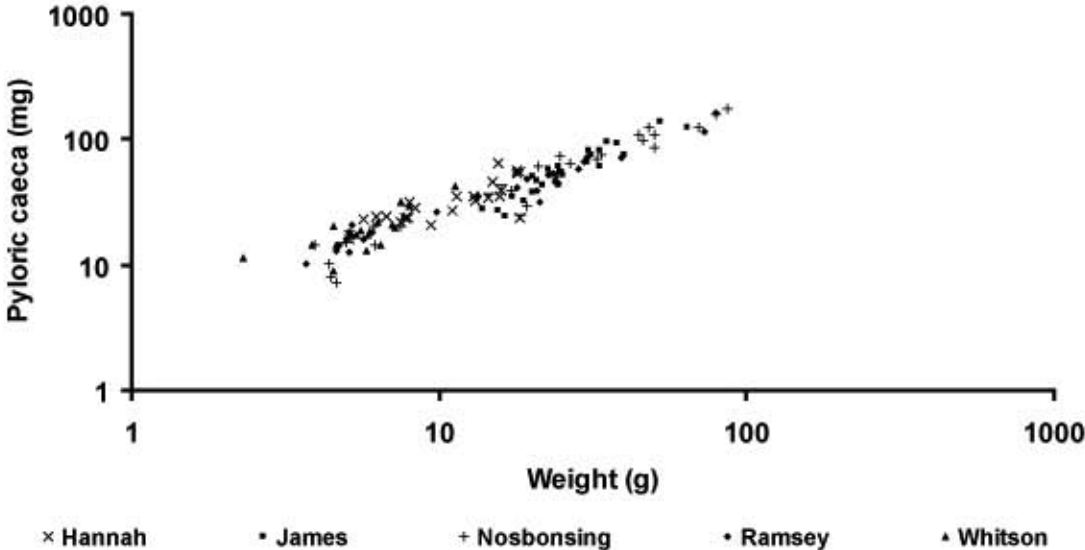


Figure S8



1.3 Article 3

GAUTHIER, C., Campbell, P.G.C., Couture, P. Enzymatic correlates of energy status in wild yellow perch inhabiting clean and contaminated environments. En revision pour soumission à Environmental Toxicology and Chemistry.

**Enzymatic correlates of energy status in wild yellow perch
inhabiting clean and contaminated environments**

Charles Gauthier, Peter G.C. Campbell, Patrice Couture

Institut national de la recherche scientifique – Centre Eau Terre Environnement.

490 rue de la Couronne, Québec, QC, Canada G1K 9A9.

Abstract

Enzymes representing a variety of metabolic pathways were examined in yellow perch (*Perca flavescens*) from a metal contaminated region (Rouyn-Noranda, Canada) to determine enzymatic relationships to fish condition factor (CF), pyloric cæca weight and visceral lipid accumulation, as well as to better understand the influence of metal contamination on the physiology and biometrics of perch. When compared to laboratory reared fish, our results indicate that wild perch (regardless of contamination) were under important energy restrictions and preferentially invested in growth and protein synthesis, rather than in lipid accumulation. For example, negative correlations of CF with pyloric cæca weight and visceral lipids indicated that fish maintained CF at the expense of these other tissues. The addition of contaminant stress to existing energy restrictions led to changes in the relationships between enzymes and biometrics, reducing the predictive power of the models for perch in contaminated lakes. The inclusion of aerobic enzymes (cytochrome c oxidase and citrate synthase) to relationships for fish from contaminated lakes also points towards greater energy restrictions vs. fish from reference lakes. Combined with qualitative observations from both reference and contaminated lakes, these results point towards the importance of food web mediated effects on fish health. This study sheds further light on the impacts of metal contamination on wild fish and highlights the need to take into account indirect community level effects on perch physiology when examining contaminated systems.

Keywords: *Perca flavescens*, pyloric cæca, visceral lipids, condition factor, enzymes

Introduction

Situated in north-western Québec, Canada, the region surrounding Rouyn-Noranda has suffered from a long exposure to copper mining and smelting. Metals have contaminated many lakes in the area and metal effects on fish and invertebrates in the region have been regularly studied since the early 1990's [1-4]. Research has also demonstrated that the physiology of yellow perch (*Perca flavescens*) living in these contaminated systems is affected [5-8].

However, interpreting the causes of these physiological impairments is far from simple. Fish condition factor (CF) is a common metric and an indicator of accumulated energy reserves and recent feeding [9,10]. Fish exposed to metals in the laboratory don't typically show negative impacts on their CF [11-13], though there are exceptions at very high exposure concentrations [14]. However, in contaminated lakes the environment is much more complex because of variable water chemistry and community effects (e.g. predation, competition, and parasitism). In earlier studies, fish CF in contaminated systems was often negatively impacted [7,15,16], though metal effects on the CF can be inconsistent among contaminated sites [17,18], and in some cases fish CF was actually higher in contaminated lakes [19,20].

A previous laboratory study [9] demonstrated that the CF of yellow perch was closely linked to several other metrics, namely pyloric cæca weight, visceral lipid index (VLI) and the activities of three enzymes, citrate synthase (CS), lactate dehydrogenase (LDH) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH). By examining the relationships among these same enzymes and biometric parameters on wild populations of yellow perch, we sought a more holistic understanding of the effect of metal contamination on their physiology. Furthermore, the presence of metals (Cd, Cu and Ni) in the tissues and diet was also examined to determine how these metals influenced the relationships between physiological and biometric indicators of CF.

To our knowledge, this is the first study that combines these indicators and examines the relationships among them in wild fish with laboratory data as a frame of reference.

To examine perch with different feeding regimes and physiological states, samples were collected in mid-June, after the spawning season and when lake productivity is at its peak, as well as in mid-August when productivity is lower and perch are in preparation for the upcoming winter. With these different physiological states, our first objective was to examine how relationships among biometric and metabolic indicators changed when comparing fish from reference and contaminated systems and between seasons. A series of enzymes representing glycolysis (pyruvate kinase (PK)), aerobic metabolism (CS, cytochrome c oxidase (CCO)), anaerobic ATP production (LDH), protein synthesis (nucleoside diphosphate kinase (NDPK)) and lipid anabolism (G6PDH) were examined. We hypothesize that the importance of aerobic pathways will increase in fish from contaminated lakes, as has been observed in previous studies [21]. Our second objective was to determine whether results obtained in the laboratory corresponded to observations in wild fish. Using previous laboratory studies as a frame of reference, it was hypothesized that muscle LDH and intestinal G6PDH would be correlated with the CF, as well as with pyloric cæca weight and VLI. Nucleoside diphosphate kinase (NDPK) and G6PDH activities in pyloric cæca should also be related to pyloric cæca weight and muscle LDH and cæcal G6PDH should be correlated with the VLI.

Materials and Methods

Study Lakes

The lakes examined in this study were chosen on the basis of several years of sampling experience by the authors as well as previous studies in the region examining a variety of species and endpoints [1,6,22,23,24]. Contaminated lakes in the Rouyn-Noranda region were Lake Dufault (DU; 48° 18' 20" N, 78° 59' 54" W; sampled June 13th and August 19th 2006) and Lake

Osisko (OS; 48° 14' 35" N, 79° 00' 24" W; June 16th and Aug. 20th), located, respectively, 1 km southeast and 4 km north, of the Horne smelting complex (48° 15' 11" N, 79° 00' 39" W). Lake Bousquet (BO; 48° 12' 59" N, 78° 38' 52" W; June 14th and Aug. 17th) was chosen as a moderately contaminated lake and is located 25 km east of Rouyn-Noranda. The two reference lakes were Lake Dasserat (DA; 48° 13' 29" N, 79° 24' 04" W; June 17th and Aug. 21st) and Lake Opasatica (OP; 48° 04' 37" N, 79° 17' 41" W; June 15th and Aug. 18th), each approximately 26 km west of Rouyn-Noranda. Despite being a similar distance from the smelters as Lake Bousquet, dominant winds in the region flow from west to east and the reference lakes have been largely spared from aerial deposition originating from smelting operations.

In each lake and season, 30 yellow perch were sampled by angling or seining, except in Lake Bousquet in the spring where only 25 fish were captured. Fish were kept in aerated lake water until dissection (up to 1 hour of transport) and only live and actively swimming fish were used for analysis. Efforts were made to sample a size range similar to the final weights of fish in the laboratory growth trials, namely 1.5 to 50 g wet weight. Fish were killed by a blow to the head, weighed (± 0.1 g) and standard length determined (± 1 mm). Dorsal white muscle, liver and pyloric caeca were dissected and flash frozen in liquid nitrogen. Visceral lipids were separated from intestinal tissue and stomach contents were removed and stored at -20 °C along with the carcass. Upon return to the INRS-ETE laboratory in Québec City, muscle, liver, and pyloric caeca were stored at -80 °C, whereas the carcasses, stomach contents and visceral lipids were stored at -20 °C.

Metal analyses

Tissue metal concentrations were determined in the liver, pyloric caeca and stomach contents. Samples were lyophilized and dry weights determined (± 0.01 mg). Representative sub-samples of stomach contents were taken when samples were too large. Not all pyloric caeca

were analysed since many were too small to be divided and still provide adequate samples for enzyme analyses, which were prioritized in this study; sample sizes for pyloric caeca were thus quite variable (Table 1). Metals were digested in batches of 20 using trace-metal grade HNO₃ in Teflon[®] vials with an 1100 W microwave oven for periods of 30, 20, 15 and 10 seconds, with cooling periods between each heating. Digestion standards (TORT-2, NRC Canada) and digestion blanks were included in each batch of 20 samples. No solid residues remained after digestion and digested samples were diluted 9:1 with Milli-Q[®] grade water and stored at 4 °C in polypropylene vials.

Metal concentrations were analysed using Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) and analysis blanks and standards were included for every 12 samples. Analytical standards were within 10% of nominal values in all cases and recovery of TORT-2 digestion standards was also within 10% for all pyloric caeca samples. Recovery of TORT-2 standards for livers and stomach contents was somewhat lower (75-99%) and therefore appropriate correction factors were applied.

Biometric calculations and enzyme analyses

The CF was calculated using a scaling coefficient to take into account the non-isometric growth of yellow perch. The scaling coefficient was calculated as the slope of the relationship between log₁₀(Standard Length) and log₁₀(wet weight) in pooled samples, in this case 3.058. The CF of individual fish was then calculated as (wet weight / length^{3.058})*100. The VLI was calculated as (wet visceral lipid weight / wet weight)*100, giving the percentage of body weight that visceral lipids represent. Since the wet weights of pyloric caeca increased non-linearly with fish weight, an allometric correction was used to standardize the pyloric caeca weights. This was the same method as used in the laboratory study [9]. The pyloric caeca weights were corrected to

a standard fish weight of 13.1g with an allometric exponent of 0.865 using the following equation:

$$((\text{fish weight} / 13.1)^{0.865}) \times \text{cæcum weight}$$

Each fish was also aged by examination of opercular bones, which were examined twice and where discrepancies existed, examined a third time. As a confirmation, 100 fish (10 per lake for each season) were re-examined by a third party (Emmanuelle Cecchi, Ph.D.) using the same procedure. There was a 91% concordance between the two series and never a difference of more than 1 year between the measures.

Enzyme activities measured in white muscle were pyruvate kinase (PK; EC#: 2.7.1.40), lactate dehydrogenase (LDH; EC#: 1.1.1.27), citrate synthase (CS; EC#: 2.3.3.1), cytochrome c oxidase (CCO; EC#: 1.9.3.1) and nucleoside diphosphate kinase (NDPK; EC#: 2.7.4.6). Enzyme activities measured in the pyloric cæca were CS, CCO, NDPK and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH; EC#: 1.1.1.49). The same homogenization and analytical methods were used in this study as for the laboratory analyses [9]. Two metrics were used to examine enzyme activities. Specific activity presents activity per unit weight (IU / g) where IU are International Unit, defined as the transformation of one micromole of substrate per minute. The second metric was protein corrected activity (IU / mg protein). The activity is corrected for the protein concentration in the homogenate and therefore reflects changes in the activity of the enzymes compared to the total protein pool, indicating targeted up- or down-regulation of that enzyme.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the JMP 5.1 (SAS Institute) software package. All data were tested for normality and, where non-normal, \log_{10} transformed. Multiple ANOVAs with Tukey's HSD multiple comparison tests were used to compare among means. Pearson's

correlations were used to examine relationships between CF, the VLI and corrected caeca wet weight, using transformed data. Forward stepwise multiple regressions (using transformed data) were used to identify which enzymes were the best correlates (minimum $p \leq 0.05$ for inclusion in the model) for the individual biometric parameters (CF, caeca weight and VLI). Using the enzymes identified by the stepwise process, a standard least squares model was generated for each biometric parameter. Indicators of metal contamination (metal concentrations in tissues and diet) were not incorporated into the models because direct causal links between metal concentrations and altered enzyme activities were uncertain at best. The effects of contamination were therefore examined by segregating the dataset. Reference lake perch were analysed independently from perch originating from contaminated lakes. By comparing the models generated from these two datasets, we inferred the effects of living in a contaminated environment.

Results

Tissue metal concentrations

Metal concentrations (Cd, Cu and Ni) for liver, pyloric caeca and diet are presented in Table 1. Liver Cd concentrations in spring declined along the gradient $DU > OS > BO > DA \sim OP$. The summer gradient was $DU > OS > BO > DA > OP$. Seasonal differences in hepatic Cd were only identified in perch from lakes DA and OS, where spring concentrations were higher. The hepatic Cu gradient in the spring was $OS > DU > BO \sim DA > OP$. The summer gradient was $OS > DU > BO \sim DA \sim OP$. Except for perch from Lake Osisko, Cu concentrations were higher in perch sampled during August. Liver Ni concentrations were similar among perch, except for August perch from Lake Dufault which had significantly higher liver Ni concentrations than perch from reference lakes. Hepatic Ni concentrations were higher in August than in June, except in perch from Lake Dasserat where there were no seasonal differences.

Concentrations of Cd in the pyloric caeca were significantly higher in perch from Lake Dufault compared to all other lakes. Pyloric caeca Cd was higher in perch from Lake Bousquet vs. Lake Osisko in the spring, but not in summer. Summer pyloric caeca Cd levels were higher than spring values in perch from lakes Dasserat, Opasatica and Dufault. There were no consistent trends for pyloric caeca Cu concentrations along the contamination gradient. Concentrations of Cu in pyloric caeca were higher in August (vs. June) in lakes Opasatica, Bousquet and Dufault. There were also no consistent trends along the gradient for Ni concentration in the pyloric caeca. However, there was a significant seasonal effect with pyloric caeca Ni concentration being higher in the summer for all lakes except Lake Osisko.

Concentrations of dietary Cd were highest in perch from Lake Dufault while those from lakes Osisko and Bousquet were higher than in fish from reference lakes in June and August, respectively. Dietary Cu concentrations were highest in perch from Lake Osisko, followed by

perch from Lake Dufault. The dietary Cu concentrations in perch from lakes Bousquet, Dasserat & Opasatica were significantly lower than in fish from contaminated lakes, except Dasserat perch in June, whose dietary Cu concentrations were not significantly different from perch from Lake Dufault. Nickel concentrations in the stomach contents were highest in perch from Lake Osisko; there were no significant differences among the other lakes.

Biometrics

Differences in fish CF along the contamination gradient are shown in Figure 1. In June the highest CF was observed in perch from Lake Dasserat while the lowest CF was for Lake Opasatica perch. With the exception of Lake Opasatica, perch CF decreased with increasing contamination. In August, perch from both reference lakes had a significantly higher CF than perch from the three contaminated lakes, which were not significantly different from each other. There were no consistent seasonal trends for fish CF, with three populations exhibiting higher CF in the spring (Dasserat, Bousquet, and Dufault), Lake Opasatica perch having higher CF during the summer and no differences for perch from Lake Osisko.

Values for corrected pyloric cæca weight are shown in Figure 2. There were no significant differences among lakes for the corrected pyloric cæca weight in the spring. During the summer however, pyloric cæca from Lake Dasserat perch were heavier than in perch from Lake Opasatica and Dufault. Pyloric cæca from perch in Lake Bousquet were also heavier than in Lake Dufault perch. There were significant seasonal differences in pyloric cæca weight, with values from June being 48% to 55% higher than their counterparts in August.

In both seasons the lowest VLI values were observed in Lake Opasatica fish (Figure 3) and elevated VLI was frequently observed in perch captured in contaminated lakes. No consistent trends could be discerned along the contamination gradient or between the seasons.

The bivariate relationships between the three biometric parameters were also examined. In the spring, there were significant positive relationships between the VLI and CF ($r=0.532$; $p<0.0001$), pyloric caeca weight and CF ($r=0.170$; $p=0.0427$) and pyloric caeca weight and the VLI ($r=0.209$; $p=0.0119$). During summer however, some relationships were reversed with negative correlations being observed between CF and pyloric caeca weight ($r=-0.198$; $p=0.0082$) as well as between CF and the VLI ($r=-0.172$; $p=0.0359$).

Enzymatic correlates of biometric parameters in reference lakes

When examining the enzymes that correlated with the measured biometrics, the first step was to examine perch collected in reference lakes (lakes Dasserat and Opatatica). This was done to compare field results with previous laboratory trials [9] as well as to serve as a reference point to determine if metal contamination affected the relationships.

The enzymatic correlates of CF, pyloric caeca weight and the VLI for each season are presented in Table 2. When modeling enzyme correlates of CF combining both seasons, strong relationships were found for both specific ($r^2=0.702$; $p<0.0001$) and protein corrected ($r^2=0.610$; $p<0.0001$) enzymes. Examining both models, positive relationships were found between fish CF and anabolic enzymes (muscle NDPK, and caeca G6PDH and NDPK) as well as with muscle protein concentration; however, protein concentrations in pyloric caeca were negatively correlated with CF. There were also many negative relationships with aerobic indicators in both muscle and caeca, though protein corrected pyloric caeca CCO increased with fish CF. Examining only perch sampled in spring, CF correlated negatively with pyloric caeca CS and positively with caeca CCO. Protein corrected pyloric caeca NDPK was also positively correlated with fish CF in spring. Regression coefficients for multiple regressions with fish CF were high for both specific ($r^2=0.743$; $p<0.0001$) and protein corrected ($r^2=0.754$; $p<0.0001$) enzymes in June. In August, relationships with fish CF were much weaker for both specific ($r^2=0.338$; $p<0.0001$) and protein

corrected ($r^2=0.187$; $p=0.0042$) enzymes and in both cases only muscle NDPK was positively related with CF.

When examining correlates of pyloric caeca weight for both seasons, positive relationships were found for specific and protein corrected pyloric caeca NDPK as well as for pyloric caeca protein concentrations. Both relationships were highly significant ($p<0.0001$), with regression coefficients of 0.576 and 0.532 for specific and protein corrected enzymes. When examining relationships for fish caught in June, relationships were much weaker. Only muscle CCO displayed relationships with pyloric caeca weight and for both specific ($r^2=0.161$; $p=0.0085$) and protein corrected ($r^2=0.167$; $p=0.0072$) activities, the relationships were negative. For fish captured in August, no significant relationships were found between enzymes and pyloric caeca weight.

Significant relationships between enzymes and the VLI across both seasons were found for both specific ($r^2=0.399$; $p<0.0001$) and protein corrected activities ($r^2=0.261$; $p<0.0001$). Specific muscle LDH and NDPK as well as muscle protein concentrations were positively correlated with the VLI, whereas pyloric caeca protein concentrations were negatively correlated. When protein corrected activities were examined, positive relationships were found for both pyloric caeca NDPK and muscle LDH. For fish sampled in June, there was a significant negative relationship for pyloric caeca protein concentrations ($r^2=0.285$; $p=0.0003$) and a positive relationship for protein corrected caeca NDPK ($r^2=0.216$; $p=0.0019$). In August, a significant positive relationship was observed for specific muscle NDPK ($r^2=0.244$; $p=0.0009$), whereas for protein corrected activities a significant relationship was observed ($r^2=0.284$; $p=0.0015$) that involved a negative correlation with muscle CS and a positive correlation with muscle LDH.

Enzymatic correlates of biometric parameters in perch from contaminated lakes

The relationships between enzyme activities and the CF of perch from contaminated lakes were weak or non-significant (Table 3). When the seasons were combined, the specific and protein corrected activities of pyloric cæca NDPK as well as the protein corrected activity of pyloric cæca CS were positively correlated with perch CF. The models using specific and protein corrected activities explained, respectively, 14.5% and 14.1% of the variability in perch CF. When the seasons were examined individually, no significant relationships were identified.

Models relating enzyme activities with corrected pyloric cæca weight of perch from contaminated lakes (Table 3) were more in line with what was observed in reference lakes. When both seasons were examined together, models using specific and protein corrected activities respectively explained 65.6% and 56.9% of the variability. The model with specific enzyme activities included positive relationships with muscle CS as well as pyloric cæca CCO and NDPK. A negative relationship was also identified with protein concentrations in the pyloric cæca. The protein corrected model only included the positive relationships with muscle CS and pyloric cæca NDPK. When the seasons were examined individually, weak relationships were identified with muscle protein concentrations in June and with specific pyloric cæca NDPK or protein corrected muscle PK in August. Only a small portion of the variability in pyloric cæca mass was explained (6.4% - 7.3%) in August and no significant relationships were identified with protein corrected activities in June.

When enzymatic correlates of the VLI were examined with both seasons combined, no significant relationships were identified. In June, muscle CS was related to the VLI with specific and protein corrected activities explaining, respectively, 7.9% and 6.2% of the variability. In August, muscle LDH was correlated with the VLI with the specific and protein corrected activities respectively explaining 15% and 12.7% of the variability.

Discussion

Throughout this discussion we will be referring to a previous laboratory experiment where the growth rates of perch were manipulated and where enzymes were examined to determine their relationships with the same biometric variables as in this study [9]. However, before the various biometrics and their enzyme correlates are discussed, we should mention an important difference between the laboratory and field trials. When capturing wild perch for this study, efforts were made to capture a size range similar to that of the laboratory trials, namely 1.5 to 35 grams (wild fish up to 50 g were kept to meet requirements for sample size). In wild fish, this required the capture of fish that were as much as eight years old, a stark contrast to the approximately 1 year of age for the fish in the laboratory experiment. While this large age difference, especially in larger perch, makes a direct comparison of the laboratory and field studies imprudent, much useful information could still be gleaned by using the laboratory trials as a frame of reference for field fish.

Biometrics in field sampled perch and comparison to laboratory trials

The CF of June sampled perch from Lake Opasatica, one of the two clean lakes in this study, was lower than in fish from contaminated lakes in most cases. Low fish CF in Lake Opasatica was also observed in previous years [25] and low CF in reference lakes is also a common occurrence in some lakes from the Sudbury area, another metal contaminated region [6]. The most likely explanation for the low perch CF in Lake Opasatica is the increased competition they face compared to perch from other lakes. The fish community in Lake Opasatica is quite diverse and includes brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*), pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*), rock bass (*Ambloplites rupestris*) and several different species of cyprinids. All of these fish will compete with the various life stages of yellow perch and will not only limit food resources, but also increase foraging costs. Some of these species are not present in the other

reference site, Lake Dasserat, notably the brown bullhead, and populations of centrarchids are not as dense (Charles Gauthier, INRS-ETE, personal observation).

It was also quite apparent that wild perch were under important energy restrictions compared to their laboratory counterparts. Perch CF was converted to Fulton's Condition Factor (FCF) and compared to FCFs from laboratory reared perch [9]. The mean FCFs for wild perch ranged from 0.84 to 1.16 whereas in the laboratory trials, fish on a maintenance diet had a mean FCF of 1.3 and fish fed almost to satiation had a mean FCF of 1.6. Laboratory reared perch fed almost to satiation had a much higher VLI, averaging 5.6%, compared with wild perch which had VLIs ranging from 0.5% to 1.2%, in the same range as laboratory perch on a maintenance diet (mean of 0.8%). The low perch CF and low VLIs are a clear indication that wild perch were much more stretched for resources, or faced higher energy expenditures, than their laboratory counterparts.

Interestingly, during the nine and a half weeks between the two field samplings, corrected pyloric cæca weights dropped by approximately 50% in each lake. While this large weight loss agreed with some studies on starved fish [26,27], laboratory perch kept on a maintenance ration were able to maintain heavier pyloric cæca for six weeks without significant weight loss. The reduced pyloric cæca weight at the end of summer, in combination with low CF of field sampled perch (again, compared to laboratory perch on maintenance rations) and low VLI (equivalent to laboratory perch on maintenance ration for 12 weeks, i.e. around 0.8%) was a strong indication that in 2006, all perch in the Rouyn-Noranda region were under significant energy restrictions. Other potential indicators of energy restriction in wild fish were the negative relationships between CF and cæca weight or the VLI in the summer. Laboratory trials indicated quite clearly that in growing perch these parameters are closely and positively correlated. The negative relationships found in the wild could be an indication that even perch with relatively high CF had

insufficient resources to maintain larger pyloric cæca or set aside large energy reserves. It should be noted that 2006 seemed to be a particularly bad year for yellow perch, at least from an energy standpoint. The CF of perch from 2006 was quite low compared to values from previous years. Results from mid-summer samplings in 2005 and particularly in 2004 show that CFs in lakes from the region were generally higher than those from the August 2006 samples [25].

Enzymatic correlates of biometrics in perch from reference lakes and comparison to laboratory trials

In wild perch, positive relationships between CF and NDPK in both muscle and pyloric cæca were consistently observed. These positive relationships, as well as the increased muscle protein concentrations in fish exhibiting higher CF suggests that despite potential dietary restrictions, perch were still able to put on mass and fuel protein anabolism in the muscle. Another frequent observation in our study was the negative relationship between CF and CS in the pyloric cæca. It is quite unlikely that growing perch in good CF would have reduced their aerobic capacity, particularly in the pyloric cæca, which is one of the most aerobically demanding of tissues. Similar observations in the laboratory trials pointed to growth dilution as an alternative explanation. Fish with high CF had heavier pyloric cæca, but did not increase aerobic capacity, effectively diluting the activity without specifically down-regulating that pathway, a phenomenon that likely also occurred in the field.

When we compared the enzymes that correlated with biometric variables in wild perch to those from the laboratory trials, there was very little concordance. Muscle LDH did not appear among the correlates, and there was only a weak relationship with pyloric cæca G6PDH. Whereas muscle CS did correlate with CF, it did so negatively in wild fish rather than positively as observed in the laboratory. The weak or non-existent relationships between CF and muscle LDH or pyloric cæca G6PDH were potential indicators of energy restriction in wild perch. This

hypothesis is supported by previous research that showed that elevated muscle LDH was an indicator of good energy status in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [28]. The weak relationships between CF and caeca G6PDH would indicate that there was little lipid anabolism occurring in the pyloric caeca of perch, which was clearly not the case in the laboratory perch fed a high ration. The negative relationships between fish CF and muscle CS and CCO could be the result of growth dilution. A similar observation was made in the caeca of laboratory perch; the total aerobic capacity remained stable while the tissue gained weight, leading to an apparent reduction in activity. Given the much lower growth rates observed in wild perch (vs. laboratory perch), the existing aerobic capacity could have been able to meet the demands of anabolic pathways and, as the muscle gained weight, no increase in aerobic capacity was required.

In all studies to date, pyloric caeca responded to increased ration by increasing in size [9,26,27,29]. It stands to reason that in order to increase in weight, increased anabolic activity was required; hence the positive relationship between pyloric caeca weight and NDPK activity that was observed in perch from reference lakes. Interestingly, this was opposite to the trend observed in laboratory perch where lower NDPK activity was observed in larger pyloric caeca. The different directions for these relationships between pyloric caeca weight and NDPK activity could be the result of different growth trajectories between laboratory perch (growing pyloric caeca) and wild perch (pyloric caeca losing weight).

Similarly to what was observed in laboratory perch, heavier caeca had lower protein concentrations. This could be an indication that protein synthesis in the pyloric caeca was directed towards the production of digestive enzymes destined for export. This however does not explain the increased weight of the pyloric caeca. It could be that the growing caeca are taking on water in much the same way as growing muscles do [30], which would later be replaced with proteins. Finally, within each season, there was little variation in mean caeca weights of perch

among reference lakes. This lack of variation within each season made the identification of correlates quite difficult. Only a weak negative relationship with muscle CCO was identified in June sampled fish, indicating that aerobic demand was dropping faster than pyloric caeca weight, in response to lowered food intake and diminished anabolic requirements.

Visceral lipids are an indicator of accumulated energy reserves, fat deposits that serve as energy stores to fuel growth and reproduction. In wild fish the best correlates of the VLI were indicators of protein production and accumulation. Positive relationships between muscle LDH, protein concentration and NDPK with the VLI could be an indication that while lipid stores were being accumulated, there was a parallel accumulation of proteins in the muscle of perch. The relationships with pyloric caeca NDPK and protein concentrations (positive and negative, respectively) were similar to those associated with increased pyloric caeca weight and support the idea that the increased VLI is associated with increased food intake in wild yellow perch.

The presence of a positive relationship between the VLI and muscle LDH followed the same pattern as in the laboratory-reared perch, indicating that muscle protein and visceral lipids accumulate concurrently in growing fish. However, pyloric caeca G6PDH is conspicuous by its lack of correlation with the VLI in wild fish, while in the laboratory it was shown to be a very good indicator. The absence of this relationship in wild fish could be an indication that the lipids were being produced elsewhere, notably in the liver [31]. It should be noted that the VLI in wild perch was very low, ranging from 0.5% to 1.3%, equivalent to the laboratory perch on a maintenance ration (0.8%) and much lower than in perch fed the highest rations (4.2% to 5.6%). This is further support for the hypothesis of energy restriction in the sampled perch and probably reflects that there was no need to increase the baseline G6PDH activity in the caeca to process the assimilated fats.

Enzyme correlates of biometrics in perch from contaminated lakes

In the contaminated lakes, the models examining the relationships between enzyme activities and perch CF were not significant when seasons were examined individually. This is in stark contrast to the models generated with perch from reference lakes, particularly for perch caught in June. When both seasons were examined together, the models explained a much lower proportion of the variability than models with reference lake perch and only pyloric cæca NDPK and CS were correlated, both positively, with CF. These relationships suggest that the metabolic capacities of the digestive system were related to CF, but given the weakness of the relationships, the importance of these relationships was likely small.

Similarities between perch from reference and contaminated lakes were much more apparent in the models examining correlates of corrected pyloric cæca weight than for models of CF. As with perch from reference lakes, models were quite good when seasons were combined, but broke down when seasons were examined individually. The positive relationship between pyloric cæca NDPK and cæca weight in the models is similar to what was observed in perch from reference lakes, as is the negative relationship with protein concentrations in the pyloric cæca. The inclusion of positive relationships of corrected pyloric cæca weight with muscle CS and pyloric cæca CCO suggests that, unlike in fish from reference lakes, an enhancement of aerobic capacities was required to meet the energetic requirements of growth in these metal-contaminated fish. Though laboratory trials indicated that aerobic capacity in the cæca was sufficient to accommodate growth under clean conditions, metal toxicity could be increasing the demand on aerobic pathways (cellular repair, production of metallothioneins etc...) or could directly affect mitochondrial metabolism [21].

No significant relationships were identified in models examining the relationships between enzyme activities and the VLI when both seasons were combined. When seasons were examined individually, only weak positive relationships were identified with muscle CS (June)

and LDH (August). Both these enzymes, but particularly muscle LDH, could be indicators of increased foraging activity, but the weakness of the relationships indicated that factors other than muscle metabolic capacities had a dominant influence on the accumulation of lipid reserves in perch from contaminated lakes.

In conclusion, our comparison of wild perch living in reference and contaminated lakes has led to a better understanding of the relationships between metabolism and physiology. Examination of the various biometrics has shown that perch were under energy limitations, even in reference lakes, and that these energy limitations had an important effect on their metabolism. Wild perch also preferentially invested in growth (vs. accumulation of energy stores) since wild fish of the same weight as in the laboratory studies were longer and hence had lower CFs. Our results also indicate that when under dietary limitations, fish preferentially accumulate protein reserves instead of lipids. In addition to the energy limitations, contaminant stress further alters the metabolism of perch living in contaminated systems and may cause important changes in aerobic energy pathways.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Natural Science and Engineering Research Council of Canada for funding this study as well as the technical staff at INRS-ETE for their expertise during the analysis of the samples PGCC holds a Canada Research Chair in Metal Ecotoxicology.

References

- [1] Hare, L, Tessier, A. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* 380:430-432
- [2] Couillard, Y, Campbell, PGC, Tessier, A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.* 38:299-313
- [3] Levesque, HM, Dorval, J, Hontela, A, Van Der Kraak, G, Campbell, PGC. 2003. Hormonal, morphological, and physiological responses of yellow perch (*Perca flavescens*) to chronic environmental metal exposures. *J. Toxicol. Environ. Health* 66A:657-676
- [4] Sherwood, GD, Kovacs, J, Hontela, A, Rasmussen, JB. 2002. Simplified food webs lead to energetic bottlenecks in polluted lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59:1-5
- [5] Campbell, PGC, Kraemer, LD, Giguere, A, Hare, L, Hontela, A. 2008. Subcellular distribution of cadmium and nickel in chronically exposed wild fish: Inferences regarding metal detoxification strategies and implications for setting water quality guidelines for dissolved metals. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 14:290-316
- [6] Couture, P, Busby, P, Gauthier, C, Rajotte, JW, Pyle, G. 2008. Seasonal and regional variations of metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. I. Factors influencing tissue metal concentrations. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 14:97-125
- [7] Pyle, GG, Busby, P, Gauthier, C, Rajotte, JW, Couture, P. 2008. Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca*

- flavescens*) along two polymetallic gradients. II. Growth patterns, longevity, and condition. Hum. Ecol. Risk Assess. 14:126-145
- [8] Couture, P, Rajotte, JW, Pyle, G. 2008. Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. Iii. Energetic and physiological indicators. Hum. Ecol. Risk Assess. 14:146-165
- [9] Gauthier, C, Campbell, PGC, Couture, P. 2008. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*). Comp. Biochem. Physiol. 151A:526-532
- [10] Pangle, KL, Sutton, TM, Kinnunen, RE, Hoff, MH. 2004. Overwinter survival of juvenile lake herring in relation to body size, physiological condition, energy stores and food ration. Trans. Am. Fish. Soc. 133:1235-1246
- [11] Kamunde, CN, Grosell, M, Lott, JNA, Wood, CM. 2001. Copper metabolism and gut morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic sublethal copper exposure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58:293-305
- [12] Handy, RD, Sims, DW, Giles, A, Campbell, HA, Musonda, MM. 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. Aquat. Toxicol. 47:23-41
- [13] Ptashynski, MD, Pedlar, RM, Evans, RE, Baron, CL, Klaverkamp, JF. 2002. Toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). Aquat. Toxicol. 58:229-247

- [14] Scudder, BC, Carter, JL, LeLand, HV. 1988. Effects of copper on development of the fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Aquat. Toxicol.* 12:107-124
- [15] Couture, P, Rajotte, JW. 2003. Morphometric and metabolic indicators of metal stress in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from Sudbury, Ontario: A review. *J. Environ. Monit.* 5:216-221
- [16] Miller, PA, Munkittrick, KR, Dixon, DG. 1992. Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissues of white sucker (*Catostomus commersoni*) at metal-contaminated sites. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49:978-984
- [17] Farag, AM, Stansbury, MA, Hogstrand, C, MacConnell, E, Bergman, HL. 1995. The physiological impairment of free-ranging brown trout exposed to metals in the Clark Fork River, Montana. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52:2038-2050
- [18] Munkittrick, KR, Dixon, DG. 1988. Growth, fecundity, and energy stores of white sucker (*Catostomus commersoni*) from lakes containing elevated levels of copper and zinc. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45:1355-1365
- [19] Pyle, GG, Rajotte, JW, Couture, P. 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotox. Environ. Saf.* 61:287-312
- [20] Audet, D, Couture, P. 2003. Seasonal variation in tissue metabolic capacities of yellow perch (*Perca flavescens*) from clean and metal-contaminated environments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60:269-278

- [21] Couture, P, Pyle, G. 2008. Live fast and die young: Metal effects on condition and physiology of wild yellow perch from along two polymetallic contamination gradients. Hum. Ecol. Risk Assess. 14:73-96
- [22] Giguere, A, Couillard, Y, Campbell, PGC, Perceval, O, Hare, L, Pinel-Alloul Bernadette, Pellerin, J. 2003. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. Aquat. Toxicol. 64:185-200
- [23] Giguere, A, Campbell, PGC, Hare, L, Couture, P. 2006. Sub-cellular partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in indigenous yellow perch (*Perca flavescens*) sampled along a polymetallic gradient. Aquat. Toxicol. 77:178-189
- [24] Borgmann, U, Norwierski, M, Grapentine, LC, Dixon, DG. 2004. Assessing the causes of impacts on benthic organisms near Rouyn-Noranda, Quebec. Environ. Pollut. 129:39-48
- [25] Gauthier, C, Campbell, PGC, Couture, P. Submitted. Condition and pyloric caeca as indicators of food web effects in fish living in metal-contaminated lakes. Ecotox. Environ. Saf.
- [26] Bélanger, F, Blier, PU, Dutil, J-D. 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Fish. Physiol. Biochem. 26:121-128
- [27] Kroghdahl, A, Bakke-McKellep, AM. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comp. Biochem. Physiol. 141A:450-460

- [28] Couture, P, Dutil, J-D, Guderley, H. 1998. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55:1591-1598
- [29] Bergot, P, Blanc, JM, Escaffre, AM. 1981. Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 22:81-96
- [30] Guderley, H, Dutil, J-D, Pelletier, D. 1996. The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: Estimates of growth rates under field conditions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:550-557
- [31] Sheridan, MA. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 107B:495-508

Table Captions.

Table 1: Metal concentrations ($\mu\text{g/g}$ dry wt) in liver, pyloric caeca and stomach contents for each lake and season. Different letters in the same column for each tissue indicates a significant difference (sample size in column "n"). An asterisk denotes a significantly higher seasonal value for that tissue and metal.

Table 2: Results of stepwise modeling examining relationships between specific and protein corrected enzyme activities and measured biometrics for perch from reference lakes. Overall r^2 and p are given as well as the equation estimates, partial determination coefficients and p values for each individual term. N = 60 per season.

Table 3: Results of stepwise modeling examining relationships between specific and protein corrected enzyme activities and measured biometrics for perch from contaminated lakes. Overall r^2 and p are given as well as the equation estimates, partial determination coefficients and p values for each individual term. N = 145 in June, 150 in August.

Table 1

Lake	Tissue	Metal	Spring			Summer		
			Mean	Std. Dev	n	Mean	St. Dev	n
Dasserat	Liver	Cd	3.243D*	1.284	30	2.204E	0.575	29
Opasatica	Liver	Cd	3.037D	1.078	30	3.665D	1.326	30
Bousquet	Liver	Cd	8.536C	2.943	25	8.334C	2.917	30
Osisko	Liver	Cd	16.835B*	5.924	28	12.724B	6.831	30
Dufault	Liver	Cd	33.497A	10.192	30	34.134A	10.417	30
Dasserat	Pyloric caeca	Cd	0.596C	0.205	28	1.081D*	0.309	18
Opasatica	Pyloric caeca	Cd	0.660C	0.34	9	3.171B*	1.71	15
Bousquet	Pyloric caeca	Cd	2.464A	1.525	23	1.973BC	0.978	22
Osisko	Pyloric caeca	Cd	1.702B	1.131	26	1.835CD	1.944	30
Dufault	Pyloric caeca	Cd	3.829A	0.672	12	15.928A*	10.839	29
Dasserat	Stom. Cont.	Cd	0.358BC	0.19	27	0.264C	0.171	21
Opasatica	Stom. Cont.	Cd	0.314C	0.201	19	0.363C	0.414	29
Bousquet	Stom. Cont.	Cd	1.191A*	0.664	25	0.492BC	0.405	25
Osisko	Stom. Cont.	Cd	0.629B	0.407	26	0.652B	0.378	28
Dufault	Stom. Cont.	Cd	1.407A	0.969	23	2.878A	2.817	26
Dasserat	Liver	Cu	14.306C	2.552	30	22.311B*	8.232	29
Opasatica	Liver	Cu	8.285D	2.876	30	26.779B*	15.472	30
Bousquet	Liver	Cu	11.714C	2.658	25	20.169B*	12.68	30
Osisko	Liver	Cu	80.600A	66.438	28	102.303A	70.603	30
Dufault	Liver	Cu	26.234B	13.807	29	76.337A*	39.793	30
Dasserat	Pyloric caeca	Cu	5.257A	1.94	28	4.725BC	0.467	18
Opasatica	Pyloric caeca	Cu	3.686C	3.617	9	6.447A*	1.476	15
Bousquet	Pyloric caeca	Cu	3.723BC	2.245	23	4.545C*	1.128	22
Osisko	Pyloric caeca	Cu	5.762AB	3.349	26	6.248AB	2.604	30
Dufault	Pyloric caeca	Cu	4.830ABC	1.375	12	6.952A*	3.4519	28
Dasserat	Stom. Cont.	Cu	8.274B	4.266	26	7.167C	6.896	22
Opasatica	Stom. Cont.	Cu	5.619C	8.105	19	3.786C	3.2	29
Bousquet	Stom. Cont.	Cu	4.655C	2.526	25	4.410C	2.906	25
Osisko	Stom. Cont.	Cu	59.608A	49.287	25	133.162A*	103.76	28
Dufault	Stom. Cont.	Cu	11.872B	9.165	23	48.665B*	37.761	26
Dasserat	Liver	Ni	0.247A	0.144	30	0.199C	0.184	29
Opasatica	Liver	Ni	0.133B	0.071	30	0.234BC*	0.093	30
Bousquet	Liver	Ni	0.183AB	0.115	25	0.317AB*	0.245	30
Osisko	Liver	Ni	0.253A	0.129	28	0.299AB	0.154	30
Dufault	Liver	Ni	0.144B	0.108	30	0.376A*	0.14	30
Dasserat	Pyloric caeca	Ni	0.1647B	0.069	28	0.363B*	0.214	18
Opasatica	Pyloric caeca	Ni	0.138B	0.039	9	0.645A*	0.429	15
Bousquet	Pyloric caeca	Ni	0.284A	0.163	23	0.412AB*	0.208	22
Osisko	Pyloric caeca	Ni	0.400A	0.251	26	0.377AB	0.216	30
Dufault	Pyloric caeca	Ni	0.124B	0.049	11	0.393AB*	0.262	29
Dasserat	Stom. Cont.	Ni	0.401BC	0.203	27	0.381B*	0.288	22
Opasatica	Stom. Cont.	Ni	0.260BC	0.18	19	0.668B	0.502	29
Bousquet	Stom. Cont.	Ni	0.518AB	0.462	25	0.453B	0.451	25
Osisko	Stom. Cont.	Ni	1.169A	0.977	26	1.498A	0.871	28
Dufault	Stom. Cont.	Ni	0.228C	0.214	23	0.554B*	0.564	26

Table 2

Metric	Specific				Protein Corrected			
	Term	Estimate	r ²	p	Term	Estimate	r ²	p
Condition Factor								
Both seasons	Whole Model		0.702	<0.0001	Whole Model		0.610	<0.0001
	Intercept	-0.586		0.0049	Intercept	-0.355		<0.0001
	Mus. NDPK	0.215	0.157	<0.0001	Cca. CS	-0.346	0.125	<0.0001
	Mus. Prot.	0.326	0.031	<0.0001	Cca. NDPK	0.155	0.301	<0.0001
	Cca. CS	-0.14	0.433	<0.0001	Mus. CCO	-0.176	0.080	0.0003
	Cca. Prot.	-0.217	0.016	0.0014	Cca. CCO	0.273	0.072	0.0008
	Cca. G6PDH	0.078	0.036	0.006	Mus. NDPK	0.085	0.032	0.0146
	Mus. CS	-0.076	0.029	0.0087				
June	Whole Model		0.743	<0.0001	Whole Model		0.754	<0.0001
	Intercept	-0.076		0.4257	Intercept	-0.078		0.5312
	Cca. CS	-0.535	0.676	<0.0001	Cca. CS	-0.5	0.465	<0.0001
	Cca. CCO	0.372	0.067	0.0028	Cca. CCO	0.403	0.230	0.0007
				Cca. NDPK	0.296	0.060	0.0043	
August	Whole Model		0.338	<0.0001	Whole Model		0.187	0.0042
	Intercept	-0.532		<0.0001	Intercept	0.083		0.1059
	Mus. NDPK	0.295	0.338	<0.0001	Mus. NDPK	0.263	0.187	0.0042
Cæca Wt.								
Both Seasons	Whole Model		0.576	<0.0001	Whole Model		0.532	<0.0001
	Intercept	1.486		<0.0001	Intercept	2.509		<0.0001
	Cca. NDPK	0.97	0.547	<0.0001	Cca. NDPK	0.92	0.532	<0.0001
	Cca. Prot.	-0.444	0.030	0.02				
June	Whole Model		0.161	0.0085	Whole Model		0.167	0.0072
	Intercept	2.012		<0.0001	Intercept	1.075		<0.0001
	Mus. CCO	-0.464	0.161	0.0085	Mus. CCO	-0.416	0.167	0.0072
August	No relationships				No relationships			
VLI								
Both Seasons	Whole Model		0.399	<0.0001	Whole Model		0.261	<0.0001
	Intercept	-4.609		0.0032	Intercept	0.466		0.0597
	Mus. NDPK	0.886	0.239	0.0054	Cca. NDPK	0.643	0.157	0.0013
	Mus. Prot.	1.769	0.082	0.0055	Mus. LDH	0.593	0.105	0.017
	Cca. Prot.	-0.898	0.047	0.0308				
	Mus. LDH	0.435	0.031	0.0485				
June	Whole Model		0.285	0.0003	Whole Model		0.216	0.0019
	Intercept	3.377		0.0005	Intercept	1.663		0.0047
	Cca. Prot.	-1.726	0.285	0.0003	Cca. NDPK	2.014	0.216	0.0019
August	Whole Model		0.244	0.0009	Whole Model		0.284	0.0015
	Intercept	-5.479		0.0004	Intercept	-1.792		0.0679
	Mus. NDPK	3.212	0.244	0.0009	Mus. CS	-0.77	-0.770	0.0948
					Mus. LDH	1.085	1.855	0.0004

Table 3

Metric	Specific				Protein Corrected			
	Term	Estimate	r ²	p	Term	Estimate	r ²	p
Condition Factor	Whole Model		0.145	<0.0001	Whole Model		0.141	0.0002
Both seasons	Intercept	-0.191		<0.0001	Intercept	0.025		0.3433
	Cca. NDPK	0.1	0.145	<0.0001	Cca. NDPK	0.058	0.112	0.0176
					Cca. CS	0.045	0.029	0.0445
June	No relationships				No relationships			
August	No relationships				No relationships			
Cæca Wt.	Whole Model		0.656	<0.0001	Whole Model		0.569	<0.0001
Both Seasons	Intercept	1.282		<0.0001	Intercept	3.002		<0.0001
	Cca. NDPK	0.919	0.610	<0.0001	Cca. NDPK	0.863	0.538	<0.0001
	Mus. CS	0.209	0.015	0.0265	Mus. CS	0.258	0.031	0.0034
	Cca. Prot.	-0.462	0.017	0.002				
	Cca. CCO	0.224	0.014	0.0277				
June	Whole Model		0.064	0.0457	No relationships			
	Intercept	0.893		0.0331				
	Mus. Prot	0.387	0.064	0.0457				
August	Whole Model		0.071	0.0353	Whole Model		0.073	0.0323
	Intercept	0.516		0.1906	Intercept	1.286		<0.0001
	Cca. NDPK	0.407	0.071	0.0353	Mus. PK	-0.261	0.073	0.0323
VLI								
Both Seasons	No relationships				No relationships			
June	Whole Model		0.079	0.0258	Whole Model		0.062	0.049
	Intercept	-0.199		<0.0001	Intercept	0.656		0.1207
	Mus. CS	0.502	0.079	0.0258	Mus. CS	0.395	0.062	0.049
August	Whole Model		0.150	0.0017	Whole Model		0.127	0.0042
	Intercept	-1.681		0.0007	Intercept	-0.109		0.003
	Mus. LDH	0.741	0.150	0.0017	Mus. LDH	0.598	0.127	0.0042

Figure Captions

Figure 1: Condition factor of yellow perch for each lake and season. Values are means + standard deviations. Gray bars represent June samples, black bars August samples. Different letters of the same case indicate significant differences among lakes within a season. An asterisk (*) indicates significantly higher fish CF vs. the other season for that lake.

Figure 2: Corrected pyloric cæca weight of yellow perch from study lakes. Values are means + standard deviation. Identification of bars and statistical differences are the same as for Figure 1.

Figure 3: Visceral lipid index (VLI) of yellow perch from study lakes. Values are means + standard deviation. Identification of bars and statistical differences are the same as for Figure 1.

Figure 1

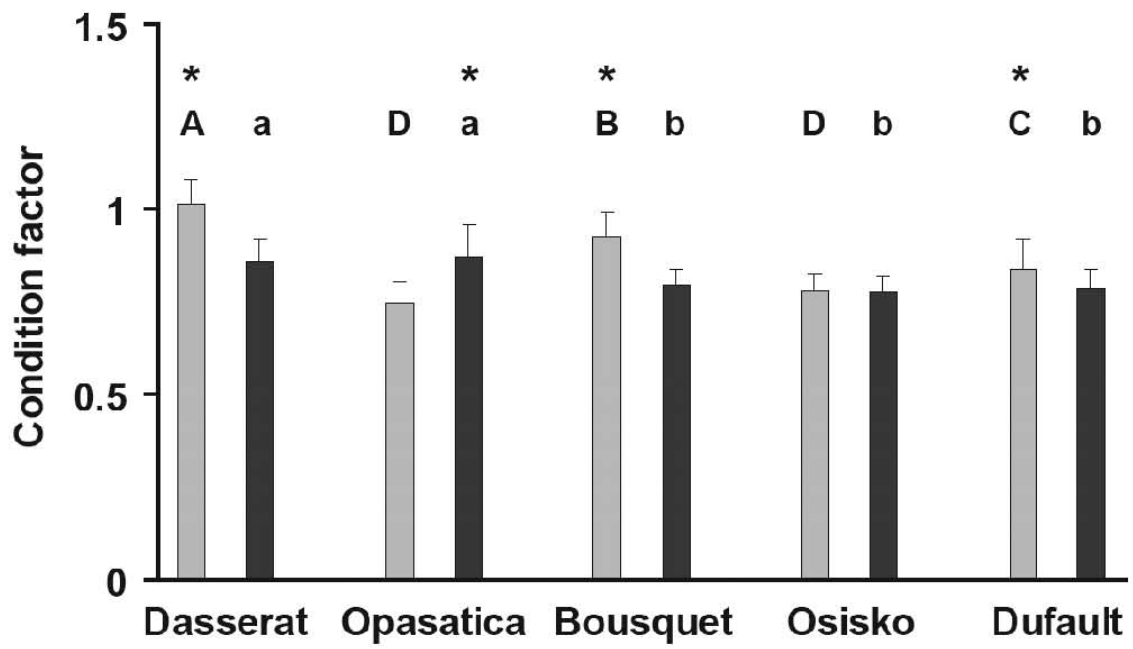


Figure 2

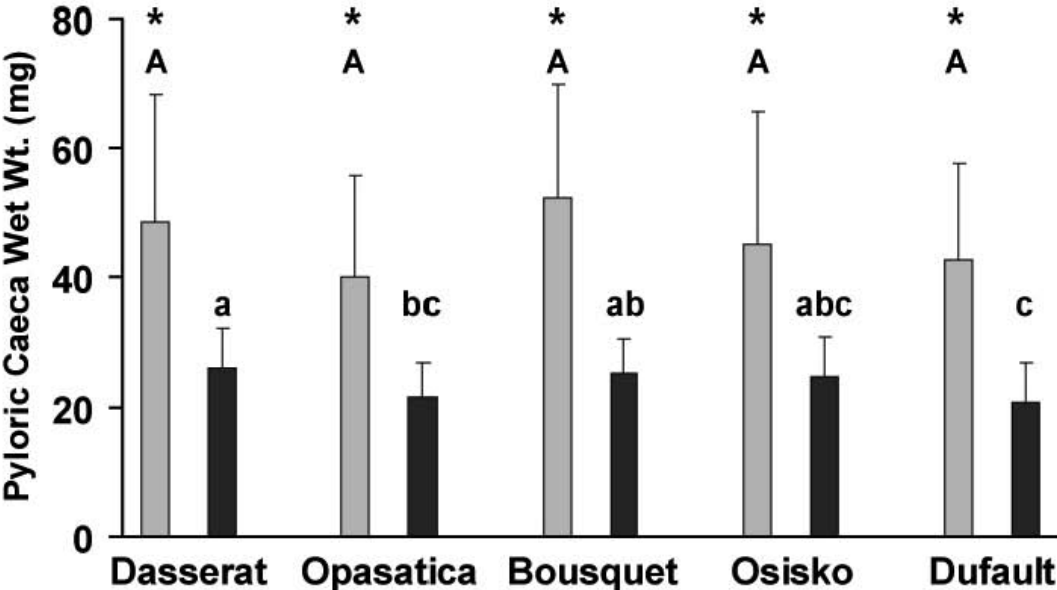
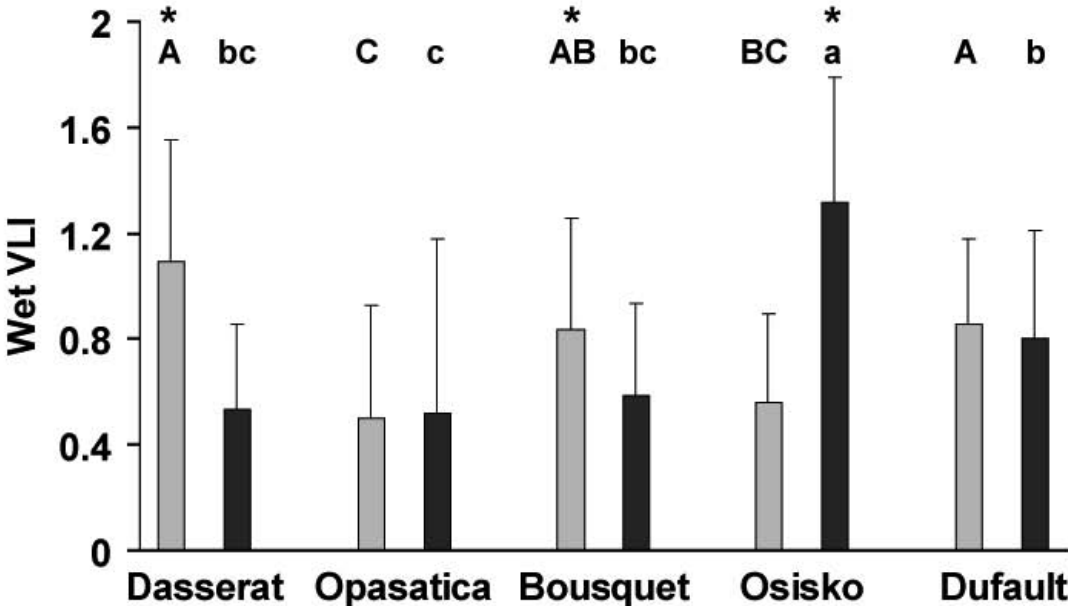


Figure 3



Partie III Annexes

1 Annexe A : Activités enzymatiques des perchaudes de laboratoire et récoltées sur le terrain.

Tableau 5 : Activités enzymatiques spécifiques (IU/g poids humide) et concentration de protéines (mg protéine/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques à la fin des 12 semaines expérimentales. Des lettres différentes (Sig) dans une même rangée indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes (Moy) avec des erreurs type de la moyenne (ET) (n=17-36).

Tissu	Enzyme	p	Acclim			S			MS			SM			M		
			Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig
Muscle	PK	<0,0001	91,79	9,86	C	141,06	5,36	B	146,24	15,28	B	190,29	5,15	A	141,57	10,78	B
	LDH	<0,0001	111,33	11,46	D	179,41	10,73	C	352,09	9,13	AB	324,99	15,09	B	382,97	11,06	A
	CS	<0,0001	1,45	0,04	BC	1,37	0,03	C	1,44	0,06	C	2,08	0,06	A	1,71	0,08	B
	CCO	0,0024	10,8	0,48	AB	11	0,36	A	9,37	0,44	C	10,76	0,43	AB	11,67	0,31	A
	NDPK	<0,0001	68,91	3,51	B	56,44	2,33	C	75,98	2,4	AB	76,62	1,62	AB	82,14	2,58	A
	Protéine	0,0004	119,83	6,39	B	137,6	6,54	AB	161,37	6,17	A	164,71	10,02	A	153,74	7,05	A
Cæca	CS	<0,0001	7,71	0,4	A	5,36	0,12	C	6,13	0,28	BC	7,13	0,27	AB	7,73	0,27	A
	CCO	<0,0001	8,94	0,86	C	12,05	0,28	B	12,06	0,85	B	13,21	0,29	AB	14,64	0,38	A
	NDPK	<0,0001	16,04	0,99	A	11,2	0,18	B	11,66	0,41	B	16,25	0,48	A	11,8	0,75	B
	G6PDH	<0,0001	1,37	0,26	BC	1,26	0,1	C	1,89	0,17	AB	2,49	0,17	A	2,29	0,2	A
	Protéine	<0,0001	360,91	11,23	A	236,32	8,54	B	154,69	4,51	D	189,61	9,57	C	178,37	5,9	CD

Tableau 6 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques à la fin des 12 semaines expérimentales. Des lettres différentes dans une même rangé (Sig) indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes (Moy) avec des écarts types (ET) (n=17-36).

Tissue	Enzyme	p	Acclim			S			MS			SM			M		
			Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig	Moy	ET	Sig
Muscle	PK	<0,0001	0,741	0,059	C	1,186	0,081	AB	0,882	0,068	BC	1,235	0,068	A	0,926	0,069	BC
	LDH	<0,0001	0,91	0,078	C	1,522	0,131	B	2,323	0,131	A	2,199	0,202	A	2,622	0,154	A
	CS	0,0003	0,013	0,001	AB	0,011	0,001	BC	0,009	0,001	C	0,014	0,001	A	0,012	0,001	ABC
	CCO	0,0013	0,094	0,006	A	0,094	0,007	A	0,063	0,005	BC	0,074	0,007	AB	0,08	0,005	AB
	NDPK	0,0008	0,579	0,019	A	0,447	0,024	B	0,48	0,014	AB	0,507	0,032	AB	0,556	0,029	A
Cæca	CS	<0,0001	0,021	0,001	B	0,024	0,001	B	0,04	0,002	A	0,039	0,002	A	0,044	0,002	A
	CCO	<0,0001	0,025	0,002	C	0,053	0,002	B	0,079	0,006	A	0,073	0,003	A	0,083	0,002	A
	NDPK	<0,0001	0,045	0,002	C	0,049	0,002	C	0,076	0,002	AB	0,09	0,005	AB	0,067	0,005	B
	G6PDH	<0,0001	0,004	0,001	B	0,005	0	B	0,012	0,001	A	0,014	0,001	A	0,013	0,001	A

Tableau 7 : Activités enzymatiques spécifiques (IU/g poids humide) et concentration de protéines (mg protéine/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées au printemps. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec des erreurs type de la moyenne (n=17-36).

Saison	Enzyme	p	Dasserat			Opasatica			Bousquet			Ossisko			Dufault		
			Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.
Muscle	CS	p<0,0001	1,25	0,23	B	1,65	0,7	A	1,19	0,18	BC	0,87	0,24	C	1,37	0,29	AB
	NDPK	p<0,0001	68,35	15,1	AB	52,83	11,33	B	58,3	9,61	B	56,61	4,99	B	70	9,05	A
	PK	p=0,0027	93,52	16,4	AB	85,5	23,99	B	81,57	16,2	B	86,69	20,53	B	108,81	27,24	A
	CCO	p<0,0001	3,91	0,59	B	5,22	1,18	A	4,1	0,55	B	4,28	0,62	B	5	0,51	A
	LDH	p<0,0001	133,15	41,39	A	99,51	35,58	B	96,44	37,47	B	123,47	46,19	AB	155,74	53,97	A
	Protéine	p=0,1373	153,04	28,75	A	151,37	18	A	147,08	23,67	A	148,95	17,68	A	137,64	20,49	A
Cæca	CS	p<0,0001	5,35	1,19	D	11,81	2,35	B	7,86	2,39	C	6,07	1,94	D	16,86	4,05	A
	NDPK	p=0,0061	13,45	1,94	B	14,71	1,31	AB	13,73	1,38	AB	13,55	2,15	B	15,13	1,93	A
	G6PDH	p=0,5793	1,83	0,54	A	2,08	0,78	A	1,88	0,74	A	1,77	0,55	A	1,76	0,87	A
	CCO	p<0,0001	17,65	3,81	B	27,21	4,84	A	20,39	5,49	B	17,51	5,66	B	28,08	4,96	A
	Protéine	p<0,0001	97,65B	18,03	B	136,53	19,62	A	104,56	18,5	B	97,48	15,65	B	140,67	20,72	A

Tableau 8 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées au printemps. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).

Saison	Enzyme	p	Dasserat			Opasatica			Bousquet			Ossisko			Dufault		
			Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.
Muscle	CS	p<0,0001	0,0085	0,0023	A	0,0110	0,0049	A	0,00826	0,0018	A	0,0059	0,0017	B	0,0101	0,0023	A
	NDPK	p=0,0009	0,4708	0,1455	AB	0,3587	0,0943	B	0,4109	0,1034	AB	0,3857	0,0561	B	0,5192	0,0989	A
	PK	p<0,0001	0,6325	0,1565	B	0,5677	0,1556	B	0,5605	0,1036	B	0,5851	0,1406	B	0,8001	0,2071	A
	CCO	p<0,0001	0,0263	0,0059	B	0,0349	0,0081	A	0,0283	0,0048	B	0,0289	0,0039	B	0,0368	0,0048	A
	LDH	p<0,0001	0,9083	0,3246	AB	0,6606	0,2332	B	0,6553	0,224	B	0,8269	0,2871	AB	1,1385	0,3768	A
Cæca	CS	p<0,0001	0,0560	0,013	D	0,0864	0,0123	B	0,0757	0,0213	BC	0,0626	0,0187	CD	0,1193	0,0257	A
	NDPK	p<0,0001	0,1397	0,0192	A	0,1092	0,0134	B	0,1346	0,0233	A	0,1411	0,0259	A	0,1092	0,0178	B
	G6PDH	p=0,0012	0,0188	0,0048	A	0,0151	0,0046	AB	0,0183	0,0078	A	0,0183	0,0056	A	0,0124	0,0055	B
	CCO	p=0,397	0,1844	0,0425	A	0,1999	0,0313	A	0,1971	0,0484	A	0,1804	0,0553	A	0,2014	0,0341	A

Tableau 9 : Activités enzymatiques spécifiques (IU/mg poids humide) et concentration de protéines (mg protéines/g poids humide) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées en été. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).

Saison	Enzyme	p	Dasserat		Opasatica			Bousquet			Ossisko		Dufault				
			Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.			
Muscle	CS	p<0.0001	1,1	0,23	A	0,85	0,17	B	0,83	0,13	B	0,68	0,14	C	0,79	0,22	BC
	NDPK	p<0.0001	37,39	6,39	C	37,76	3,45	BC	42,73	5,7	B	55,6	6,71	A	55,08	6,6	A
	PK	p<0.0001	68,24	9,85	BC	62,97	15,72	CD	81,9	14,08	A	52,61	5,85	D	77,22	16,57	AB
	CCO	p<0.0001	4,15	0,6	B	3,68	0,45	C	4,84	0,56	A	3,63	0,53	C	4,24	0,57	B
	LDH	p<0.0001	95,52	42,43	B	66,18	32,78	C	94,22	21,98	B	143,33	48,07	A	132,71	41,57	A
	Protéine	p<0.0001	134,78	12,49	B	146,26	12,76	A	149,2	10,8	A	134,45	10,04	B	132,52	12,29	B
Cæca	CS	p=0.8747	5,21	0,81	A	5,03	0,91	A	5,22	0,74	A	5,31	0,92	A	5,34	1,31	A
	NDPK	p<0.0001	7,26	1,74	ABC	7,2	1,43	BC	8,59	1,56	A	8,37	1,92	AB	6,48	1,55	C
	G6PDH	p=0.0031	2,11	0,59	AB	1,64	0,41	B	2,39	0,68	A	2,04	0,6	AB	1,9	0,66	AB
	CCO	p=0.3761	18,21	2,1	A	16,89	3,22	A	16,74	2,25	A	16,44	3	A	17,37	4,26	A
	Protéine	p<0.0001	108,16	11,57	BC	107,46	15,31	BC	126,3	13,22	A	117,76	13,15	AB	103,52	17,98	C

Tableau 10 : Activités enzymatiques protéiques (IU/mg protéine) dans les muscles blancs et cæca pyloriques des perchaudes échantillonnées en été. Des lettres différentes dans une même rangé indiquent une différence significative parmi les traitements. La valeur "p" est pour l'ANOVA global. Les valeurs sont des moyennes avec l'erreur type de la moyenne en dessous (n=17-36).

Saison	Enzyme	p	Dasserat			Opasatica			Bousquet			Ossisko			Dufault		
			Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.	Moy.	ET	Sig.
Muscle	CS	p<0.0001	0,0082	0,0015	A	0,0059	0,0015	BC	0,0056	0,0008	BC	0,0051	0,0011	C	0,0065	0,0026	B
	NDPK	p<0.0001	0,2766	0,033	B	0,2594	0,0256	B	0,2869	0,0353	B	0,4173	0,0666	A	0,3749	0,1305	A
	PK	p<0.0001	0,4638	0,0935	B	0,3627	0,0543	C	0,4583	0,063	B	0,5755	0,1182	A	0,616	0,1053	A
	CCO	p<0.0001	0,0309	0,0046	A	0,0252	0,0033	B	0,0326	0,0041	A	0,0271	0,0044	B	0,032	0,0048	A
	LDH	p<0.0001	0,694	0,2752	B	0,4524	0,2024	C	0,6309	0,1375	BC	1,0606	0,3256	A	0,9927	0,2755	A
Cæca	CS	p=0.0158	0,0485	0,0079	AB	0,0474	0,0097	AB	0,0417	0,0071	B	0,0455	0,0084	AB	0,0528	0,0149	A
	NDPK	p=0.5934	0,0672	0,0142	A	0,0683	0,0173	A	0,0686	0,015	A	0,0719	0,018	A	0,0643	0,0174	A
	G6PDH	p=0.1469	0,0195	0,005	A	0,015	0,0041	A	0,019	0,0053	A	0,0176	0,0061	A	0,019	0,0075	A
	CCO	p<0.0001	0,1698	0,0245	A	0,1576	0,0244	AB	0,1338	0,0213	C	0,1399	0,0227	BC	0,1719	0,0474	A

2 Annexe B : Concentrations des métaux dans les foies et les reins des perchaudes récoltées sur le terrain.

2.1 Concentrations des métaux dans les foies : Rouyn-Noranda

Le gradient de contamination pour les foies des perchaudes de Rouyn-Noranda était évident pour le Cd et le Cu. Encore une fois, les concentrations de Cd étaient plus élevées chez les perchaudes du lac Dufault. Aucun gradient n'était apparent pour les concentrations de Ni dans les foies, elles étaient généralement basses, sauf pour le printemps en 2002 pour les perchaudes des lacs Bousquet, Dufault et Osisko, qui étaient anormalement hautes.

En examinant les différences interannuelles durant l'été, les concentrations de métaux dans les foies des perchaudes des lacs contaminés étaient souvent plus hautes en 2005 qu'en 2003 (figure 13, Annexe B). Les concentrations estivales de Ni dans les foies des perchaudes des lacs contaminés et du Cu chez les perchaudes du lac Osisko en 2005 étaient aussi statistiquement plus élevées qu'en 2006. En examinant les valeurs pour le printemps, les concentrations dans les foies des perchaudes capturées en 2003 étaient souvent plus élevées que chez les perchaudes capturées en 2006.

En examinant les variations saisonnières, aucune différence n'a été observée pour le Cd dans les foies des perchaudes. Cinq cas de différences saisonnières ont été identifiés en 2003 (Cu dans les perchaudes de Opasatica et Dufault, Ni pour les perchaudes de Bousquet, Osisko et Dufault) et dans tous les cas, la concentration était moindre au printemps qu'à l'été. En 2006 huit cas de différences significatives ont été identifiés. Dans sept de ces cas (Cu Dasserat, Opasatica, Bousquet et Dufault, Ni dans Opasatica, Bousquet et Dufault), la concentration avait augmenté

entre juin et août, tandis que les concentrations de Ni dans les foies des perchaudes de Dasserat avaient diminué durant cette même période.

2.2 Concentrations des métaux dans les foies : Sudbury

Le gradient de contamination était évident pour les concentrations de Cd et de Cu dans les foies des perchaudes de Sudbury. C'était moins le cas pour le Ni, particulièrement en été de 2002 où aucune différence significative n'était apparente parmi les lacs, bien que le gradient était facilement identifiable en 2005.

Peu de cas de différences interannuelles ont été identifiés. Un seul a été identifié chez les perchaudes des lacs contaminés (figure 14, Annexe B), celui des concentrations de Cu dans le lac Whitson qui étaient plus faibles en 2005 qu'en 2002. Deux autres cas ont été identifiés pour le lac James où les concentrations de Cu et de Ni étaient elles aussi plus faibles en 2005 qu'en 2002. Seulement deux cas de différences saisonnières ont été identifiés. Des augmentations entre le printemps et l'été ont été remarquées pour la concentration de Cu dans les foies des perchaudes des lacs James et Geneva en 2002.

2.3 Concentrations des métaux dans les reins : Rouyn-Noranda

Les gradients de contamination n'étaient pas toujours évidents dans les reins des perchaudes de Rouyn-Noranda. Ceci dit, les concentrations de Cd étaient toujours plus élevées chez les perchaudes du lac Dufault et les concentrations de Cu étaient souvent plus élevées chez les perchaudes du lac Osisko.

Aucune tendance n'a été identifiée pour les différences interannuelles (figure 15, Annexe B). Seulement 5 des 12 cas possibles étaient statistiquement différents. Chez les perchaudes du lac Osisko la concentration du Cu et du Ni dans les reins, ainsi que du Ni dans les reins des

perchaudes du lac Dufault, était plus hautes en 2003 qu'en 2004. L'inverse était le cas pour le Cd rénal des perchaudes du lac Osisko et le Cu rénal des perchaudes du lac Opasatica.

Cinq cas de différences saisonnières ont été identifiés en 2003, la seule année où les analyses ont pu être faites. Dans tous les cas (Cd : Dufault; Cu et Ni : Opasatica et Bousquet) la concentration des métaux était plus basse au printemps qu'en été.

2.4 Concentrations des métaux dans les reins : Sudbury

Le gradient de contamination pour les perchaudes de Sudbury était plus évident pour le Cd et le Ni dans les reins que pour le Cu. Ceci dit, les concentrations de Cu dans les reins des perchaudes du lac Whitson étaient élevées.

Les différences interannuelles pour les concentrations de métaux dans les reins présentaient des tendances différentes entre les deux lacs contaminés de la région (figure 16, Annexe B). Pour les perchaudes du lac Hannah les concentrations de Cd et de Ni sont plus élevées en 2004 qu'en 2002. Pour les perchaudes du lac Whitson, les concentrations de Cu et de Ni dans les reins pour l'année 2002 sont plus élevées qu'en 2004.

Six cas de différences saisonnières ont été identifiés. Pour le Cd dans les reins des perchaudes du lac Hannah, les concentrations avaient diminué entre le printemps et l'été. Dans les cinq autres cas (Cd : James; Cu : James, Geneva, Hannah, Whitson) les concentrations avaient augmenté entre le printemps et l'été. Aucune différence saisonnière n'a été identifiée pour le Ni.

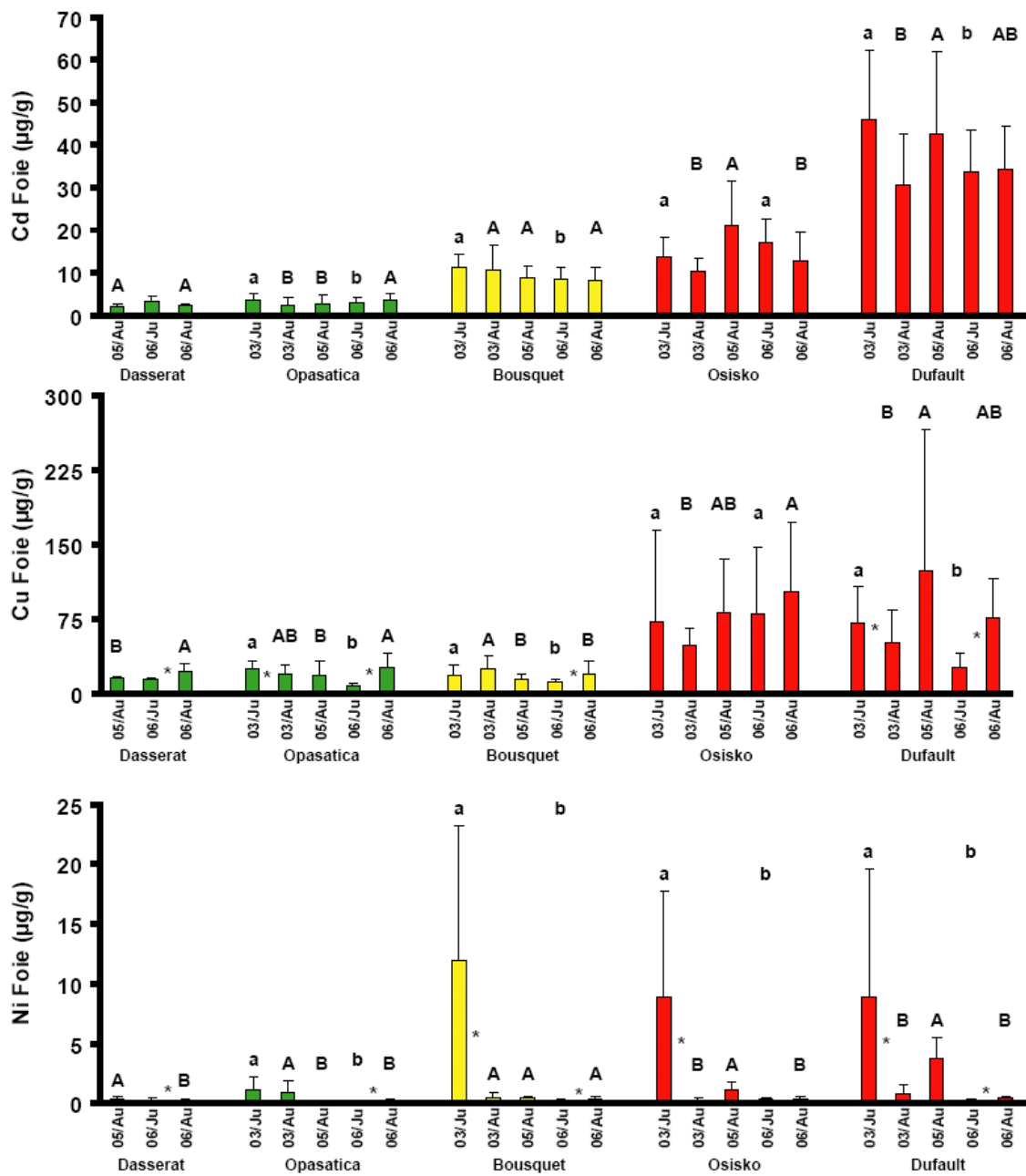


Figure 6 : Concentrations des métaux dans les foies des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

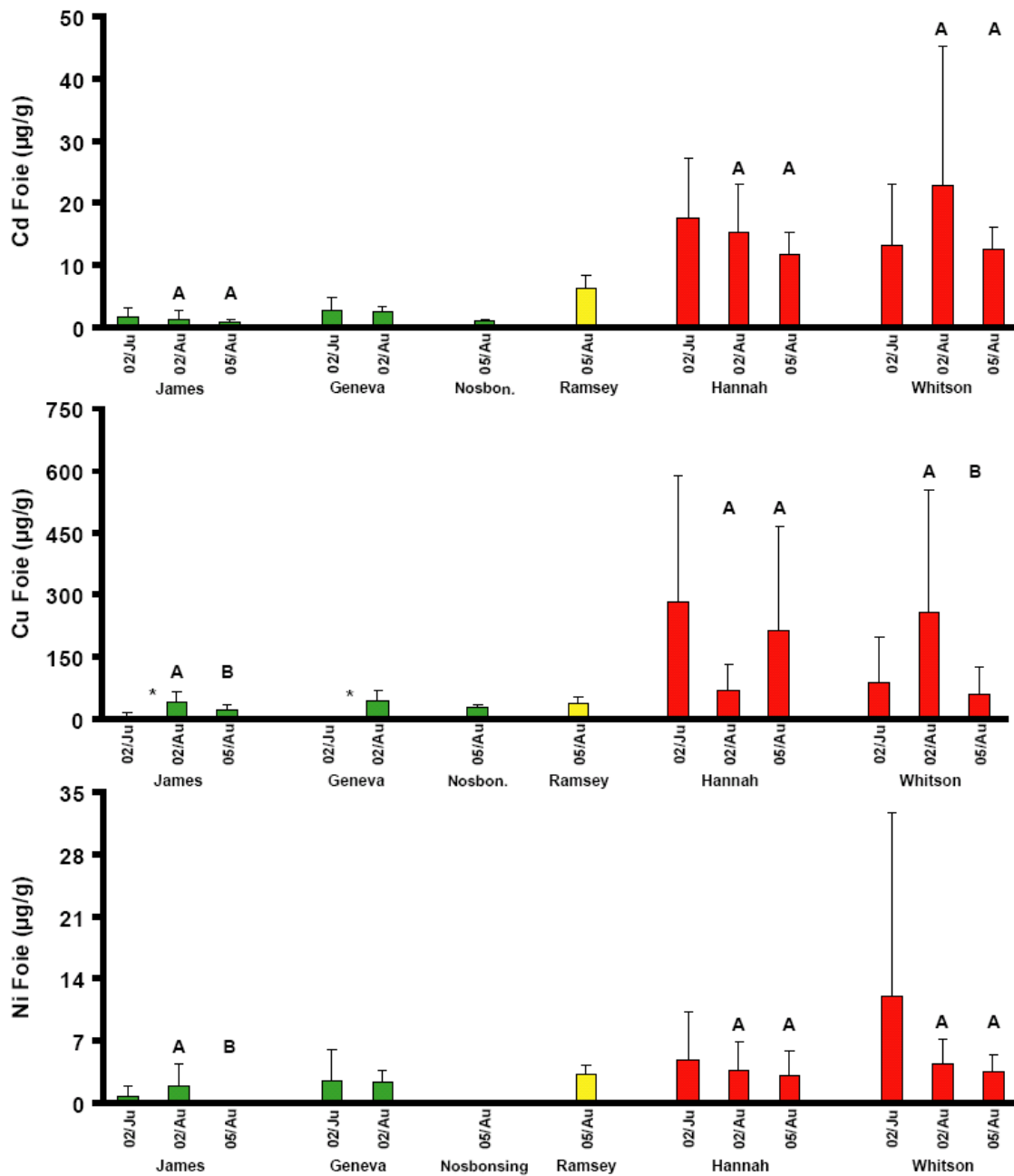


Figure 7 : Concentrations des métaux dans les foies des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

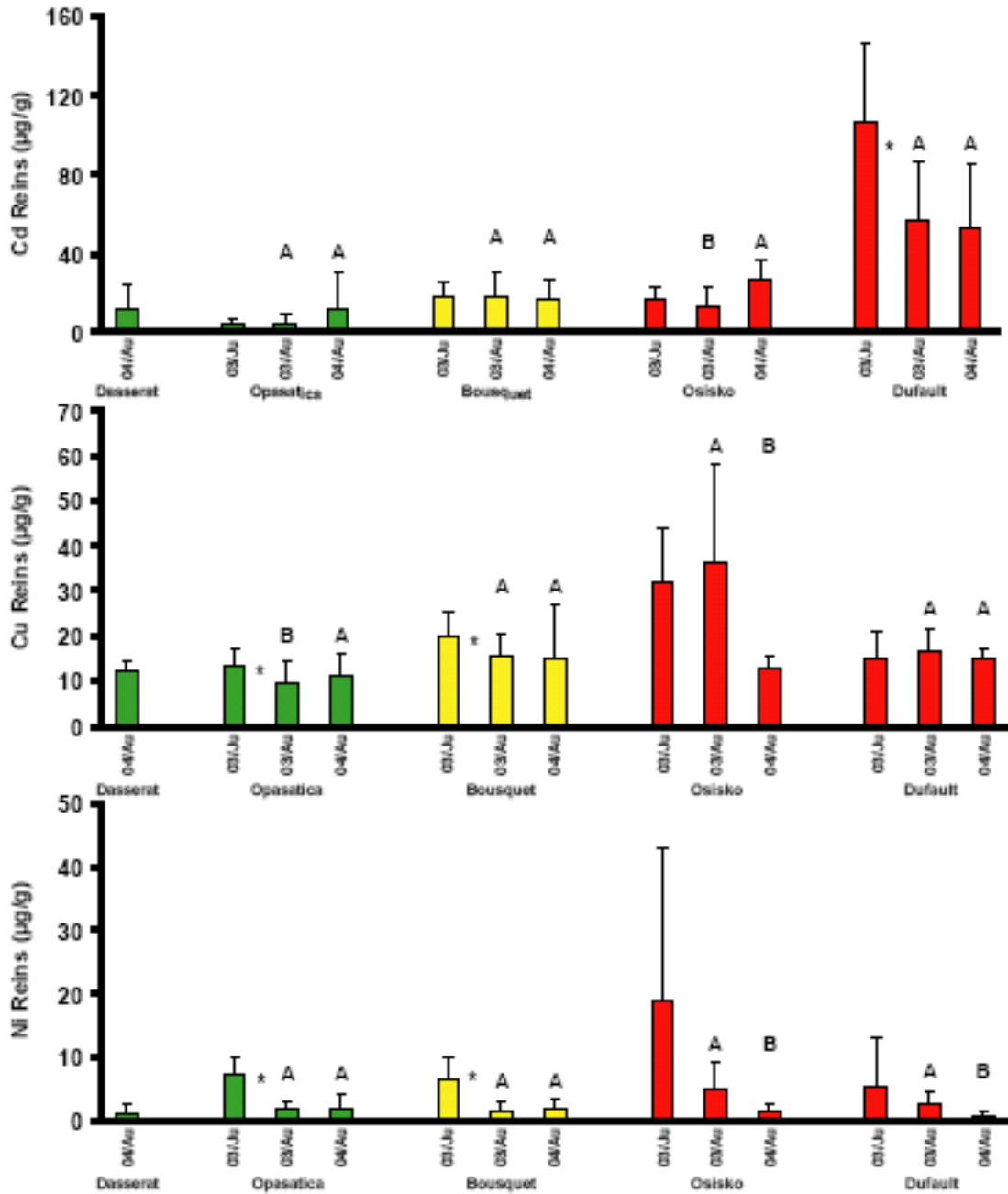


Figure 8 : Concentrations des métaux dans les reins des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Rouyn. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

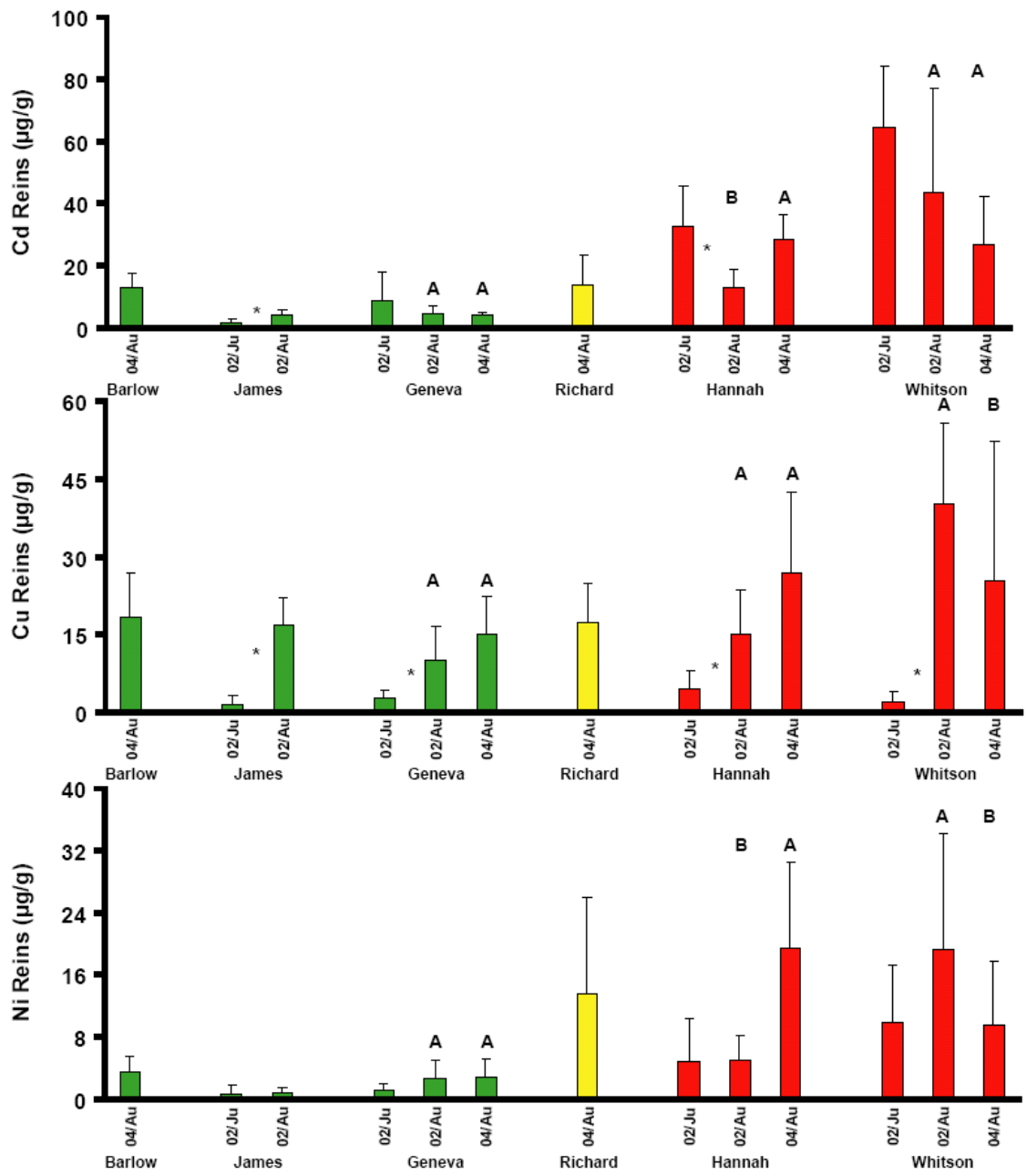


Figure 9 : Concentrations des métaux dans les reins des perchaudes échantillonnées dans les lacs dans la région de Sudbury. Les valeurs sont des moyennes + l'écart type. Les colonnes vertes sont des lacs de références, les jaunes des lacs intermédiaires et les rouges des lacs contaminés. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les années pour le printemps (minuscule) et l'été (MAJUSCULE). Un astérisque entre deux colonnes indique une différence significative entre les deux saisons d'une même année.

3 Annexe C : Gradients de contamination

Région de Rouyn-Noranda

Tableau 11 : Indice d'embonpoint, poids corrigé des cæca pyloriques et l'indice lipidique pour les perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	Indice d'embonpoint				Cæca pylorique			Indice Lipidique					
				n	Moy.	ET	Sig	n	Moy.	ET	Sig	n	Moy.	ET	Sig	
Opasatica	2003	Juin	2	120	0,78	0,09	B									
Bousquet	2003	Juin	3	75	0,86	0,09	A									
Osisko	2003	Juin	4	120	0,68	0,09	C									
Dufault	2003	Juin	5	121	0,67	0,10	C									
Opasatica	2003	Août	2	120	0,80	0,07	B									
Bousquet	2003	Août	3	94	0,85	0,09	A									
Osisko	2003	Août	4	120	0,72	0,06	C									
Dufault	2003	Août	5	119	0,78	0,07	B									
Dasserat	2004	Août	1	46	1,06	0,15	A	21	49,20	10,73	A					
Opasatica	2004	Août	2	50	0,94	0,09	B	24	46,61	11,21	A					
Bousquet	2004	Août	3	40	0,97	0,13	B	23	39,48	10,59	A					
Osisko	2004	Août	4	57	0,85	0,08	C	25	42,06	12,58	A					
Dufault	2004	Août	5	50	0,90	0,11	BC	25	43,44	12,86	A					
Dasserat	2005	Août	1	50	0,81	0,07	A	23	54,94	8,74	A					
Opasatica	2005	Août	2	50	0,71	0,04	C	25	54,63	13,12	AB					
Bousquet	2005	Août	3	100	0,75	0,05	B	24	50,47	7,56	AB					
Osisko	2005	Août	4	100	0,65	0,05	D	25	45,41	10,43	BC					
Dufault	2005	Août	5	93	0,62	0,05	E	25	42,00	6,31	C					
Dasserat	2006	Juin	1	30	0,84	0,06	A	30	74,06	30,72	A	29	1,09	0,46	A	
Opasatica	2006	Juin	2	30	0,62	0,05	D	30	59,87	23,78	A	30	0,50	0,43	C	
Bousquet	2006	Juin	3	25	0,77	0,05	B	25	78,86	26,73	A	25	0,83	0,42	AB	
Osisko	2006	Juin	4	30	0,64	0,04	D	30	69,14	31,58	A	30	0,56	0,34	BC	
Dufault	2006	Juin	5	29	0,69	0,07	C	30	64,82	22,39	A	30	0,86	0,32	A	
Dasserat	2006	Août	1	30	0,72	0,04	A	29	39,11	8,64	A	30	0,53	0,32	BC	
Opasatica	2006	Août	2	30	0,73	0,07	A	28	32,33	8,10	BC	30	0,52	0,65	C	
Bousquet	2006	Août	3	30	0,66	0,04	B	30	38,39	7,91	AB	30	0,58	0,35	BC	
Osisko	2006	Août	4	30	0,63	0,03	B	27	38,03	9,36	ABC	29	1,31	0,48	A	
Dufault	2006	Août	5	30	0,64	0,04	B	30	31,73	9,41	C	30	0,80	0,41	B	

Tableau 12 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans la diète des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
Opasatica	2003	Juin	2	22	6,23	2,61	C	22	43,83	15,25	B	22	11,66	5,92	A
Bousquet	2003	Juin	3	22	21,39	9,72	B	22	44,64	17,70	B	22	6,74	3,00	BC
Osisko	2003	Juin	4	20	13,41	10,04	BC	20	671,17	849,19	A	20	10,21	5,60	AB
Dufault	2003	Juin	5	21	31,07	16,42	A	22	380,51	403,02	AB	22	5,93	5,18	C
Opasatica	2003	Août	2	21	3,32	3,47	B	21	39,12	14,80	B	21	8,82	11,52	A
Bousquet	2003	Août	3	25	3,46	2,52	B	25	26,86	11,98	B	21	6,21	7,07	A
Osisko	2003	Août	4	19	8,03	4,53	B	19	605,14	637,41	A	19	9,08	7,41	A
Dufault	2003	Août	5	26	23,57	11,81	A	26	229,56	228,48	B	24	9,75	8,08	A
Dasserat	2004	Août	1	23	8,45	9,78	B	23	76,62	67,03	B	22	3,75	3,22	B
Opasatica	2004	Août	2	25	8,75	2,51	B	25	127,95	242,90	B	24	5,57	3,30	AB
Bousquet	2004	Août	3	24	13,60	7,94	A	24	58,00	32,33	B	24	4,70	2,40	AB
Osisko	2004	Août	4	24	19,21	20,43	A	24	280,28	210,03	A	24	9,92	10,39	A
Dufault	2004	Août	5	21	30,71	18,95	A	21	324,40	272,49	A	21	3,60	1,94	B
Dasserat	2005	Août	1	24	3,53	1,89	B	24	53,95	22,40	B	24	3,42	1,82	A
Opasatica	2005	Août	2	17	1,26	0,85	C	17	26,51	18,83	C	17	5,16	4,46	A
Bousquet	2005	Août	3	20	4,51	3,64	B	20	27,76	14,52	C	20	7,39	4,80	A
Osisko	2005	Août	4	20	5,80	3,21	AB	20	224,46	206,35	A	20	5,01	2,83	A
Dufault	2005	Août	5	20	9,36	5,76	A	19	52,41	26,45	B	20	3,76	3,58	A
Dasserat	2006	Juin	1	27	0,36	0,19	BC	27	8,27	4,27	B	27	0,40	0,20	BC
Opasatica	2006	Juin	2	19	0,31	0,20	C	19	5,62	8,11	C	17	0,26	0,18	BC
Bousquet	2006	Juin	3	25	1,19	0,66	A	25	4,66	2,53	C	25	0,52	0,46	AB
Osisko	2006	Juin	4	26	0,63	0,41	BC	26	59,61	49,29	A	26	1,17	0,98	AB
Dufault	2006	Juin	5	23	1,73	1,81	A	22	11,87	9,17	B	23	0,23	0,21	C
Dasserat	2006	Août	1	21	0,26	0,17	C	22	7,17	6,90	C	22	0,38	0,29	B
Opasatica	2006	Août	2	29	0,36	0,41	C	29	3,79	3,20	C	29	0,67	0,50	B
Bousquet	2006	Août	3	25	0,49	0,40	BC	25	4,41	2,91	C	25	0,45	0,45	B
Osisko	2006	Août	4	28	0,65	0,38	B	28	133,16	103,76	A	28	1,50	0,87	A
Dufault	2006	Août	5	26	2,88	2,82	A	26	48,66	37,76	B	26	0,55	0,56	B

Tableau 13 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les cæca pyloriques des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
Dasserat	2004	Août	1	22	0,97	0,49	C	22	8,10	3,12	AB	21	0,30	0,24	AB
Opasatica	2004	Août	2	24	0,78	0,54	C	24	6,45	2,78	BC	23	0,25	0,32	B
Bousquet	2004	Août	3	28	2,03	1,69	B	28	5,49	2,29	C	27	0,38	0,43	AB
Osisko	2004	Août	4	25	3,22	3,63	B	25	8,30	2,32	A	25	0,50	0,43	A
Dufault	2004	Août	5	25	7,13	5,51	A	25	9,55	4,26	A	25	0,32	0,26	AB
Dasserat	2005	Août	1	25	0,91	0,36	C	25	6,40	1,71	BC	25	0,14	0,18	B
Opasatica	2005	Août	2	25	0,87	0,43	C	25	4,65	1,39	D	25	0,24	0,19	B
Bousquet	2005	Août	3	25	1,51	0,60	B	25	5,41	1,53	CD	25	0,42	0,33	A
Osisko	2005	Août	4	25	1,96	1,34	B	25	8,55	3,29	A	25	0,26	0,10	AB
Dufault	2005	Août	5	25	7,14	4,97	A	25	8,43	3,79	AB	25	0,48	0,40	A
Dasserat	2006	Juin	1	28	0,60	0,21	C	28	5,26	1,94	A	28	0,16	0,07	B
Opasatica	2006	Juin	2	9	0,66	0,34	C	8	2,53	1,13	C	9	0,14	0,04	B
Bousquet	2006	Juin	3	21	2,46	1,52	A	23	3,72	2,25	BC	23	0,28	0,16	A
Osisko	2006	Juin	4	26	1,70	1,13	B	26	5,76	3,35	AB	26	0,40	0,25	A
Dufault	2006	Juin	5	12	3,83	0,67	A	12	4,83	1,38	ABC	11	0,12	0,05	B
Dasserat	2006	Août	1	18	1,08	0,31	D	18	4,72	0,47	BC	18	0,36	0,21	B
Opasatica	2006	Août	2	15	3,17	1,71	B	15	6,45	1,48	A	15	0,65	0,43	A
Bousquet	2006	Août	3	22	1,97	0,98	BC	22	4,55	1,13	C	22	0,41	0,21	AB
Osisko	2006	Août	4	30	1,83	1,94	CD	30	6,25	2,60	AB	30	0,38	0,22	AB
Dufault	2006	Août	5	29	15,93	10,84	A	28	6,95	3,45	A	29	0,39	0,26	AB

Tableau 14 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les foies des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			Cu			Ni				
					Moy.	ET.	Sig	n	Moy.	ET	Sig	n	Moy.	ET	Sig
Opasatica	2003	Juin	2	23	3,74	1,31	C	23	25,08	8,27	B	23	1,11	1,05	B
Bousquet	2003	Juin	3	22	11,07	3,49	B	22	19,55	8,60	B	20	11,87	11,39	A
Osisko	2003	Juin	4	22	13,60	4,64	B	22	72,37	91,69	A	22	8,80	8,93	A
Dufault	2003	Juin	5	24	46,03	16,11	A	24	71,93	35,82	A	24	8,88	10,73	A
Opasatica	2003	Août	2	26	2,34	1,75	C	26	20,68	8,18	B	26	0,90	1,03	A
Bousquet	2003	Août	3	25	10,50	5,87	B	25	24,60	13,22	B	25	0,43	0,50	A
Osisko	2003	Août	4	23	10,24	3,18	B	23	49,33	17,60	A	15	0,21	0,16	A
Dufault	2003	Août	5	27	30,45	11,99	A	27	50,94	33,51	A	26	0,79	0,76	A
Dasserat	2005	Août	1	25	1,94	0,84	C	25	15,08	2,85	B	24	0,34	0,20	C
Opasatica	2005	Août	2	24	2,89	1,69	D	24	19,26	14,49	B	11	0,11	0,07	D
Bousquet	2005	Août	3	25	8,95	2,68	C	25	14,55	6,13	B	5	0,39	0,25	C
Osisko	2005	Août	4	25	21,17	10,58	B	25	82,30	53,35	A	18	1,14	0,64	B
Dufault	2005	Août	5	25	42,49	19,42	A	25	124,03	143,04	A	7	3,78	1,64	A
Dasserat	2006	Juin	1	30	3,24	1,28	D	30	14,31	2,55	C	30	0,25	0,14	A
Opasatica	2006	Juin	2	30	3,04	1,08	D	30	8,29	2,88	D	30	0,13	0,07	B
Bousquet	2006	Juin	3	25	8,54	2,94	C	25	11,71	2,66	C	25	0,18	0,12	AB
Osisko	2006	Juin	4	28	16,83	5,92	B	28	80,60	66,44	A	28	0,25	0,13	A
Dufault	2006	Juin	5	30	33,50	10,19	A	29	26,55	13,67	B	30	0,14	0,11	B
Dasserat	2006	Août	1	29	2,20	0,57	E	29	22,31	8,23	B	28	0,17	0,11	C
Opasatica	2006	Août	2	30	3,67	1,33	D	30	26,78	15,47	B	30	0,23	0,09	BC
Bousquet	2006	Août	3	30	8,33	2,92	C	30	20,17	12,68	B	29	0,28	0,17	AB
Osisko	2006	Août	4	30	12,72	6,83	B	30	102,30	70,60	A	30	0,30	0,15	AB
Dufault	2006	Août	5	30	34,13	10,42	A	30	76,34	39,79	A	29	0,38	0,14	A

Tableau 15 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les reins des perchaudes capturées à Rouyn-Noranda. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
Opasatica	2003	Juin	2	23	4,08	2,57	B	23	13,40	4,09	C	16	7,38	2,53	B
Bousquet	2003	Juin	3	22	17,89	7,29	B	22	20,33	5,23	B	22	6,34	3,69	B
Osisko	2003	Juin	4	22	16,99	5,62	B	18	31,98	11,76	A	18	18,93	24,16	A
Dufault	2003	Juin	5	24	106,24	39,41	A	24	15,21	5,67	BC	24	5,41	7,72	B
Opasatica	2003	Août	2	26	4,77	4,29	B	26	9,58	4,77	B	22	1,75	0,95	B
Bousquet	2003	Août	3	24	17,64	12,78	B	22	15,49	5,26	AB	21	1,50	1,38	B
Osisko	2003	Août	4	18	13,33	9,19	BC	13	36,42	21,83	A	9	5,02	4,30	A
Dufault	2003	Août	5	27	56,69	30,11	A	25	16,65	5,21	A	21	2,34	2,33	B
Dasserat	2004	Août	1	22	11,59	12,15	D	22	12,12	2,13	B	22	1,20	1,46	A
Opasatica	2004	Août	2	23	11,36	19,63	D	22	11,52	4,57	B	23	1,67	2,51	A
Bousquet	2004	Août	3	25	16,79	9,45	C	25	15,34	11,53	AB	24	1,60	1,53	A
Osisko	2004	Août	4	19	27,48	8,55	B	19	13,03	2,88	AB	19	1,27	1,11	A
Dufault	2004	Août	5	22	53,10	31,44	A	22	15,40	2,06	A	22	0,66	0,63	A

Région de Sudbury

Tableau 16 : Indice d'embonpoint et poids des cæca pyloriques des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	Indice d'embonpoint				Cæca pylorique			
				n	Moy.	ET	Sig	n	Moy.	ET	Sig
James	2002	Juin	1	125	0,81	0,11	A				
Geneva	2002	Juin	2	132	0,83	0,07	A				
Hannah	2002	Juin	4	130	0,73	0,10	B				
Whitson	2002	Juin	5	125	0,75	0,08	B				
James	2002	Août	1	132	0,70	0,11	C				
Geneva	2002	Août	2	125	0,80	0,06	B				
Hannah	2002	Août	4	148	0,85	0,07	A				
Whitson	2002	Août	5	129	0,80	0,07	B				
Barlow	2004	Août	1	50	0,88	0,10	B	25	26,30	5,65	B
Geneva	2004	Août	2	49	1,03	0,23	A	24	30,40	6,95	B
Richard	2004	Août	3	39	0,92	0,11	BC	25	37,13	5,63	AB
Hannah	2004	Août	4	50	0,82	0,06	C	24	36,54	5,42	A
Whitson	2004	Août	5	50	0,85	0,07	BC	24	30,03	8,31	AB
James	2005	Août	1	50	0,63	0,03	D	25	36,18	6,98	A
Nosbonsing	2005	Août	2	50	0,83	0,05	A	25	37,09	7,67	A
Ramsey	2005	Août	3	50	0,76	0,04	B	14	33,98	7,09	A
Hannah	2005	Août	4	48	0,72	0,04	C	25	42,77	8,70	A
Whitson	2005	Août	5	43	0,72	0,04	C	18	42,84	9,42	A

Tableau 17 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans la diète des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		Sig
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	
James	2002	Juin	1	28	0,12	0,14	B	28	61,99	161,17	B	32	3,87	10,77	C
Geneva	2002	Juin	2	22	1,44	3,55	B	12	23,60	49,39	B	21	7,19	11,31	BC
Hannah	2002	Juin	4	18	13,39	5,95	A	15	351,57	374,35	A	16	111,45	119,93	A
Whitson	2002	Juin	5	17	13,57	6,01	A	13	163,79	129,25	AB	17	54,78	47,25	B
James	2002	Août	1	8	1,25	1,26	B	7	49,33	12,56	B	6	0,91	0,82	B
Geneva	2002	Août	2	9	1,59	3,35	B	9	26,05	13,33	B	9	9,01	9,88	B
Hannah	2002	Août	4	10	13,96	10,62	A	9	214,30	80,39	A	9	94,29	66,67	A
Whitson	2002	Août	5	10	8,69	5,34	AB	10	175,95	100,59	A	10	101,26	74,54	A
Barlow	2004	Août	1	18	2,94	2,59	C	18	54,13	36,36	C	18	22,27	16,15	C
Geneva	2004	Août	2	23	2,59	2,55	C	23	53,57	39,55	C	22	24,17	23,79	C
Richard	2004	Août	3	11	9,30	12,81	BC	11	77,39	86,18	C	19	36,53	40,89	BC
Hannah	2004	Août	4	21	24,81	11,59	A	21	318,27	150,67	A	21	272,11	157,33	A
Whitson	2004	Août	5	24	8,75	7,51	B	24	129,51	107,77	B	23	74,23	52,49	B
James	2005	Août	1	3	0,14	0,04	B	3	4,17	1,45	B	3	5,23	4,08	C
Nosbonsing	2005	Août	2	22	0,75	0,68	B	22	44,35	17,22	A	22	7,30	12,58	C
Ramsey	2005	Août	3	19	5,04	3,48	A	19	70,66	44,45	A	19	48,96	32,36	AB
Hannah	2005	Août	4	7	4,91	3,11	A	7	201,57	204,24	A	7	139,27	171,01	A
Whitson	2005	Août	5	15	5,82	1,28	A	15	55,24	44,06	A	15	42,23	31,28	A

Tableau 18 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les cæca pyloriques des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
Barlow	2004	Août	1	25	0,85	0,37	D	25	6,02	1,09	C	24	3,03	1,52	BC
Geneva	2004	Août	2	24	6,64	1,80	A	25	2,33	1,40	D	27	1,84	1,52	C
Richard	2004	Août	3	25	2,93	2,26	C	15	7,65	2,58	BC	23	5,06	4,05	B
Hannah	2004	Août	4	25	4,84	2,52	B	25	15,35	9,75	A	25	13,14	11,30	A
Whitson	2004	Août	5	25	2,86	2,44	C	25	8,75	3,80	B	25	5,85	3,61	B
James	2005	Août	1	25	0,14	0,07	D	25	4,87	1,84	BC	25	0,25	0,28	B
Nosbonsing	2005	Août	2	25	0,26	0,12	C	25	5,02	1,39	BC	25	0,29	0,21	B
Ramsey	2005	Août	3	25	2,43	1,87	B	25	6,99	2,87	B	25	3,86	1,86	A
Hannah	2005	Août	4	25	4,34	2,12	A	25	14,80	15,71	A	25	6,27	8,54	A
Whitson	2005	Août	5	23	3,16	1,47	A	23	3,89	1,15	C	23	2,28	1,08	A

Tableau 19 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les foies des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
James	2002	Juin	1	32	1,47	1,60	B	31	7,59	10,05	B	31	0,75	1,16	B
Geneva	2002	Juin	2	12	2,71	1,96	B	13	3,94	3,40	B	13	2,55	3,48	AB
Hannah	2002	Juin	4	23	17,61	9,52	A	18	282,83	304,77	A	20	4,90	5,39	AB
Whitson	2002	Juin	5	11	13,07	9,90	AB	11	88,96	110,26	B	14	12,08	20,66	A
James	2002	Août	1	10	1,22	1,35	B	10	43,85	23,73	B	10	1,85	2,48	A
Geneva	2002	Août	2	9	2,39	0,90	B	9	44,18	27,99	B	9	2,33	1,33	A
Hannah	2002	Août	4	8	15,11	7,78	AB	9	70,19	63,71	B	8	3,72	3,15	A
Whitson	2002	Août	5	8	22,67	22,49	A	8	259,26	296,02	A	8	4,34	2,85	A
James	2005	Août	1	25	0,83	0,36	C	25	21,77	14,54	D	25	0,10	0,07	B
Nosbonsing	2005	Août	2	25	0,95	0,28	C	25	27,46	10,02	CD	24	0,16	0,08	B
Ramsey	2005	Août	3	25	6,22	2,11	B	25	40,08	14,15	BC	25	3,12	1,12	A
Hannah	2005	Août	4	25	11,58	3,62	A	25	217,24	248,94	A	6	3,02	2,83	A
Whitson	2005	Août	5	25	12,50	3,58	A	25	59,87	68,21	B	23	3,52	1,92	A

Tableau 20 : Concentration de Cd, Cu et Ni dans les reins des perchaudes capturées à Sudbury. Pour chaque groupement d'année et de saison le nombre (n), la moyenne et l'erreur type de la moyenne sont présentés. Pour chacun de ces groupements des lettres différentes dans la colonne "Sig" indiquent une différence significative parmi les lacs.

Lac	Année	Mois	Rang	n	Cd			n	Cu			n	Ni		
					Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig		Moy.	ET	Sig
James	2002	Juin	1	29	1,94	0,97475	C	30	1,69	1,56	B	29	0,82	0,93	B
Geneva	2002	Juin	2	22	9,14	9,0154	C	22	2,64	1,60	AB	22	1,24	0,83	B
Hannah	2002	Juin	4	22	32,9	13,1132	B	21	4,43	3,52	A	22	4,91	5,53	B
Whitson	2002	Juin	5	13	64,4	20,0386	A	12	2,14	1,84	B	12	10,05	7,16	A
James	2002	Août	1	8	4,32	1,82993	B	10	16,72	5,34	A	5	0,88	0,70	B
Geneva	2002	Août	2	8	4,4	2,68167	B	3	10,05	6,60	A	4	2,78	2,28	B
Hannah	2002	Août	4	11	13,3	5,50597	B	7	15,32	8,39	A	8	5,03	3,18	B
Whitson	2002	Août	5	9	43,6	33,6683	A	8	40,16	15,69	A	4	19,19	15,05	A
Barlow	2004	Août	1	25	12,9	5,05999	B	25	18,47	8,30	AB	25	3,47	2,15	C
Geneva	2004	Août	2	25	4,06	1,1496	C	25	15,27	6,95	B	25	2,87	2,30	C
Richard	2004	Août	3	12	14,1	9,29233	B	12	17,18	7,90	B	12	13,70	12,38	AB
Hannah	2004	Août	4	25	28,2	8,19021	A	25	26,80	15,74	A	25	19,38	11,15	A
Whitson	2004	Août	5	33	26,8	15,4911	A	33	25,50	26,78	AB	33	9,62	8,21	B

4 Annexe D : Tableau des espèces présente dans les lacs

échantillonnés

Tableau 21 : Présence de diverses espèces dans les lacs échantillonnés des deux régions d'étude. Ces informations sont compilées à partir d'observations personnelles.

	Sudbury								Rouyn				
	Barlow	Geneva	James	Nosbon.	Ramsey	Richard	Hannah	Whitson	Dasserat	Opasatica	Bousquet	Osisko	Dufault
Percidae													
<i>Perca flavescens</i>	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
<i>Sander vitreus</i>	Oui	Oui		Oui	Oui	Oui		Oui	Oui	Oui			
<i>Etheostoma exile</i>													
<i>Etheostoma nigrum</i>			Oui				Oui						
<i>Percina caprodes</i>													Oui
Centrarchidae													
<i>Lepomis gibbosus</i>	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui			Oui	Oui	Oui		
<i>Ambloplites rupestris</i>		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui			Oui	Oui	Oui		
<i>Micropterus dolomieu</i>	Oui	Oui	Oui				Oui		Oui	Oui			
<i>Micropterus salmoides</i>							Oui						
Cyprinidae													
<i>Notemigonus crysoleucas</i>	Oui	Oui		Oui				Oui	Oui	Oui			Oui
<i>Notropis cornutus</i>	Oui	Oui	Oui						Oui	Oui	Oui		
<i>Semotilus atromaculatus</i>	Oui						Oui		Oui		Oui		
<i>Couesius plumbeus</i>	Oui	Oui	Oui						Oui	Oui			
<i>Pimephales promelas</i>									Oui				
Ictaluridae													
<i>Ictalurus nebulosus</i>	Oui									Oui	Oui	Oui	
Catostomidae													
<i>Catostomus commersoni</i>		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui		Oui	Oui	Oui	Oui		Oui
Esocidae													
<i>Esox lucius</i>	Oui	Oui		Oui	Oui	Oui		Oui	Oui	Oui	Oui		Oui
Total	10	10	8	7	6	9	2	5	12	11	9	2	5

5 Annexe E : Analyse de covariance des relations longueur vs poids et de l'indice lipidique.

Suite aux commentaires et suggestions des examinateurs, une série d'analyses de covariance ont été faites pour examiner les relations entre la longueur et le poids des perchaudes ainsi que les relations entre le poids des perchaudes et le poids des lipides viscéraux. Des inquiétudes concernant l'utilisation des ratios (l'indice d'embonpoint et l'indice lipidique) ainsi que des questionnements sur la validité de l'indice d'embonpoint sont à l'origine de la réanalyse de ces résultats.

5.1 Les relations longueur vs poids : ANCOVA et l'indice d'embonpoint

Les relations entre la longueur et le poids des perchaudes ont été ré-examinées utilisant le logiciel de statistique Matlab (v 7.0). Des analyses de covariance ont été faites en séparant les échantillonnages par saison, année et région (total de 10 groupes). Puisque chacun de ces groupes comprend plusieurs lacs, un algorithme de comparaison multiple avec une correction de Tukey (Tukey's Honestly Significant Difference) a été utilisé pour déterminer si les relations longueur/poids pour les perchaudes des différents lacs étaient différentes. Puisque l'analyse ANCOVA exige des relations linéaires, les analyses ont été faites sur des données qui avaient subi une transformation logarithmique. Le résultat de ces analyses est présenté dans le tableau 22. Les valeurs pour l'indice d'embonpoint (voir les tableaux 14 et 19) ainsi que les différences entre les lacs pour l'indice d'embonpoint sont aussi présentées pour fins de comparaison.

Une première constatation est que l'ordre dans lequel les relations se classent est différent de l'ordre pour les indices d'embonpoint. Bien que les populations de perchaudes des lacs de référence aient encore des pentes plus élevées que celles des lacs contaminés (avec les exceptions

déjà notées dans la synthèse), les populations de perchaudes des lacs intermédiaires (Bousquet, Ramsey, Richard) ont souvent des pentes plus élevées que tous les autres. Ceci dit, et en contrepartie, les relations pour les perchaudes des lacs intermédiaires ont souvent les ordonnées à l'origine les plus bas. Une explication pour cette contradiction entre l'indice d'embonpoint et les ANCOVA serait que les perchaudes des lacs intermédiaires ont des taux de croissance plus élevés (donc une pente plus grande), mais que leur petite taille initiale fait en sorte qu'elles ont un indice d'embonpoint moindre que les perchaudes des lacs de référence. Ces différences de taux de croissance ont déjà été notées. Les analyses de Pyle et al. (2008) pour les années 2002 et 2003 ont démontré que les perchaudes des lacs contaminés ont souvent des taux de croissance initiaux plus élevés que ceux des lacs de référence. Les lacs de contamination intermédiaire pourraient être un "entre deux" où les effets néfastes des métaux se font encore ressentir, mais où l'appauvrissement de la communauté de poisson est suffisant pour permettre aux perchaudes de mieux grandir.

Bien que les ANCOVA aient apporté de nouvelles informations concernant les taux de croissance des perchaudes dans les différents lacs examinés, elles ne nous donnent pas ce qu'on recherche (i.e. une indication de l'accumulation des réserves énergétiques et de la consommation récente). La différence entre l'indice d'embonpoint et la trajectoire de croissance d'une population peut sembler petite (essentiellement l'inclusion d'un ordonnée à l'origine dans la relation log/log), mais elle est importante et change fondamentalement l'information qu'on peut en tirer. Ceci dit, autant que les ANCOVA ne peuvent pas remplacer l'utilisation de l'indice d'embonpoint, elles apportent des informations complémentaires qui nous permettent de mieux comprendre les différentes populations examinées.

Tableau 22 : Résultat des analyses de covariance entre la longueur et le poids des perchaudes. Des analyses indépendantes ont été faites pour chaque année, saison et région. Pour chaque groupe, des lettres différentes dans la colonne Sig indiquent des différences significatives parmi les lacs. Les ordonnées à l'origine et les pentes, avec leurs erreurs type (ET) sont présentés. Les valeurs pour le Kn sont aussi présentées comme comparaison avec les résultats de la synthèse. Voir les tableaux 14 et 19 pour le nombre d'échantillons.

Année	Saison	Région	Lac	Ordonnée	ET	Pente	ET	Sig	Kn	Sig
2002	Ptmp.	Sudbury	James	-1.9039	0.02409	2.8778	0.02495	B	0.81	A
2002	Ptmp.	Sudbury	Geneva	-2.1027	0.02827	3.1018	0.03198	A	0.83	A
2002	Ptmp.	Sudbury	Hannah	-1.9056	0.02622	2.8202	0.02877	B	0.73	B
2002	Ptmp.	Sudbury	Whitson	-1.9921	0.02946	2.9246	0.03319	B	0.75	B
2002	Été	Sudbury	James	-2.2375	0.03128	3.16	0.02802	A	0.70	C
2002	Été	Sudbury	Geneva	-2.1037	0.02014	3.0846	0.02028	AB	0.80	B
2002	Été	Sudbury	Hannah	-2.1232	0.02401	3.1264	0.02263	AB	0.85	A
2002	Été	Sudbury	Whitson	-2.0721	0.02043	3.0455	0.02149	B	0.80	B
2003	Ptmp.	Rouyn	Opasatica	-2.134	0.02631	3.1613	0.02512	C	0.78	B
2003	Ptmp.	Rouyn	Bousquet	-2.2049	0.02511	3.2822	0.02497	AB	0.86	A
2003	Ptmp.	Rouyn	Osisko	-2.3711	0.0237	3.329	0.02231	A	0.68	C
2003	Ptmp.	Rouyn	Dufault	-2.0383	0.02343	2.9955	0.02302	D	0.67	C
2003	Été	Rouyn	Opasatica	-2.0853	0.01757	3.1238	0.01768	B	0.80	B
2003	Été	Rouyn	Bousquet	-2.1587	0.01498	3.2277	0.01512	A	0.85	A
2003	Été	Rouyn	Osisko	-2.0806	0.0168	3.0854	0.01513	B	0.72	C
2003	Été	Rouyn	Dufault	-2.0894	0.01535	3.1176	0.01535	B	0.78	B
2004	Été	Rouyn	Dasserat	-1.8455	0.04438	3.0115	0.04095	BC	1.06	A
2004	Été	Rouyn	Opasatica	-2.0157	0.0482	3.1255	0.04285	AB	0.94	B
2004	Été	Rouyn	Bousquet	-2.061	0.04362	3.1818	0.04088	A	0.97	B
2004	Été	Rouyn	Osisko	-1.7469	0.07419	2.8586	0.06412	C	0.85	C
2004	Été	Rouyn	Dufault	-1.8214	0.06554	2.9256	0.06126	BC	0.90	BC
2004	Été	Sudbury	Barlow	-2.337	0.09858	3.3866	0.10664	A	0.88	B
2004	Été	Sudbury	Geneva	-2.344	0.14646	3.4341	0.15007	A	1.03	A
2004	Été	Sudbury	Richard	-2.237	0.07553	3.2604	0.0761	A	0.92	BC
2004	Été	Sudbury	Hannah	-2.1025	0.17368	3.0921	0.18565	A	0.82	C
2004	Été	Sudbury	Whitson	-2.0591	0.08584	3.0642	0.0912	A	0.85	BC
2005	Été	Rouyn	Dasserat	-1.9876	0.03342	3.0366	0.03213	B	0.81	A
2005	Été	Rouyn	Opasatica	-2.1201	0.04008	3.1114	0.03932	B	0.71	C
2005	Été	Rouyn	Bousquet	-2.2507	0.02377	3.2648	0.02319	A	0.75	B
2005	Été	Rouyn	Osisko	-2.1445	0.02941	3.1038	0.02618	B	0.65	D
2005	Été	Rouyn	Dufault	-2.1045	0.02864	3.0364	0.02839	B	0.62	E
2005	Été	Sudbury	James	-2.252	0.04918	3.1229	0.04602	AB	0.63	D
2005	Été	Sudbury	Nosbonsing	-2.236	0.04288	3.2184	0.0406	A	0.83	A
2005	Été	Sudbury	Ramsey	-2.1292	0.04199	3.0879	0.04074	AB	0.76	B
2005	Été	Sudbury	Hannah	-1.8618	0.05948	2.7986	0.05866	C	0.72	C
2005	Été	Sudbury	Whitson	-1.9475	0.08076	2.8728	0.08381	BC	0.72	C
2006	Ptmp.	Rouyn	Dasserat	-1.9892	0.05779	3.0521	0.0561	A	0.84	A
2006	Ptmp.	Rouyn	Opasatica	-2.1273	0.06724	3.0561	0.06936	A	0.62	D
2006	Ptmp.	Rouyn	Bousquet	-2.1743	0.06372	3.2033	0.06457	A	0.77	B
2006	Ptmp.	Rouyn	Osisko	-2.125	0.06603	3.0729	0.06186	A	0.64	D
2006	Ptmp.	Rouyn	Dufault	-2.1902	0.11259	3.1665	0.10911	A	0.69	C
2006	Été	Rouyn	Dasserat	-2.2377	0.05846	3.2409	0.0581	A	0.72	A
2006	Été	Rouyn	Opasatica	-1.9543	0.08675	2.9458	0.0877	B	0.73	A
2006	Été	Rouyn	Bousquet	-2.3832	0.1085	3.3435	0.10853	AB	0.66	B
2006	Été	Rouyn	Osisko	-2.1287	0.09304	3.0734	0.08703	AB	0.63	B
2006	Été	Rouyn	Dufault	-2.3116	0.1292	3.2469	0.11947	AB	0.64	B

5.2 Les lipides viscéraux : Re-examen avec l'ANCOVA

Les relations entre le poids frais des perchaudes et les lipides viscéraux ont été examinées utilisant des ANCOVA suivant la même méthode que pour l'indice d'embonpoint, mais avec des données non-transformées. Les résultats sont présentés dans le tableau 23 avec, comme comparaison, les résultats pour l'indice lipidique (tirés des tableaux 14 et 19).

Comme pour les relations longueur/poids, l'inclusion d'une ordonnée à l'origine dans la relation entre le poids des perchaudes et le poids des lipides viscéraux change l'ordre par rapport aux résultats obtenus pour l'indice lipidique. Les changements sont moins importants au printemps avec seulement les résultats pour les lacs Opasatica et Osisko qui échangent leur place. En été par contre, les résultats changent pour tous les lacs, sauf Osisko. Ceci dit, l'analyse ANCOVA n'a identifié aucune différence significative entre les relations, malgré des différences importantes dans les relations calculées (ex : différence entre Osisko et Bousquet l'été).

Un autre constat est que la moitié des relations ont des ordonnées à l'origine négatives. D'un point de vue physiologique, ceci est une impossibilité car les perchaudes auront toujours un minimum de mésentères, même si aucun lipide n'est actuellement emmagasiné. Forcer les relations par une ordonnée à l'origine prédéterminée n'est pas une solution car ceci invaliderait le calcul des pentes. Dans mon opinion le caractère aléatoire et non-linéaire de l'accumulation des lipides viscéraux ne se prête pas à l'analyse par ANCOVA. Malgré leurs défauts, l'utilisation de ratios demeure une approche préférable.

Tableau 23 : Résultat des analyses de covariance entre le poids des lipides viscéraux et le poids des perchaudes. Des analyses indépendantes ont été faites pour saison. Pour chaque saison, des lettres différentes dans la colonne Sig indiquent des différences significatives parmi les lacs. Les ordonnées à l'origine et les pentes, avec leurs erreurs type (ET) sont présentés. Les valeurs pour l'indice lipidique sont aussi présentées comme comparaison avec les résultats de la synthèse. N= 30 pour chaque lac, sauf Bousquet au printemps où n = 25.

Année	Saison	Région	Lac	Ordonnée	ET	Pente	ET	Sig.	Ind. Lip.	Sig
2006	Ptmp.	Rouyn	Dasserat	33.487	21.5407	8.328	1.2144	A	1.09	A
2006	Ptmp.	Rouyn	Opasatica	15.154	23.4491	2.556	2.6725	A	0.50	C
2006	Ptmp.	Rouyn	Bousquet	17.047	23.4012	6.613	1.8077	A	0.83	AB
2006	Ptmp.	Rouyn	Osisko	-19.157	23.3581	7.041	1.2667	A	0.56	BC
2006	Ptmp.	Rouyn	Dufault	21.429	31.1579	6.671	2.3176	A	0.86	A
2006	Été	Rouyn	Dasserat	-14.527	20.4931	8.459	1.7833	A	0.53	BC
2006	Été	Rouyn	Opasatica	-25.584	30.3534	8.759	3.2419	A	0.52	C
2006	Été	Rouyn	Bousquet	-41.565	28.9742	11.039	2.9024	A	0.58	BC
2006	Été	Rouyn	Osisko	102.002	26.3598	6.54	1.6969	A	1.31	A
2006	Été	Rouyn	Dufault	-36.40	36.4004	10.28	2.2198	A	0.80	B