

# Les transferts du mercure bioaccumulé dans les carcasses de poisson vers les organismes aquatiques et vers les invertébrés terrestres nécrophages

José Sarica

Thèse présentée pour l'obtention du grade  
Philosophiae doctor (Ph.D)  
en sciences de l'eau et de l'environnement

Octobre 2004

Jury d'évaluation

Examineur externe :	Dr. Jules Blais, Université d'Ottawa
Examineur externe :	Dr. Gilbert Cabana, UQTR
Examineur interne :	Dr. Charles Gobeil, INRS-ETE
Co-directeur de recherche :	Dr. Landis Hare, INRS-ETE
Directeur de recherche :	Dr. Marc Amyot, Université de Montréal



« Les mouches bourdonnaient sur ce ventre putride,  
D'où sortaient de noirs bataillons  
De larves, qui coulaient comme un épais liquide  
Le long de ces vivants haillons ».

Charles Baudelaire, Les Fleurs du Mal.

« Le pourrissement du cadavre a commencé. L'admirable travail de l'embaumeuse n'aura duré que ce que durent les roses. Voilà que la peau part en lambeaux, que la chair se ride, que le pigment n'est plus qu'un souvenir. Voici que les asticots prospèrent, que la vermine accourt pour se nourrir de ma viande en décomposition, que les larves s'extirpent de mes orbites creusées. Voilà que les os deviennent friables, qu'ils se détachent du squelette, se brisent en chutant, qu'ils forment un tas de détritrus, ou de cendres. [...] C'est un autre spectacle qui se joue. Il y a encore une vie après la mort, celle des charognards. »

Philippe Besson, Un Garçon d'Italie.



*Encore une fois pour Francis.  
Plus que jamais.*

« On peut croire ce que l'on veut,  
On peut s'accrocher aux fontaines de certitudes pour se protéger à des idées fossilisées,  
Par l'habitude on peut emprunter toujours des voies bien balisées,  
Et puis soudain changer d'avis : improviser le chemin, improviser le chemin... »

Jérôme Minière, Arpenter



# Avant-propos

---

Cette thèse « par articles » comporte d'abord une synthèse qui fait état de la problématique et de la pertinence de cette recherche doctorale tout comme elle décrit les principaux résultats obtenus et discute de leurs implications. Trois articles soumis dans des revues avec comité de lecture (dont un est publié et deux sous presse) viennent ensuite appuyer la synthèse. Mentionnons que des ajouts suite aux commentaires des membres du jury après lecture du document lors du dépôt initial ont été insérés dans le texte et que par conséquent, le contenu de certains articles présentés dans ce document final peut légèrement différer de celui retrouvé dans les articles originaux.

La contribution des auteurs des articles aux divers projets de recherche s'établit comme suit :

1. Sarica J., Amyot M., Hare L., Blanchfield P., Bodaly D., Hintelmann H. et Lucotte M. 2004. Transfer of mercury from fish to scavenging invertebrates in boreal lakes: the use of stable isotopes of mercury. *Environmental Pollution*. (Sous presse)
2. Sarica J., Amyot M., Hare L., Doyon M.R. et Stanfield L.W. 2004. Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream. *Limnology and Oceanography*. 49(4), 891-899.
3. Sarica J., Bey J., Amyot M. et Hare L. 2004. The fate of mercury in Calliphoridae larvae feeding on fish carcasses. *Environmental Toxicology and Chemistry*. (Sous presse)

**José Sarica** : Conception, réalisation des projets (échantillonnage, analyses, traitement des données) et rédaction des articles;

**Marc Amyot** : Conception des projets, contribution aux traitements des données et rédaction finale des articles;

**Landis Hare** : Conception des projets, contribution aux traitements des données et à la

rédaction des articles;

**Paul Blanchfield:** Conception du projet et contribution à la rédaction de l'article;

**Drew Bodaly:** Conception du projet et contribution à la rédaction de l'article;

**Holger Hintelmann :** Conception du projet et contribution aux analyses du mercure isotopique en excès ainsi qu'à la rédaction de l'article;

**Marc Lucotte :** Conception du projet et contribution à la rédaction de l'article;

**Marie-Renée Doyon :** Conception du projet et contribution aux analyses du mercure total ainsi qu'à la rédaction de l'article;

**Les William Stanfield :** Conception du projet ainsi qu'à la rédaction de l'article;

**Julien Bey :** Conception du projet et contribution aux analyses du mercure total ainsi qu'à la rédaction de l'article.



# Remerciements

---

Quand on parvient à cette étape du doctorat, celle des remerciements, on sent à quel point une nouvelle page se tourne. Je comparerai ces trois années à un marathon et sur ce parcours, plusieurs personnes m'ont fortement encouragé et soutenu. Les remerciements qui suivent découlent aussi facilement que le jus d'un fruit bien mûr.

Tout d'abord, je tiens à remercier bien chaleureusement M. Marc Amyot et M. Landis Hare, respectivement directeur et co-directeur de recherche, pour leurs judicieux conseils toujours formulés avec une grande diplomatie ainsi que leurs encouragements lors des missions de terrain et durant la rédaction de ce document. Marc, j'ai énormément appris avec toi au cours de ces cinq années, sur tous les plans et j'en ressors grandi. Cinq années rythmées par des discussions, des remises en question, des tensions et des moments de répit: nous avons appris à nous connaître, non sans mal, mais sache que l'image que je garde de toi est celle d'un homme emprunt d'une grande intelligence mais surtout d'une belle humanité : merci de m'avoir fait confiance. Landis, merci pour tous nos échanges, sur le plan scientifique certes, mais surtout sur le plan humain. Quelle chance d'avoir pu côtoyer votre Sagesse : l'image que je conserve précieusement de vous est celle de nos rencontres matinales autour d'un bon café au cours desquelles nous parlions de nos résultats pour aboutir à nos vies. Vous représentez pour moi un modèle à suivre dans le domaine des sciences puisque vous conjuguez à merveille l'Excellence et l'Humilité. Je pense qu'à l'avenir chacun de mes messages sera suivi d'une citation de Gandhi...

Je souhaite également remercier M. Jules Blais (examineur externe), M. Gilbert Cabana (examineur externe) et M. Charles Gobeil (examineur interne) pour avoir accepté de figurer parmi les membres du jury.

L'aide précieuse de plusieurs personnes lors des échantillonnages, des analyses en laboratoire et lors de la rédaction de ce document ont permis d'aboutir à ce travail; ainsi, je

remercie : Marie-Renée Doyon, Pierre Marcoux, Jérôme Laroulandie, Xavier de Rouvroi de Saint-Simon, Alexandre Poulain, Jord Orvoine, Anne Gosselin, Bonnie Anderson et ses élèves, Les Stanfield, Julien Bey, Jane Orihel, Paul Blanchfield, Ken Sandilands, Danielle Godard, Sheryl Podemski, Dolores Planas, Édénise Garcia, Valérie Girard, David Lean, Jonathan Holmes, Holger Hintelmann, Michelle G. Bordeleau, Pauline Fournier, Sylvie Saint-Pierre, Sébastien Duval, Philippe Cantin, Céline Gallon et Martin Daigneault.

Comment passer sous silence tous mes amis qui ont été si présents lors de cette formation. Merci à mes amis rencontrés à l'INRS: je pense plus particulièrement à toi Alexandre: que de bons moments nous avons eu; tous les deux français, tous les deux en congrès, toujours à se soutenir et à nous épauler : ce fut un plaisir immense de travailler avec toi et de te voir évoluer. Merci à Corinne, Bryan, Laurence, Gaétan, Pierre, Yves, Sandrine, Alain, Zachary, Marie-Noële, Michel, Louisa, René, Manon, André, Diane et Norbert. Plus particulièrement, merci Brillant pour ta grande générosité et pour m'avoir permis de rédiger une partie de mon document dans des conditions optimales. Corinne, sans vous, le rêve n'aurait pas eu lieu et je tiens à vous dire merci pour avoir cru en moi.

Ma Famille... Merci maman, merci papa pour avoir toujours été présents, pour m'avoir soutenu, pour votre Amour tout simplement. La fierté que je vois dans vos yeux quand il s'agit de vos enfants est une source infinie de réconfort. Jordan, mon complice, mon frère, mon jumeau: qui sait mieux que toi ce que je ressens au moment où la page se tourne puisque tu as récemment terminé ton doctorat: merci pour ta présence au quotidien qui défrayait facilement l'espace et le temps: l'Atlantique n'était pas une barrière pour toi et tu me l'as démontré plus d'une fois, merci. Nathalie, ma grande sœur, toujours présente, toujours fière, toujours prête à intervenir et à me défendre dans les périodes de doute: merci. Marina, Catherine et Mathilde: toutes les trois si différentes mais si complémentaires pour moi; vous êtes les sœurs que chaque frère souhaiterait avoir; je me considère très privilégié de partager vos vies: merci d'avoir cru en moi et d'avoir été si présentes. Enfin, mes nièces et neveux, Charline, Camille, Baptiste, Justine, Jules, Anatole, Louis et Félix : vos sourires d'enfants sont à jamais l'endroit où je viens puiser mes plus grandes forces.

Enfin, je tiens à remercier bien spécialement M. Francis Boudreau pour son aide au quotidien, sa Gentillesse, sa Générosité, ses nombreux conseils ainsi que sa grande Disponibilité lors de la rédaction de ce document mais surtout pour la place si particulière qu'il occupe dans ma vie. Francis, tu es un être de lumière et c'est le plus beau cadeau de la vie que de te côtoyer. Je te dédie ce doctorat sans l'ombre d'un doute car, dans cette formation, tu es le pilier central.

Je vous suis, à toutes et à tous, extrêmement reconnaissant.

Ce doctorat a été financé par le CRSNG et le FCAR de M. Marc Amyot. Une bourse, délivrée par DFO, a permis de réaliser le projet se déroulant à la station de recherche de ELA.



# Résumé

---

On a longtemps pris pour acquis que les poissons étaient le dernier maillon du réseau trophique aquatique. Or les nécrophages se nourrissant des carcasses de poisson et les prédateurs naturels de ces nécrophages se situent encore plus hauts dans la chaîne alimentaire. Il est établi que le rôle des organismes nécrophages est fondamental dans le fonctionnement des écosystèmes puisqu'il permet le recyclage d'énergie. Par contre, aucune étude ne s'est encore intéressée aux transferts de contaminants, dont le mercure (Hg), à un tel niveau trophique.

L'objectif principal de cette recherche consiste, par conséquent, à mesurer les transferts de Hg bioaccumulé dans les carcasses de poisson vers les invertébrés aquatiques et terrestres nécrophages. Pour y répondre, nous avons considéré deux cas contrastés de mortalité naturelle: (1) la mortalité naturelle annuelle non liée à la prédation des poissons dans les lacs; (2) la mortalité naturelle annuelle du saumon Quinнат après le frai au sein d'une rivière ontarienne.

Lors d'une expérience préliminaire menée au sein d'un lac boréal (lac Laflamme, Québec, Canada), au cours de laquelle des poissons morts avaient été placés en zone littorale, nous avons observé que les sangsues étaient fortement attirées par les carcasses en décomposition et augmentaient leurs concentrations de Hg en fonction du temps d'exposition aux poissons morts. Afin de démontrer que de tels transferts de Hg entre les carcasses de poisson et les organismes nécrophages (i.e., sangsues) existaient, nous avons profité de l'avantage unique qu'offre le projet METAALICUS (Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loadings in Canada and the United States), conduit à la station de recherche de ELA (Experimental Lakes Area, Ontario), en nourrissant des sangsues avec des perchaudes enrichies *in situ* aux isotopes stables de Hg ( $^{202}\text{Hg}$ ) au sein d'aquarium, en laboratoire. Ces perchaudes enrichies en  $^{202}\text{Hg}$  ont été également placées dans la zone littorale d'un lac boréal

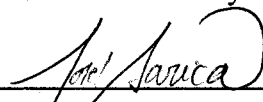
dans lequel aucun ajout de Hg<sup>202</sup> n'avait été effectué (lac 240). En laboratoire, nos résultats ont démontré clairement que les sangsues accumulaient efficacement et rapidement une quantité significative de Hg des carcasses de poisson et que leurs signatures isotopiques atteignaient celles des perchaudes en moins de deux semaines. En nature, de tels transferts ont également été mesurés mais à des niveaux moins élevés étant donné le plus grand nombre de sangsues interagissant avec les carcasses. Par conséquent, le fait de ne pas visualiser de carcasses de poisson en nature serait expliqué par la vitesse rapide à laquelle les nécrophages décomposent ces dernières. Nous concluons, par conséquent, que les organismes nécrophages comme les sangsues peuvent retourner le Hg des carcasses de poisson vers les chaînes trophiques lacustres et que ce recyclage de Hg dépend de la structure des communautés d'organismes nécrophages spécifique aux lacs.

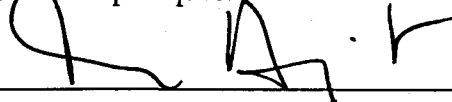
En rivière, nous avons validé l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Hg et de nutriments (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P, COD) au sein de composantes biotiques (invertébrés aquatiques et terrestres) et abiotiques (eau, sédiment) du système étaient altérées par la décomposition des carcasses de saumon après le frai. Nous avons échantillonné durant deux années consécutives (2000 et 2001) au sein d'une frayère ontarienne, tributaire du Lac Ontario, qui reçoit chaque année 20 000 saumons Quinnet (*Oncorhynchus tshawytscha*). Ces deux années contrastent par la présence exceptionnelle en 2001 d'un ours qui a prélevé toutes les carcasses à une station aval de la frayère. Nos résultats ont démontré que les stations d'échantillonnage, où les densités de carcasses étaient les plus élevées, présentaient des concentrations aqueuses de Hg total, MeHg, Hg total particulaire et de nutriments plus élevées que les stations où les densités de carcasses étaient les plus faibles. Les concentrations de Hg mesurées dans les invertébrés aquatiques et terrestres se nourrissant des carcasses de saumon ont augmenté jusqu'à 25 fois. En 2001, suite au prélèvement des carcasses par l'ours en aval, aucune augmentation dans les concentrations aqueuses de Hg et de nutriments n'a été mesurée à ce site contrairement à celles mesurées au même endroit un an auparavant sans la présence de l'ours. Un budget préliminaire au sein de la frayère montre que: 1) les carcasses de saumon représentent une source importante de Hg et de nutriments pour les réseaux trophiques aquatiques et terrestres et que 2) les invertébrés et vertébrés

terrestres peuvent être d'importants vecteurs de Hg du milieu aquatique vers le milieu terrestre.

Après le frai du saumon Quinnet, un tiers des carcasses sont retrouvées échouées sur les rives de la frayère et ces dernières sont rapidement colonisées par les diptères calliphoridés femelles venant y pondre leurs œufs (cf. encadré 3). Nous avons placé des carcasses poisson au bord d'un lac (lac Le-Petit, Québec, Canada) et attendu que ces dernières soient colonisées par les femelles calliphoridés. Au cours de l'expérience *in situ*, nous avons prélevé les stades calliphoridés suivants: les femelles adultes venant pondre leurs œufs dans les carcasses, les œufs de calliphoridés, les larves de calliphoridés séparées en deux classe de taille (i.e, inférieure ou supérieure à 1 cm de longueur), les prépupes, les pupes et les nouveaux adultes émergés. Nous avons, pour chacun de ces stades, mesuré les concentrations de Hg total et de MeHg. Nos résultats indiquent clairement que les larves accumulent rapidement le Hg provenant des carcasses dont elles se nourrissent jusqu'au stade pupal. Après leur émergence, jusqu'à 90% des teneurs en Hg sont excrétées par les nouveaux adultes *via* le meconium. Nous concluons que les calliphoridés possèdent un mécanisme efficace d'excrétion du Hg inorganique et organique qu'elles ont accumulé à partir des carcasses de poisson. Le devenir de ce Hg excrété dans l'environnement n'est pas encore connu.

Cette recherche doctorale est la première à s'intéresser au devenir du méthylmercure lors de la mortalité naturelle des poissons non liée à la prédation et à considérer la nécrophagie comme une voie importante dans le recyclage de ce composé organométallique en terme d'accroissement de concentrations car l'ajout d'un maillon dans la chaîne trophique pour cet élément peut résulter en une augmentation dans ses concentrations par bioamplification. Davantage d'études sont nécessaires pour clairement démontrer les risques toxicologiques reliés à cette voie de recyclage au sein des systèmes aquatiques.

  
Étudiant: José Sarica, INRS-ETE

  
Directeur: Marc Amyot, Université de Montréal





# Table des matières

---

Avant-propos.....	vii
Remerciements.....	ix
Résumé.....	xiii
Table des matières.....	xvii
Liste des figures.....	xviii
Liste des encadrés.....	xix
Chapitre 1 : Synthèse.....	1
1. Introduction.....	3
1.1 Origines, transport et accumulation du Hg.....	3
2. Problématique.....	10
3. Objectifs et intérêts de cette recherche.....	12
4. Rappels du modèle cinétique.....	14
5. Méthodes et analyses.....	15
5.1 Échantillonnage en milieu lacustre (chapitre 2).....	18
5.1.1 Prise en charge du <sup>202</sup> Hg par les sangsues et le biofilm et perte du <sup>202</sup> Hg par les sangsues: expériences en laboratoire.....	18
5.1.1.1 Prise en charge du <sup>202</sup> Hg par les sangsues et le biofilm: expérience 1.....	20
5.1.1.2 Taux de perte du <sup>202</sup> Hg par les sangsues: expérience 2.....	20
5.1.2 Accumulation du <sup>202</sup> Hg par les sangsues et le biofilm : expérience <i>in situ</i> .....	21
5.1.3 Méthode de détermination et calculs des sources de <sup>202</sup> Hg.....	22
5.2 Échantillonnage lors de la mortalité massive du saumon Quinнат au sein d'une frayère ontarienne (chapitre 3).....	23
5.3 Échantillonnage lors de l'étude portant sur l'accumulation et la perte du Hg chez les larves calliphoridés (chapitre 4).....	25
5.4 Statistiques.....	25
6. Intégration des résultats et discussion.....	27
6.1 Les transferts de mercure des carcasses de poisson vers les nécrophages dans des lacs boréaux: l'utilisation des isotopes stables de mercure.....	27
6.2 Libération du mercure et des nutriments lors de la décomposition des carcasses de saumon au sein d'une frayère bordant le lac Ontario.....	31
6.3 Le devenir du mercure accumulé par les larves calliphoridés se nourrissant des carcasses de poisson.....	33
6.4 Conclusion.....	34
7. Bibliographie.....	37
Chapitre 2 : Mercury transfer from fish carcasses to scavengers in boreal lakes: the use of stable isotopes of mercury (article 1).....	49

Chapitre 3 : Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream (article 2).....	79
Chapitre 4: The fate of mercury by blowflies feeding on fish carcasses (article 3).....	111

## Liste des figures

---

<b>Figure 1.1</b> Profil historique de la concentration de Hg total (ng/L) enregistré dans deux carottes d'une longueur de 29 m issues du glacier supérieur Fremont culminant à une altitude de 4 189 m. Le taux de déposition est de 90 cm de glace pour un an. L'erreur dans la prédiction chronologique est de $\pm 10$ ans. Issu et adapté de Schuster <i>et al.</i> , 2002.....	4
<b>Figure 1.2</b> Cycle biogéochimique du MeHg en milieu lacustre.....	6
<b>Figure 1.3</b> Microcosme mesurant le recyclage du mercure lors de la décomposition d'une carcasse de poisson (issu de Bloom et Kuhn, 1996).....	10
<b>Figure 1.4</b> Représentation schématique d'un piège à sangsues placé dans la zone littorale du lac 240 à ELA.....	20
<b>Figure 1.5</b> Photographie du laboratoire installé à ELA représentant les aquariums numérotés de 1 à 6.....	20
<b>Figure 1.6</b> (A) Carte bathymétrique du lac 240 indiquant l'emplacement des boîtes d'échantillonnage dans la zone littorale et (B) schéma d'une boîte d'échantillonnage (vue latérale) contenant les carcasses de perchaude.....	22
<b>Figure 1.7</b> Chromatogramme issu de l'ICP/MS pour un échantillon de sédiment incubé avec du $^{199}\text{Hg}$ inorganique montrant une augmentation dans le signal de $^{199}\text{Hg}$ . Issu de Hintelmann et Ogrinc (2003).....	23
<b>Figure 1.8</b> Photographies de carcasses de perchaude après un séjour de 1.5 jours dans la zone littorale du lac 240.....	30

# Liste des encadrés

---

<b>Encadré 1 :</b> Les causes de mortalité de poissons non liée à la prédation.....	9
<b>Encadré 2 :</b> Recyclage du MeHg accumulé dans les poissons morts au sein des systèmes aquatiques.....	13
<b>Encadré 3 :</b> METAALICUS (Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loadings in Canada and the United States).....	19
<b>Encadré 4:</b> Cycle de vie des diptères calliphoridés et description du développement postembryonnaire.....	26



# Chapitre 1 : Synthèse

---



# 1. Introduction

---

Depuis l'aube de la préhistoire, les métaux ont fait l'objet de la convoitise des hommes. Recherchés pour une large part à des fins utilitaires ou comme source de richesse, ils l'ont également été pour leurs propriétés, celles-ci moins nobles, de toxicité. A ce titre, celle du mercure (Hg) est connue depuis fort longtemps. Il apparaît même, selon des cycles alternant vrais-faux, que la mort de Napoléon, d'Ivan le Terrible et de Charles II d'Angleterre, serait attribuée à l'intoxication au Hg (Sorensen, 1991). Dans le cas de Napoléon, l'hypothèse d'un empoisonnement à l'arsenic est aussi retenue. Plus récemment, la catastrophe de la baie de Minamata au Japon a illustré les conséquences dramatiques sur la santé humaine de rejets irréflechis dans la mer d'effluents industriels riches en méthylmercure (MeHg). Ces rejets, provenant de l'usine Chisso Chemicals (fabriquant de l'acétaldéhyde), ont causé la mort de 48 personnes et provoqué l'invalidité de 2 952 individus (Takizawa, 2000). Ils ont, par ailleurs, entraîné une augmentation des concentrations de MeHg dans les mollusques, les crustacés et les poissons à la base du régime alimentaire des habitants de la baie (Kurland *et al.*, 1960, revu dans D'Itra et D'Itra, 1977; Takizawa, 2000 ).

Une forme de Hg organique, le MeHg, augmente par bioamplification tout au long de la chaîne alimentaire aquatique. Les concentrations chez les poissons piscivores, situés au sommet de celle-ci, se trouvent donc parfois très élevées. D'ailleurs, la consommation de poissons constitue la principale source de contamination au Hg pour l'homme (Clarkson, 1990). On reconnaît que le MeHg agit comme une neurotoxine pouvant entraîner des troubles nerveux variés, sensoriels, moteurs et psychiques chez les humains et les animaux à régime piscivore (Clarkson, 1990). Sur le plan de la santé, le MeHg est une « espèce » chimique qui présente un risque réel de toxicité pour l'Homme.

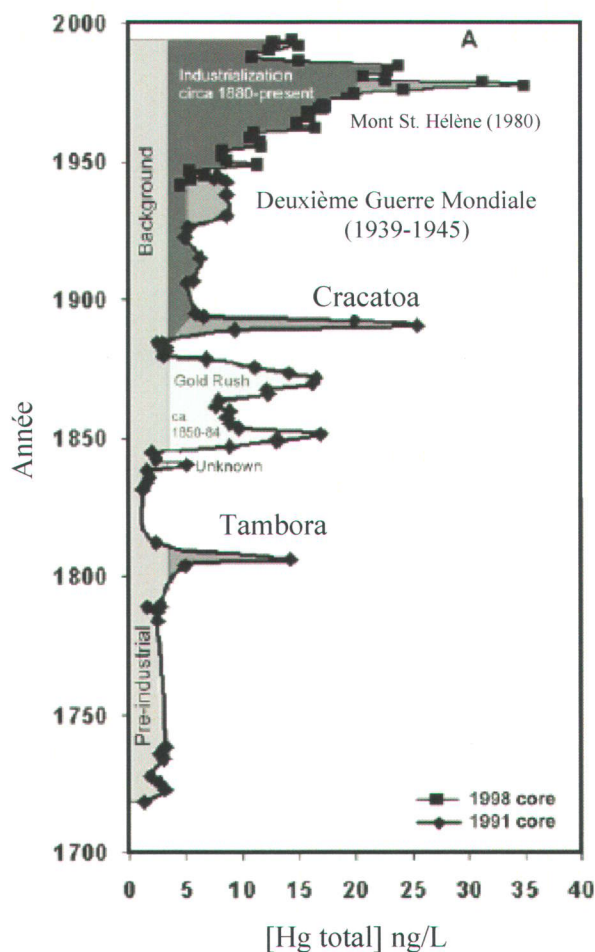
## 1.1 Origines, transport et accumulation du Hg

Le Hg, émis dans l'atmosphère, provient de sources naturelle et anthropique (Mason *et al.*, 1994; Hudson *et al.*, 1994; Morel *et al.*, 1998; Ullrich *et al.*, 2001; Schuster *et al.*, 2002, Seigneur *et al.*, 2004). Les sources atmosphériques naturelles de Hg incluent le dégazage de la croûte terrestre, les éruptions volcaniques, les incendies de forêts ainsi que le dégazage des

eaux de surface (Rasmussen, 1994; Seigneur *et al.*, 2004). Les sources d'origine humaine, quant à elles, incluent principalement les services électriques, l'incinération des déchets, les centrales à combustion au charbon et les usines de chlore-alkali (Schuster *et al.*, 2002). En Amérique du Nord, ces quatre sources représentent, respectivement, 26%, 16%, 6% et 3% des émissions anthropiques totales sur ce continent (Seigneur *et al.*, 2004).

Les analyses de Hg total dans des carottes glacières issues du glacier supérieur Fremont (Wyoming, U.S.A.), ont permis d'enregistrer l'historique des accumulations de Hg atmosphérique à l'échelle régionale, au cours des 270 dernières années (figure 1.1). Ces enregistrements confirment que les sources atmosphériques de Hg sont d'origines naturelle et anthropique. En 270 années, les sources d'origine anthropique ont contribué pour 52% des apports totaux de Hg atmosphérique. Parmi les événements les plus marquants, on note l'exploitation minière dans le contexte de la ruée vers l'or (« Gold rush ») dans l'Ouest des Etats-Unis au cours des années 1850, suivie des activités de l'ère industrielle au tournant du XX<sup>e</sup> siècle (1900-1970) incluant les apports de Hg lors de la fabrication de machineries lourdes durant la Deuxième Guerre Mondiale (figure 1.1).

Les éruptions volcaniques (incluant celles du Tambora en 1815, du Cracatoa en 1883 et du Mont St-Hélène en 1980; figure 1.1), ne constituent que 6% des apports totaux de Hg atmosphérique au cours de ces 270 dernières années. La balance (42%) est attribuée aux autres sources naturelles de Hg mentionnées précédemment (figure 1.1). Ainsi, les deux sources



**Figure 1.1** Profil historique de la concentration de Hg total (ng/L) enregistré dans deux carottes d'une longueur de 29 m issues du glacier supérieur Fremont culminant à une altitude de 4 189 m. Le taux de déposition est de 90 cm de glace pour un an. L'erreur dans la prédiction chronologique est de  $\pm 10$  ans. Issu et adapté de Schuster *et al.*, 2002.



atmosphériques de Hg d'origines anthropique et naturelle semblent équivalentes. Ces dix dernières années, une tendance à la baisse est observée dans les apports de Hg atmosphérique de nature anthropique (figure 1.1). Afin de comprendre comment des régions éloignées de sources ponctuelles de Hg puissent être contaminées en Hg, un rappel succinct de la chimie de ce métal dans l'atmosphère s'impose.

Dans la mythologie romaine, Mercure, le messager des dieux, pouvait se déplacer dans les airs sur de grandes distances au moyen d'ailes à la base de ses pieds. Un lien allégorique peut être établi entre ce mythe et le métal, puisque le Hg présente également la faculté d'être « un grand voyageur » dans l'atmosphère. En effet, 95% du mercure atmosphérique est sous forme de mercure élémentaire  $\text{Hg}^0$ , forme volatile réduite du Hg. (Morel *et al.*, 1998; Mason et Sheu, 2002). Sa réoxydation très lente en  $\text{Hg(II)}$  et sa faible solubilité dans l'eau font de  $\text{Hg}^0$ , une espèce chimique pouvant voyager dans l'atmosphère au moins deux ans et, par conséquent, être répartie sur l'ensemble du globe (Mason et Sheu, 2002). Les précipitations humides (pluie, neige) ou sèches (particules d'aérosols) le déposent aussi bien dans les milieux terrestres (57%) que dans les milieux aquatiques (43%; Mason et Sheu, 2002). Ainsi, depuis la révolution industrielle, l'enrichissement en Hg des couches superficielles de sédiments lacustres suggère que le dépôt atmosphérique de Hg a augmenté d'un facteur trois à cinq (Rada *et al.*, 1989; Swain *et al.*, 1992), quoique dans certains cas, ces enrichissements peuvent résulter de processus diagénétiques (Gobeil *et al.*, 1999).

Dans les systèmes aquatiques d'eau douce, la chimie du Hg est très complexe. Rappelons, que le MeHg est l'espèce organique du Hg qui présente un danger réel de toxicité pour les animaux à régime piscivore dont l'Homme. Par conséquent, nous allons nous intéresser aux sources de MeHg au sein des lacs (figure 1.2). Une faible quantité de MeHg se retrouve dans l'atmosphère (0-5% du Hg total est du MeHg, qui peut augmenter avec l'altitude; Lindqvist, 1991) et, pour cette raison, peu de MeHg est amené aux lacs par précipitations (St. Louis *et al.*, 1995) et par les eaux de ruissellement. Cela suggère qu'un ou plusieurs mécanismes internes aux lacs sont responsables de la formation *in situ* du MeHg.

Tout d'abord, en milieu aquatique, les formes de Hg dans l'état d'oxydation II,  $\text{Hg(II)}$ , déposées par les précipitations sèches et humides (figure 1.2), tendent à s'adsorber aux particules en suspension inorganiques et organiques (phytoplancton, bactéries, algues, débris

organiques) ainsi qu'au carbone organique dissous (COD constitué entre 50% et 90% de substances humiques dans les eaux naturelles; Morel *et al.*, 1998). Ces complexes de mercure

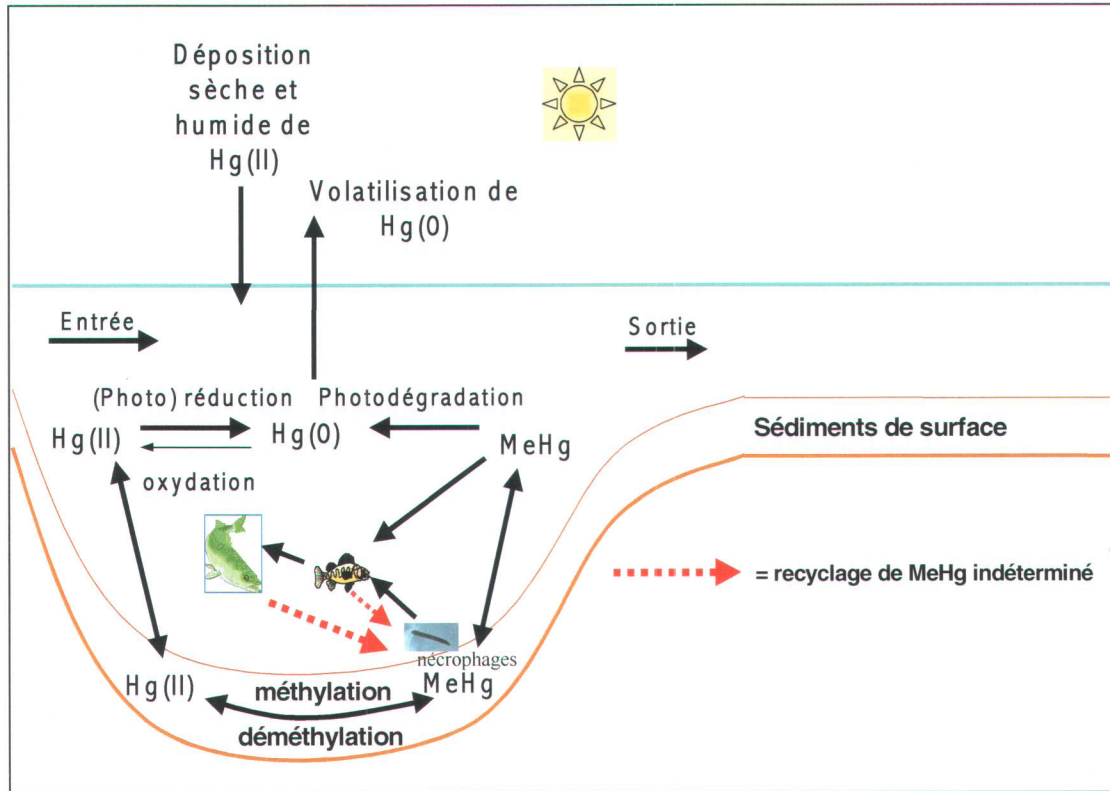


Figure 1.2 Cycle biogéochimique du MeHg en milieu lacustre.

vont sédimenter, en partie, au fond des lacs où, dépendant de leur biodisponibilité, ils vont pouvoir être méthylés. Il semble désormais établi que la source majeure de MeHg dans les systèmes aquatiques provient de la méthylation bactérienne (plus spécifiquement des bactéries sulfatoréductrices) du Hg inorganique dans les sédiments anoxiques superficiels avec comme donneur environnemental de groupements méthyl, le méthylcobalamine (Gilmour et Henry, 1991; Ullrich *et al.*, 2001; figure 1.2). D'autres sources mineures de biométhylation peuvent avoir lieu dans d'autres compartiments environnementaux (périphyton et matière en suspension dans l'eau, tractus intestinaux; Ullrich *et al.*, 2001). La méthylation abiotique (purement chimique : photométhylation), quant à elle, semble avoir une importance mineure (Ullrich *et al.*, 2001), bien que son influence puisse augmenter dans les lacs où la concentration en matière organique est élevée pouvant ainsi représenter jusqu'à 35% des intrants de MeHg (Lean et Siciliano, 2003).

La biométhylation du Hg inorganique dans les eaux et dans les sédiments en conditions anaérobiques constitue donc une étape clé dans le cycle du Hg au sein des systèmes aquatiques. Le rôle de la matière organique dans la méthylation du Hg n'est pas encore bien connu. Lors du processus de méthylation, les bactéries utilisent la matière organique comme source d'énergie laquelle est reconnue pour être un important vecteur contrôlant la mobilité et le transport du Hg dans les systèmes aquatiques (Warren *et al.*, 1964; Grieb *et al.*, 1990; Spry et Wiener, 1991). Les sulfates sont particulièrement importants puisqu'ils vont stimuler, à faible concentration, la méthylation bactérienne du Hg (Craig et Bartlett, 1978; Gavis et Fergusson, 1972; Compeau et Bartha, 1983, 1987; Gilmour et Henry, 1991). Les concentrations de MeHg dans les sédiments peuvent également être influencées par le cycle rédox des oxydes de fer et de manganèse lesquels contrôlent en partie les concentrations de Hg dissous dans les eaux interstitielles ce qui va influencer la biodisponibilité du Hg (Gobeil et Cossa, 1993; Gagnon *et al.*, 1997).

Non seulement les bactéries ont la capacité de méthyler le Hg inorganique disponible (le produit final de la méthylation serait le diméthylmercure, DmeHg, forme volatile de Hg organique) mais, elles peuvent également déméthyliser le MeHg (le produit final de la déméthylation serait  $\text{Hg}^0$ , forme volatile de Hg inorganique; Gilmour et Henry, 1991). Cette déméthylation semble être un processus de détoxification induit et régulé par le *mer* opéron, situé sur le plasmide bactérien, quand les concentrations de MeHg excèdent 50 pM (Morel *et al.*, 1998; Ullrich *et al.*, 2001). La déméthylation abiotique (photodégradation par les ultraviolets) peut également se produire et être importante dans les eaux oxygénées épilimnétiques (Sellers *et al.*, 1997; figure 1.2).

Les taux de méthylation et de déméthylation du Hg dans les systèmes aquatiques sont clairement influencés tous deux par la spéciation et la disponibilité biochimique du Hg inorganique ainsi que par un grand nombre de variables environnementales, dont plusieurs sont interreliées. Les variables suivantes ont toutes des effets significatifs sur le taux net de production de MeHg : l'activité biologique (i.e, capacité des organismes à méthyler et/ou à réduire le  $\text{Hg}^{2+}$ ; Summers et Silver, 1978; Robinson et Tuovinen, 1984); la disponibilité des nutriments (Jernelöv, 1970; Wright et Hamilton, 1982); le pH (Gilmour et Henry, 1991); la température (Winfrey et Rudd, 1990; Watras *et al.*, 1995); le potentiel rédox (Olson *et al.*, 1978; Compeau et Bartha, 1984) et la présence de ligands inorganiques ou organiques (Matilainen *et al.*, 1991; Driscoll *et al.*, 1994). L'importance relative d'une variable par

rapport à une autre varie dans l'espace et dans le temps. Cependant, il semble que la formation de MeHg est prépondérante dans des conditions anaérobiques alors que les conditions aérobiques favorisent les processus de déméthylation. Le MeHg, une fois formé à l'interface sédiment/eau, peut être soit transporté dans la colonne d'eau par diffusion et advection (Morel *et al.*, 1998), où, de part sa nature hydrophobe, il va se lier facilement aux particules organiques en suspension dans l'eau (plancton, périphyton, bactéries), soit être pris en charge par les organismes benthiques vivant à l'interface sédiment/eau.

Le MeHg, comparé aux autres formes inorganiques de Hg, est très sujet à la bioaccumulation (Clarkson, 1976; Hare, 1992; Porcella, 1994; Morel *et al.*, 1998; Ullrich *et al.*, 2001). Ce phénomène est lié à la propriété que possède les complexes neutres de MeHg de traverser facilement les membranes cellulaires, de se lier fortement aux groupements thiols des protéines dans le cytoplasme des cellules et de ne s'éliminer que très lentement (Clarkson, 1976; Mason *et al.*, 1996; Morel *et al.*, 1998; Ullrich *et al.*, 2001; Tsui et Wang, 2004; Twining et Fisher, 2004). Par conséquent, la concentration en MeHg augmente à chaque niveau trophique de la chaîne alimentaire aquatique (phénomène de bioamplification) et atteint les concentrations les plus élevées chez les vertébrés piscivores. Watras et Bloom (1992) évaluent que le MeHg représente 10% du Hg total dans l'eau, 15% dans le phytoplancton, 30% dans le zooplancton et 95% dans la chair des poissons.

Le rôle significatif des poissons dans les budgets de contaminants organiques est souvent omis des modèles soit, parce que les données nécessaires (e.g., concentrations, biomasses) sont non disponibles soit, parce que l'influence des poissons sur les budgets et les flux est considérée comme négligeable (Mackenzie *et al.*, 2004). Cependant, parce que les poissons occupent les niveaux supérieurs des réseaux trophiques et peuvent présenter de longues durées de vie, ils présentent habituellement les concentrations élevées de contaminants organiques comparés aux organismes des niveaux trophiques inférieurs. En se basant sur une approche de bilan de masse, des études concluent que la majeure partie (jusqu'à 70%) du MeHg total présent dans la colonne d'eau d'un lac se retrouve dans les poissons (Meili, 1991; Porcella, 1994; Watras *et al.*, 1994). S'il existe de nombreuses études sur les mécanismes d'accumulation du MeHg dans les poissons, pratiquement aucune ne s'est interrogée sur le devenir de ce MeHg lors de la mortalité non liée à la prédation des poissons dans les systèmes aquatiques (figure 1.2 et encadré 1).

### Encadré 1 : Les causes de mortalité de poissons non liée à la prédation

#### « Prises accidentelles rejetées et prises non rapportées par les pêches »

Dans le monde : 27 million de tonnes par an (Alverson *et al.*, 1994; Naylor *et al.*, 2000; Groenewold et Fonds, 2000; Bozzano et Sardà, 2002; Pitcher *et al.*, 2002).

En aquaculture : 11 millions de tonnes par an (Holmlund et Hammer, 1999).

#### « Summerkill, winterkill »

Mortalité presque totale (90 à 100%) des poissons résidant dans le lac où ces événements se produisent (Barica *et al.*, 1983; Vanni *et al.*, 1990; Danylchuk et Tonn, 2003).



#### « Accidents (biomanipulation, construction de barrages) et pollutions anthropiques (acidification des lacs, déversement de pétroles dans les océans) »

Mortalité des communautés ichthyologiques variant entre 50 et 95% dépendant de l'intensité de la pollution (DeMelo *et al.*, 1992; Carpenter *et al.*, 1995; Rask *et al.*, 1996; Hesthagen et Jonsson, 2002; Berryman et Jalbert, 2003).

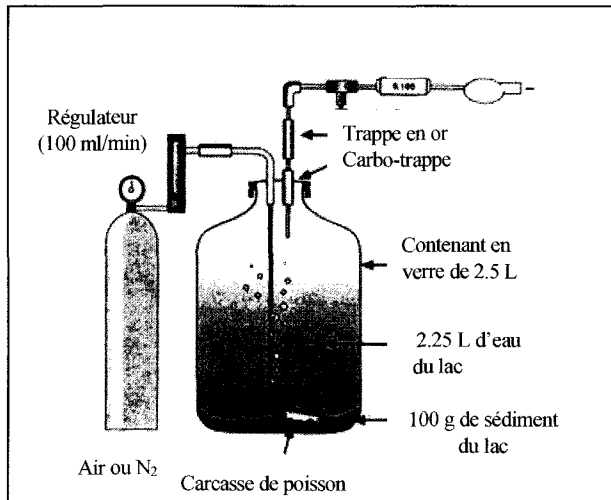
#### « Sénescence, maladies, inanition chez les poissons adultes »

*eaux douces*: mortalité naturelle annuelle variant de 0.10 à .67 au sein des lacs (Ricker, 1945; Kipling et Frost, 1970; Rawstron et Hasagen, 1972; Rangaswany, 1976; Nakashima et Leggett, 1980; Pauly, 1980; Craig, 1984; Lorenzen, 1996; Schneider, 1997; Allen *et al.*, 1998; Mills *et al.*, 2002).

*eaux marines*: mortalité naturelle annuelle variant de 0.20 à 0.95 en milieu océanique (Pauly, 1980; Clark, 1999; Sparholt *et al.*, 2002; Dutil *et al.*, 2003; Savenkoff et Castonguay, 2003).

→ **moyenne acceptée par les biologistes ichthyologues de 0.20-0.25 dans les eaux naturelles** (Reznick *et al.*, 2002; Dutil *et al.*, 2003).

Jusqu'à maintenant, une seule étude en laboratoire (Bloom et Kuhn, 1996; données non publiées) a tenté d'expliquer ce recyclage en suivant les changements temporels dans la spéciation du Hg avant et après la décomposition d'un poisson dans les sédiments et l'eau au



**Figure 1.3** Microcosme mesurant le recyclage du mercure lors de la décomposition d'une carcasse de poisson (issu de Bloom et Kuhn, 1996).

sein d'un microcosme (figure 1.3). Après 15 jours de décomposition bactérienne, Bloom et Kuhn observent que la majorité du MeHg contenu dans le poisson retourne dans l'eau sous forme de mercure élémentaire  $Hg^0$  (37%) et sous forme de MeHg aqueux (28%). Le reste du MeHg est retrouvé dans les sédiments (13%) et 21% de Hg serait adsorbé sur les parois du microcosme. Cependant, Bloom et Kuhn (1996) dans cette étude

expérimentale négligent la consommation probable des carcasses de poisson par les nécrophages ce qui rend difficile l'application de ces résultats en milieu naturel.

## 2. Problématique

Les flux de l'énergie dans les écosystèmes circulent selon deux types de réseaux trophiques : le réseau trophique de la prédation et le réseau trophique de la décomposition. Au sein des écosystèmes terrestres et littoraux, le réseau de la décomposition est considéré comme la voie majeure du flux de l'énergie (Smith et Smith, 1998). Les organismes dits « vrais décomposeurs », responsables de la réduction de la matière organique en éléments inorganiques, sont les bactéries et les champignons hétérotrophes. Cependant, dans les cas où les animaux meurent d'autres causes que la prédation (i.e., malnutrition, maladies, parasites, accidents, etc.; encadré 1), les organismes nécrophages peuvent avoir accès en premier à ces carcasses, faisant ainsi circuler l'énergie à un niveau supérieur de la chaîne alimentaire (DeVault *et al.*, 2003). La quantité appréciable de données sur les causes spécifiques de mortalité semblerait indiquée une bonne connaissance quant à la prédominance des charognards dans les écosystèmes. Malheureusement, la complexité inhérente (à la fois

spatiale et temporelle) des causes sous-jacentes de la mortalité et le manque de synthèse claire empêchent l'établissement de principes généraux. Cependant, on reconnaît qu'un nombre suffisant de carcasses, à la fois petites et grandes, sont produites dans tous les écosystèmes (y compris les fonds océaniques; Wilson et Smith, 1984; Smith, 1985; Priede *et al.*, 1990; Yau *et al.*, 2002.) influençant ainsi le comportement, l'écologie et l'évolution des charognards (DeVault *et al.*, 2003). Par conséquent, les charognards pourrait jouer un rôle important non seulement sur les flux de l'énergie dans les réseaux trophiques mais aussi sur les flux des polluants organiques.

Cette thèse comporte deux problématiques principales :

- i) Est-ce que les organismes nécrophages peuvent accumuler directement le mercure issu des poissons morts en milieu lacustre ?
- ii) Est-ce que les carcasses de poisson en décomposition, lors d'un cas de mortalité massive (i.e., après le frai du saumon du Pacifique), influencent les concentrations du mercure au sein des frayères ?

Ces deux problématiques sont importantes puisqu'elles s'intéressent à la biodisponibilité du Hg chez des organismes vivants appartenant à un niveau trophique presque complètement ignoré dans le cycle des contaminants organiques (i.e., la nécrophagie). De plus, si certains poissons ont toujours été considérés comme des vecteurs de nutriments, jamais ils n'ont encore été considérés comme des vecteurs de mercure. Pour l'heure, Krümmel *et al.* (2003) ont démontré que les saumons du Pacifique (*Oncorhynchus nerka*), après le frai, délivraient les BPC qu'ils avaient accumulé toute leur vie en milieu océanique au sein de leur frayère natale. La réponse à ces problématiques va ainsi accroître nos connaissances sur le recyclage du mercure lors de la mortalité non liée à la prédation des poissons.

### 3. Objectifs et intérêts de cette recherche

L'objectif principal soulevé dans cette recherche doctorale est de *mesurer les transferts du Hg des carcasses de poisson vers les organismes aquatiques et vers les invertébrés terrestres nécrophages* (ces transferts sont indiqués par les flèches rayées dans l'encadré 2) *lors de deux cas de mortalité* : (1) la mortalité naturelle annuelle des poissons non liée à la prédation en milieu lacustre (encadré 2A); (2) la mortalité massive lors du frai du saumon Quinnat (*Oncorhynchus tshawytscha*) en rivière (encadré 2B).

Les objectifs spécifiques de cette recherche sont :

1) lors la mortalité annuelle naturelle non liée à la prédation au sein des lacs :

*en laboratoire, dans des aquariums :*

- a) de mesurer les taux d'accumulation du Hg (Hg total,  $^{202}\text{Hg}$  et MeHg) des poissons morts enrichis naturellement aux isotopes stables de Hg ( $^{202}\text{Hg}$ ) par les organismes aquatiques (sangues et biofilm recouvrant les carcasses) non enrichis en  $^{202}\text{Hg}$ , de même que le taux de perte du  $^{202}\text{Hg}$  par les sangues nécrophages à des fins de modélisation (encadré 2A et section 4 du présent chapitre);
- b) d'établir un bilan de masse du  $^{202}\text{Hg}$  au sein des aquariums afin d'évaluer l'importance relative des sangues nécrophages par rapport au biofilm lors de la décomposition des carcasses de poisson;

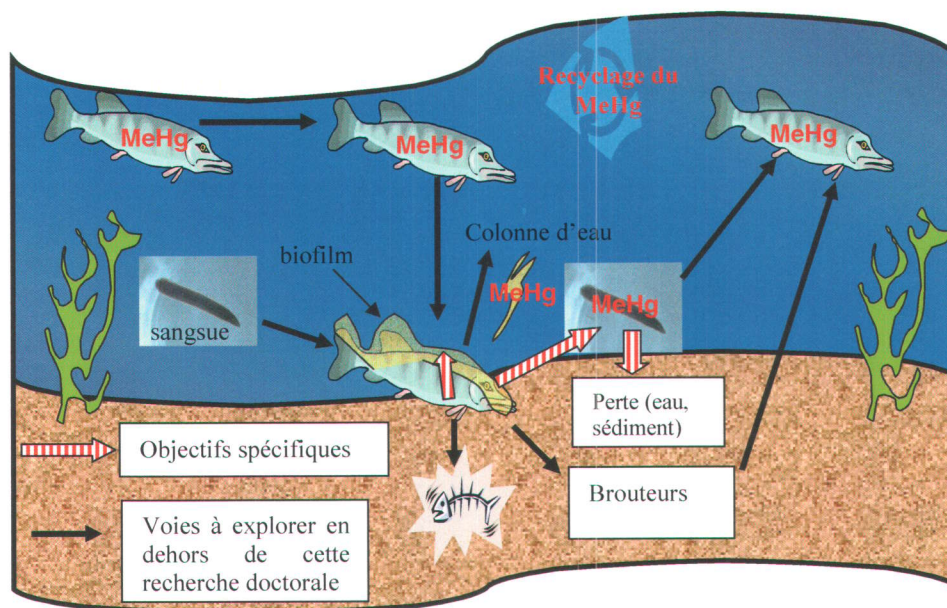
*en nature :*

- c) de comparer les concentrations de Hg (Hg total,  $^{202}\text{Hg}$  et MeHg) dans les sangues et le biofilm mesurées sur le terrain avec celles mesurées en laboratoire en plaçant des carcasses de poisson enrichies en  $^{202}\text{Hg}$  dans un lac sans ajouts de  $^{202}\text{Hg}$ .
- 2) lors de la mortalité massive du saumon Quinnat en rivière:
- a) de déterminer l'impact des carcasses de saumon sur les concentrations aqueuses des nutriments et les concentrations de Hg au sein des différents compartiments de la frayère (eau, sédiments, invertébrés) avant et après le frai;
  - b) de comprendre la dynamique du Hg durant le développement des larves nécrophages terrestres calliphoridés se nourrissant des carcasses de poisson échouées (encadré 2B);

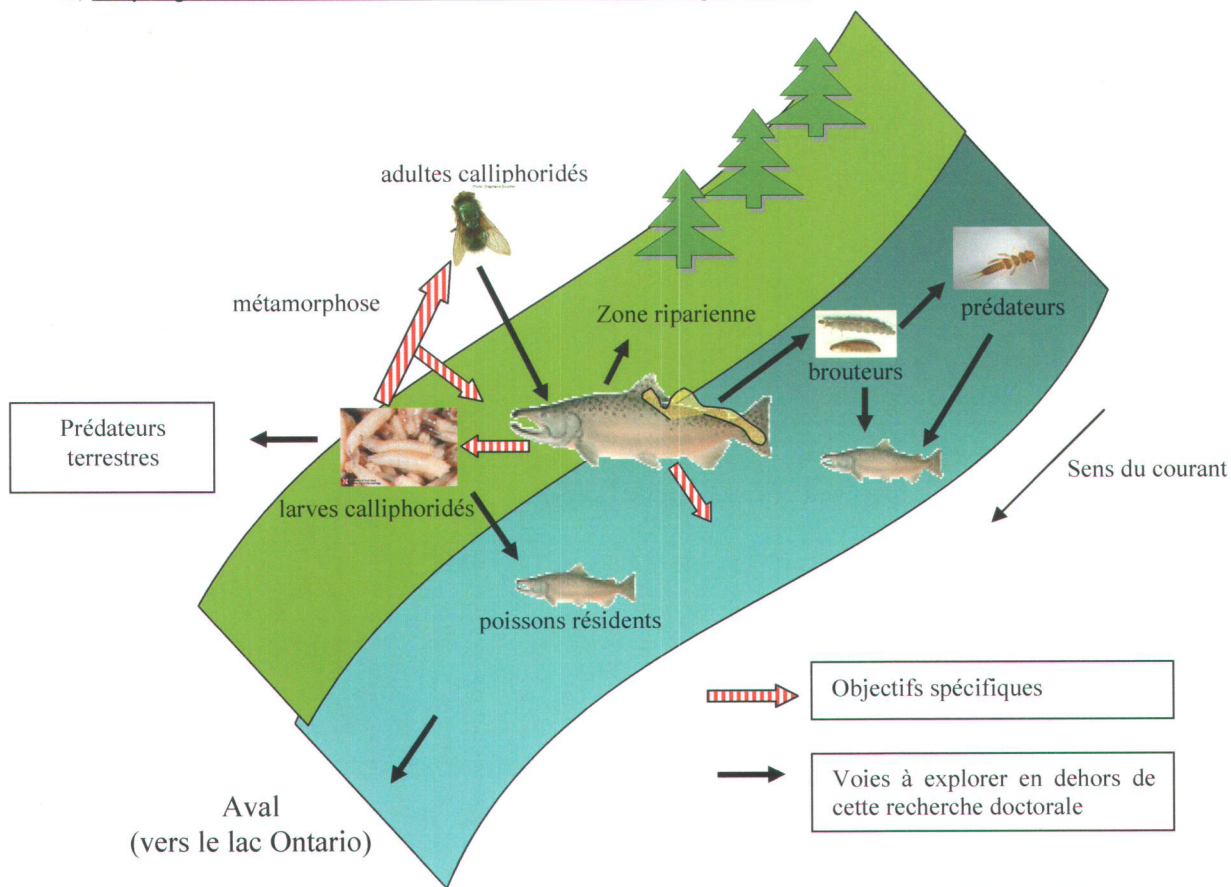


**Encadré 2 : Recyclage du MeHg accumulé dans les poissons morts au sein des systèmes aquatiques.**

A) Recyclage lors de la mortalité naturelle annuelle non liée à la prédation :



B) Recyclage lors de la mortalité massive du saumon Quinnet après le frai :



L'intérêt et l'originalité de cette recherche doctorale sont multiples :

- ils relèvent l'existence probable d'une voie trophique sous-évaluée pour le recyclage du Hg en milieu aquatique (poissons morts → nécrophages → poissons résidents benthivores → poissons piscivores);
- il s'agit du premier travail visant à mesurer de façon directe le transfert de Hg des poissons morts vers les nécrophages en utilisant un isotope stable de Hg comme « traceur »;
- son originalité réside également dans la mesure de transferts de Hg du milieu aquatique vers le milieu terrestre (après le frai des saumons).

## 4. Rappels du modèle cinétique

Le premier objectif spécifique, lors de la mortalité naturelle des poissons en milieu lacustre, consiste à mesurer de façon directe des transferts de Hg des poissons morts vers les sangsues nécrophages en utilisant comme traceur un des isotopes stables de Hg ( $^{202}\text{Hg}$ ), afin de déterminer les taux d'accumulation et de perte du  $^{202}\text{Hg}$  chez les sangsues. Ces deux paramètres sont en effet essentiels puisqu'ils vont permettre l'interprétation et la prédiction des transferts de Hg dans la chaîne alimentaire (Tsui et Wang, 2004). L'accumulation des éléments traces dans les organismes aquatiques peut être décrite au moyen de modèles cinétiques. Ces modèles se basent sur un principe conceptuel simple selon lequel la concentration temporelle d'un métal au sein d'un organisme est contrôlée par la différence entre la prise en charge du métal et l'élimination de celui-ci (Reinfelder *et al.*, 1998). Cette relation est décrite par l'équation suivante :

Équation 1 :

$$\frac{d[\text{Hg}]_{\text{animal}}}{dt} = \underbrace{(k_{\text{eau}} \cdot [\text{Hg}]_{\text{eau}})}_{\text{eau}} + \underbrace{(AE \cdot IR \cdot [\text{Hg}]_{\text{nourriture}})}_{\text{nourriture}} - \underbrace{k_{\text{perte}} \cdot [\text{Hg}]_{\text{animal}}}_{\text{perte}} - \underbrace{k_{\text{croissance}} \cdot [\text{Hg}]_{\text{animal}}}_{\text{biodilution}}$$

Avec :

$[\text{Hg}]_{\text{animal}}$  = concentration du Hg mesurée dans l'animal ( $\mu\text{g/g}$ )

$t$  = temps d'exposition au Hg (jour)

$k_{\text{eau}}$  = constante du taux de prise en charge du Hg de l'eau (par jour)

$[\text{Hg}]_{\text{eau}}$  = concentration du Hg dans l'eau ( $\mu\text{g/l}$ )

$[\text{Hg}]_{\text{nourriture}}$  = concentration de Hg dans la nourriture ( $\mu\text{g/g}$ )

AE = efficacité d'assimilation du Hg de la nourriture ingérée (i.e., fraction du Hg ingéré qui traverse la paroi intestinale) (%)

IR = taux d'ingestion spécifique de l'animal (mg/g/jour)

$K_{\text{perte}}$  = constante du taux de perte (par jour)

$K_{\text{croissance}}$  = constante du taux de croissance (par jour)

Comme le démontre cette équation, l'accumulation temporelle du Hg dans un organisme aquatique dépend en partie de la quantité du Hg prélevée de l'eau et de la quantité du Hg prélevée de la nourriture. L'efficacité d'assimilation du Hg de la nourriture peut être influencée par plusieurs facteurs tels que la quantité de nourriture ingérée, la composition de la nourriture, le contenu protéinique dans la nourriture, la température, le temps de passage dans l'intestin et le pH dans l'intestin de l'animal étudié (Reinfelder *et al.*, 1998). Quant à l'élimination du Hg assimilé par l'organisme en question, elle serait effectuée par excrétion. Enfin, la croissance de l'animal peut induire une biodilution du Hg (voir revue synthèse de Reinfelder *et al.*, 1998).

Dans notre étude, nous supposons que les sangsues nécrophages prennent toutes leur Hg de la nourriture (i.e., carcasses de poisson) et, par conséquent, les changements dans les concentrations de Hg mesurées dans les sangsues en fonction du temps vont résulter de la différence entre l'accumulation du Hg issu des carcasses de poisson et l'élimination du Hg par les sangsues.

L'équation 1 devient alors :

Équation 2 :

$$\frac{d[Hg]_{\text{animal}}}{d_t} = (AE \cdot IR) \cdot [Hg]_{\text{nourriture}} - (k_{\text{perte}} + k_{\text{croissance}}) \cdot [Hg]_{\text{animal}}$$

Simplifions encore cette équation en regroupant : (1) AE et IR en une constante  $k_1$  que nous appelons constante d'accumulation; (2)  $k_{\text{perte}}$  avec  $k_{\text{croissance}}$  en une constante  $k_2$  appelée, constante d'élimination. Ainsi, l'équation 2 devient :

Équation 3 :

$$\frac{d[Hg]_{\text{animal}}}{d_t} = k_1 \cdot [Hg]_{\text{nourriture}} - k_2 \cdot [Hg]_{\text{animal}}$$

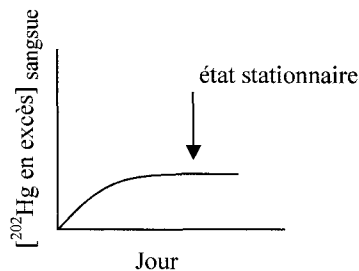
Quand le temps d'exposition au métal est assez long, les concentrations de métal dans l'organisme (on considère l'organisme comme un compartiment unique) atteignent un état stationnaire (« steady state ») signifiant que les quantités de métal qui entrent dans l'organisme équivalent celles qui sont éliminées par l'organisme (= scénario 1). Sous forme algébrique, on obtient :

Équation 4 :

$$k_1 \cdot [Hg]_{nourriture} = k_2 \cdot [Hg]_{animal} \quad \text{ou} \quad \frac{k_1}{k_2} = \frac{[Hg]_{animal}}{[Hg]_{nourriture}} = \frac{[Hg]_{sangsue}}{[Hg]_{carcasses\ de\ poisson}}$$

= FC (facteur de concentration)

Graphiquement, cela donne :

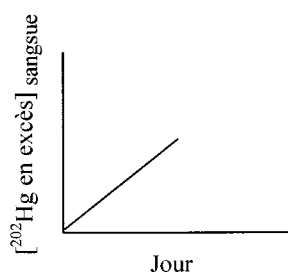


La pente initiale de cette courbe permet de déterminer la valeur de  $k_1$  et, connaissant la concentration de Hg dans les sangsues à l'état stationnaire ainsi que la concentration de Hg dans les carcasses de poisson, on détermine la valeur de  $k_2$  à partir de l'équation 4. L'intérêt d'un tel modèle consiste à pouvoir prédire les concentrations de mercure dans les sangsues à un temps donné en milieu naturel, connaissant  $k_1$  et  $k_2$ .

Nous venons d'expliquer brièvement l'accumulation d'un métal dans un organisme quand l'état stationnaire est atteint. Cependant, on peut se demander si un état stationnaire peut être atteint en 30 jours (durée de l'expérience en laboratoire). En effet, étant donné les caractéristiques particulières du MeHg soit, une efficacité d'assimilation souvent élevée et des taux d'élimination très lents pour plusieurs espèces (Cunningham et Tripp, 1975; Fowler *et al.*, 1978, Riisgaard *et al.*, 1985; Trudel et Rasmussen, 1997; Tsui et Wang, 2004), un autre scénario probable peut être envisagé :

- Scénario 2 : L'état stationnaire n'est pas atteint à l'échelle de temps considéré parce que les pertes de Hg sont négligeables. Dans ce cas, la concentration de  $^{202}\text{Hg}$  dans les

sangues à un temps donnée serait directement proportionnelle au produit  $k_1 \cdot [^{202}\text{Hg}]_{\text{excès}}]_{\text{sangue}}$ ;



D'autres scénarios peuvent être cités comme : (1) la dilution du Hg par la croissance de la sangsue et (2) des pertes non négligeables du MeHg accumulé.

## 5. Méthodes et analyses

---

Cette section décrit de façon générale, l'approche expérimentale ainsi que les analyses utilisées à la réalisation de cette thèse. Elle est divisée en trois parties : l'étude des transferts directs de Hg des poissons morts vers les organismes nécrophages en milieu lacustre (chapitre 2), l'étude du recyclage du mercure lors de la mortalité massive du saumon Quinnet au sein d'une fraysère ontarienne (chapitre 3) ainsi que l'étude portant sur l'accumulation et la perte du mercure chez les larves calliphoridés (chapitre 4). Pour plus de détails sur les méthodes et analyses d'une étude donnée, il importe de se référer au chapitre correspondant.

Dans toutes nos manipulations, la vaisselle en contact avec l'échantillon a été lavée dans des conditions ultra-propres selon le protocole suivant sauf indications contraires : nettoyage à l'acide  $\text{HNO}_3$  15 % (grade ACS réactif, J. T. Baker, Phillipsburg, U.S.A.),  $\text{HCl}$  1 % (grade ACS réactif, J. T. Baker, Phillipsburg, U.S.A.) suivis de sept rinçages à l'eau ultrapure (Milli-Q system;  $> 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ). Toutes les manipulations durant les analyses ainsi que durant l'échantillonnage ont été effectuées au moyen de gants en latex sans poudre.

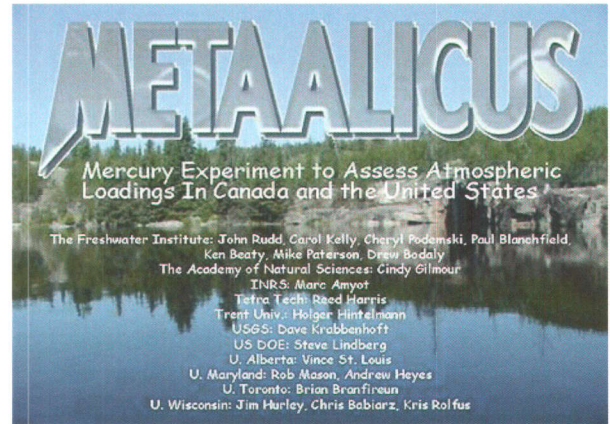
## 5.1 Échantillonnage en milieu lacustre (chapitre 2)

### 5.1.1 Prise en charge du $^{202}\text{Hg}$ par les sangsues et le biofilm et perte du $^{202}\text{Hg}$ par les sangsues : expériences en laboratoire

Dans le but de suivre et de mesurer de façon directe la prise en charge du Hg dans les poissons morts par les organismes nécrophages, l'utilisation d'un « traceur » s'avère essentielle. A cette fin, nous avons profité de l'occasion unique qu'offre le projet METAALICUS (encadré 3) en utilisant des perchaudes (*Perca flavescens*) du lac 658 (Experimental Lakes Area (ELA), ON, Canada) enrichies naturellement aux isotopes stables de Hg ( $^{202}\text{Hg}$ ). Ces travaux ont été réalisés au cours de l'été 2002.

**Encadré 3 : METAALICUS (Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loadings in Canada and the United States).**

- Ce projet, regroupant un total de 60 scientifiques, est le premier au monde à avoir ajouté des isotopes stables de Hg dans un écosystème lacustre entier dans le but de pouvoir relier de façon directe le Hg atmosphérique avec celui que l'on retrouve dans les poissons. En d'autres mots, les chercheurs veulent savoir si le MeHg retrouvé dans les poissons est du « vieux » MeHg déjà présent dans le lac où, du « nouveau » MeHg issu de la méthylation du Hg inorganique suite aux dépositions récentes de Hg atmosphérique.
- Lieu et lac sélectionnés pour cette expérience unique :



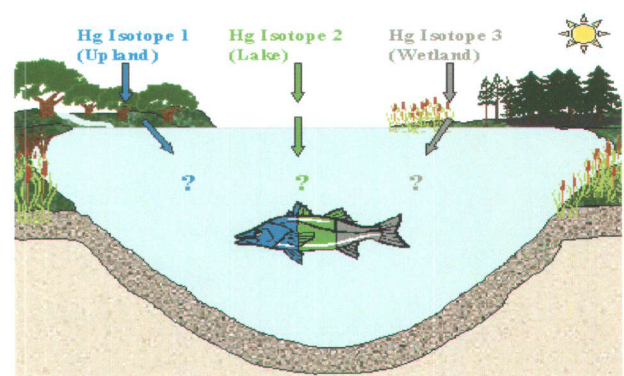
**Figure 1** Photographie aérienne du lac 658 (ELA, ON, Canada).

La perchaude (*Perca flavescens*; figure 3), âgée de un an, est l'espèce sélectionnée dans le cadre de notre étude. En effet, des analyses de Hg isotopique effectuées en 2002 ont révélé la présence de Hg isotopique en excès ( $^{202}\text{Hg}$ ) uniquement au sein des perchaudes (sur 15 perchaudes de 7 cm, la concentration moyenne de  $^{202}\text{Hg}$  est de 19.1 ng/g, poids sec; Dr. P. Blanchfield, Freshwater Institute, Winnipeg, MB, ON, communication personnelle, 2002). Un an après le début de l'expérience du projet METAALICUS, il semble que seuls les poissons se nourrissant d'invertébrés benthiques (comme les jeunes perchaudes; Scott et Crossman, 1974) présentent des concentrations détectables de  $^{202}\text{Hg}$  et non les poissons piscivores (comme les brochets).



**Figure 3** *Perca flavescens*.

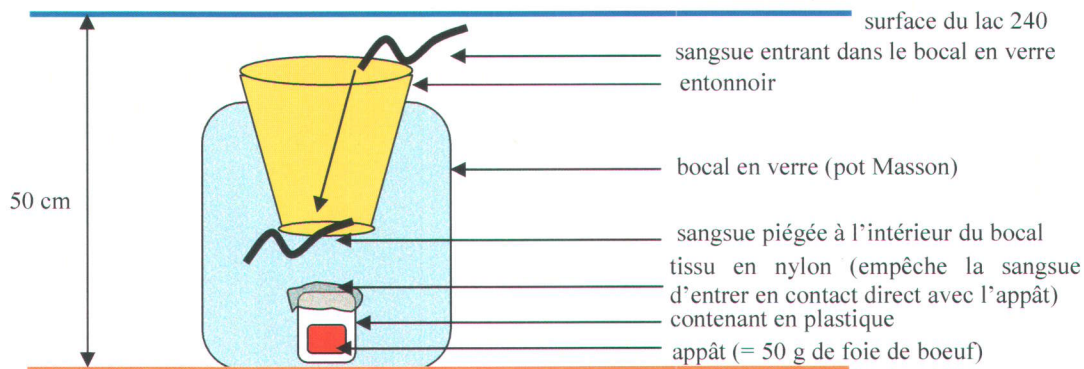
Parce que la station de recherche scientifique de ELA (Experimental Lakes Area, nord-ouest de l'Ontario, Canada) reçoit de faibles dépositions sèches de Hg atmosphérique, ce lieu a été sélectionné. Plus précisément, le lac 658 (figure 1) est le lac dans lequel des ajouts de Hg isotopique inorganique ont été effectués à partir de l'été 2000. Rappelons que les isotopes stables sont des éléments chimiques ne se différenciant que par leur nombre de neutrons et par le fait même, leur masse atomique. Le Hg comprend sept isotopes stables dont l'abondance relative naturelle (%) varie :  $^{195}\text{Hg}$  (0.15);  $^{198}\text{Hg}$  (10.2);  $^{199}\text{Hg}$  (16.9);  $^{200}\text{Hg}$  (23.1);  $^{201}\text{Hg}$  (13.2);  $^{202}\text{Hg}$  (29.7);  $^{204}\text{Hg}$  (6.8). Dans le cadre du projet METAALICUS, du  $^{199}\text{Hg}$  a été ajouté dans la zone marécageuse du lac, du  $^{200}\text{Hg}$  a été ajouté dans le bassin versant du lac et du  $^{202}\text{Hg}$  a été ajouté directement dans le lac (figure 1). Grâce à ces trois isotopes différents il va être possible de déterminer la ou les sources de MeHg retrouvées dans le poisson (figure 2).



**Figure 2** Contribution relative des trois sources de Hg isotopique dans les niveaux de Hg retrouvés dans les poissons.

### 5.1.1.1 Prise en charge du $^{202}\text{Hg}$ par les sangsues et le biofilm : expérience 1

Un total de 82 sangsues (*Percymoorensis marmorata*, espèce identifiée sur place par le Dr. S. Podemski, Freshwater Institute, Winnipeg, MB, Canada) a été prélevé au moyen de « pièges à sangsues » (figure 1.4) dans le lac 240 (= lac de référence non enrichi en isotopes stables de Hg; ELA, ON, Canada) au début du mois d'août 2002. La plupart ont



**Figure 1.4** Représentation schématique d'un piège à sangsues placé dans la zone littorale du lac 240 à ELA.

ensuite été placées dans six aquariums de plastique scellés (longueur : 1 m; hauteur : 40 cm),



**Figure 1.5** Photographie du laboratoire installé à ELA représentant les aquariums numérotés de 1 à 6.

aérés (pompe à oxygène) et remplis d'eau du lac 240 à ELA. Dans les aquariums, le nombre de sangsues se répartit comme suit : huit sangsues dans les aquariums numérotés de 1 à 5 que nous avons nourries avec des perchaudes enrichies en  $^{202}\text{Hg}$ ; 24 sangsues dans l'aquarium numéro 6 (= aquarium témoin; figure 1.5) dans lequel aucune carcasse de perchaude n'a été ajoutée. Les temps d'échantillonnage ainsi que la façon dont les échantillons ont été prélevés dans les aquariums sont décrits au chapitre 2 à la section « Methods: ELA laboratory experiments ».

### 5.1.1.2 Taux de perte du $^{202}\text{Hg}$ par les sangsues : expérience 2

La première partie de l'expérience en laboratoire avait pour but de mesurer la prise en charge du  $^{202}\text{Hg}$  des carcasses de perchaude par les sangsues *P. marmorata* et par le biofilm. La deuxième partie de l'expérience visait à mesurer les taux de perte du  $^{202}\text{Hg}$  des sangsues en contact, cette fois, avec des perchaudes non enrichies en  $^{202}\text{Hg}$ . Le 16<sup>e</sup> jour de décomposition en laboratoire, il restait quatre sangsues dans les aquariums numérotés de 1 à 4. Nous avons

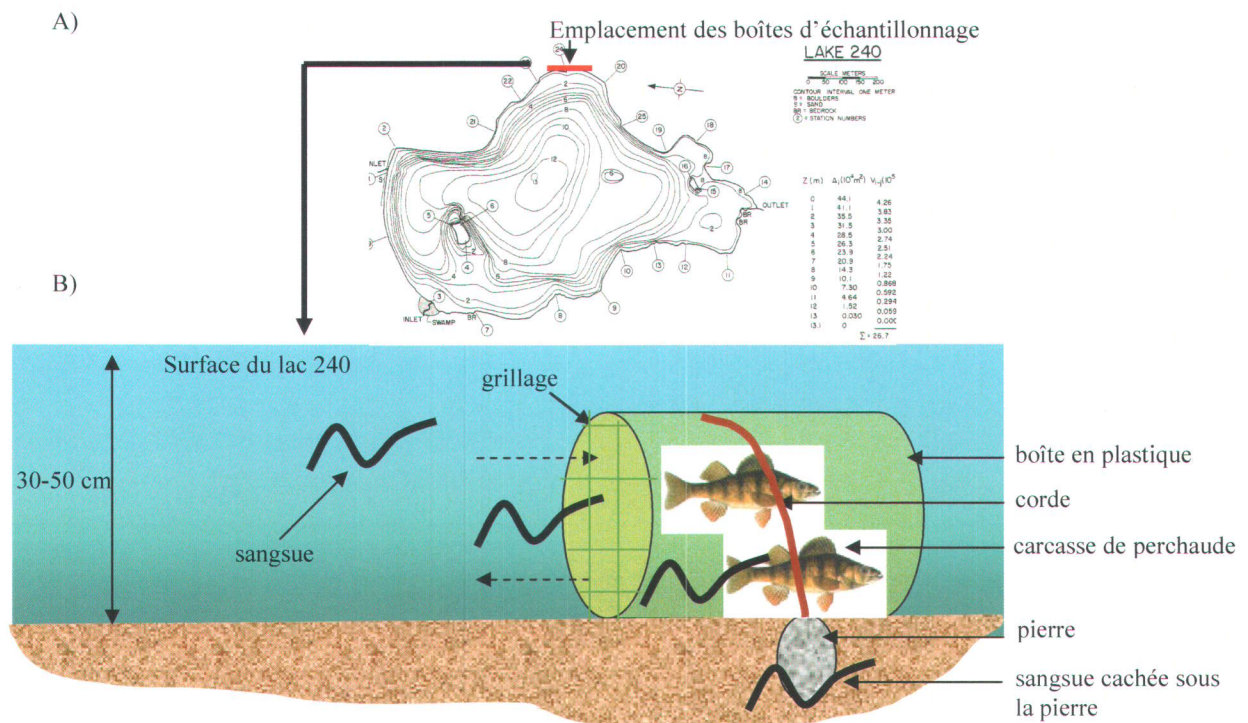


supposé que toutes ces sangsues avaient été en contact avec des perchaudes enrichies au  $^{202}\text{Hg}$  pendant au moins 16 jours. Par conséquent, nous avons considéré que ces dernières étaient désormais enrichies en  $^{202}\text{Hg}$ . Nous avons nettoyé minutieusement les quatre aquariums afin d'enlever toute trace de  $^{202}\text{Hg}$ , nous les avons rempli d'eau provenant du lac 240, puis nous avons replacé ces sangsues (quatre par aquarium) à l'intérieur. Par la suite, nous avons ajouté des perchaudes non enrichies au  $^{202}\text{Hg}$ . Les temps d'échantillonnage sont décrits au chapitre 2 à la section « Methods: ELA laboratory experiments ».

### 5.1.2 Accumulation du $^{202}\text{Hg}$ par les sangsues et le biofilm : expérience *in situ*

Dans le but de comparer nos résultats d'accumulation du Hg total, du  $^{202}\text{Hg}$  et du MeHg des carcasses de perchaude par la sangsue *P. marmorata* et le biofilm recouvrant les carcasses obtenus en laboratoire avec ceux en nature, nous avons placé des carcasses de perchaude enrichies en  $^{202}\text{Hg}$  dans la zone littorale du lac 240 à une profondeur variant entre 30 et 50 cm.

Seize boîtes de plastique contenant chacune des carcasses de perchaudes enrichies en  $^{202}\text{Hg}$  ont été placées dans la zone littorale du lac 240 (figure 1.6A, B). Les invertébrés nécrophages (sangsues et écrevisses) pouvaient entrer et sortir librement de la boîte puisque le grillage placé à l'ouverture de celle-ci était grossier (ouverture de 5 X 3 cm; figure 1.6B). Nous avons opté pour ce « système ouvert » plutôt que pour une boîte retenant les invertébrés nécrophages afin de vérifier si les invertébrés nécrophages avaient un comportement sédentaire ou non en présence de nourriture. Tous les invertébrés observés dans, à côté ou à une distance supérieure de 3 m des boîtes d'échantillonnage ont été prélevés sur une période de 11 jours. Les temps d'échantillonnage ainsi que les espèces d'invertébrés prélevés au cours de cette expérience *in situ* sont précisés au chapitre 2 dans la section « Methods: ELA field experiment ».



**Figure 1.6** (A) Carte bathymétrique du lac 240 indiquant l'emplacement des boîtes d'échantillonnage dans la zone littorale et (B) schéma d'une boîte d'échantillonnage (vue latérale) contenant les carcasses de perchaude.

### 5.1.3 Méthode de détermination et de calculs des sources de $^{202}\text{Hg}$

Les rapports isotopiques dans les tissus biologiques sont déterminés à l'aide d'un spectromètre d'émission atomique à plasma induit couplé à un spectromètre de masse (ICP/MS) avec la collaboration du Dr. H. Hintelmann (Université de Trent, Peterborough, ON, Canada). Les détails techniques de ces analyses sont résumées dans la revue synthèse de Hintelmann et Ogrinc (2003). La limite de détection de l'appareil est estimée à 30 pg pour le  $^{202}\text{Hg}$  à la fois sous forme organique et inorganique.

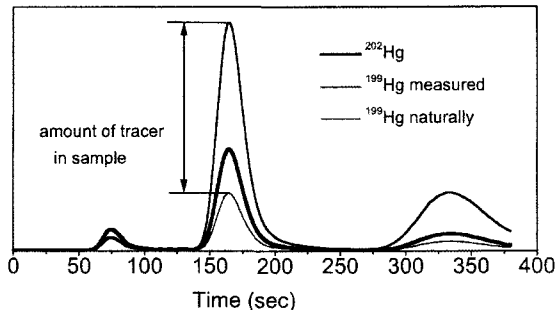
Dans le cadre de notre étude, nous supposons que deux sources de  $^{202}\text{Hg}$  peuvent être retrouvées dans les sangsues : une source naturelle ( $F_1$ ) et une source liée aux carcasses de perchaudes enrichies en  $^{202}\text{Hg}$  ( $F_2$ ). Après avoir assigné une composition isotopique aux types de Hg de chaque source, on calcule la composition fractionnelle de Hg de chaque source, en utilisant les équations de conservation de masse :

$$F_1 + F_2 = 1$$

$$\left( {}^{201}\text{Hg}/{}^{202}\text{Hg} \right) * F_1 + \left( {}^{201}\text{Hg}/{}^{202}\text{Hg} \right) * F_2 = \left( {}^{201}\text{Hg}/{}^{202}\text{Hg} \right)_{\text{mesuré dans la sangsue}}$$

Connaissant le rapport isotopique de la source  $F_1$  (= 0.444), le rapport isotopique mesuré dans la source  $F_2$  ainsi que celui mesuré dans la sangsue (ces deux valeurs sont obtenues par ICP/MS), on résout ce système à deux inconnues ( $F_1$  et  $F_2$ ) pour trouver les valeurs des fractions  $F$  (%) pour chaque sangsue.

L'exemple qui suit concerne le  $^{199}\text{Hg}$  utilisé comme un traceur dans les sédiments mais cette application est la même que celle utilisée pour  $^{202}\text{Hg}$  dans le cadre de notre étude.



**Figure 1.7** Chromatogramme issu de l'ICP/MS pour un échantillon de sédiment incubé avec du  $^{199}\text{Hg}$  inorganique montrant une augmentation dans le signal de  $^{199}\text{Hg}$ . Issu de Hintelmann et Ogrinc (2003).

Ajouter une solution enrichie à 97.36% de  $^{199}\text{Hg}$  à un échantillon de sédiment induit un changement dans le rapport isotopique du  $^{199}\text{Hg}$  inorganique dans cet échantillon. L'amplitude mesurée entre le rapport de  $^{199}\text{Hg}$  retrouvé dans les sédiments après ajout (i.e.,  $^{199}\text{Hg}$  mesuré; figure 1.7) va être égale à la quantité de traceur retrouvée dans l'échantillon de sédiment.

Les analyses de Hg total, de MeHg et des isotopes stables d'azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) effectuées dans tous les échantillons de cette étude sont décrites à la section « Material and methods » du chapitre 2.

## 5.2 Échantillonnage lors de la mortalité massive du saumon Quinnet au sein d'une frayère ontarienne (chapitre 3)

Après le frai de novembre 2000, nous avons échantillonné deux ruisseaux : le ruisseau Wilmot (43°59'N, 78°38'O; figure 3.1, chapitre 3) dans lequel fraient les saumons et le ruisseau Ganaraska dans lequel peu de saumons fraient. Pour chacun de ces systèmes, la densité de carcasses de saumon (individu/m<sup>2</sup>) a été mesurée. Nous avons prélevé des

échantillons d'eau et d'invertébrés aquatiques (une espèce collectrice-filtreuse et deux espèces prédatrices) pour ces deux ruisseaux ainsi que des échantillons de sédiment, de tissus de saumon (i.e., muscle dorsal, foie et œufs), de biofilm recouvrant les carcasses, et d'invertébrés terrestres (diptères calliphoridés adultes et larves) aux sites amont 1, centre 1 et aval 1 du ruisseau Wilmot uniquement à des fins d'analyses de Hg total et de nutriments. De plus, 28 carcasses de saumon marquées sur une distance de 240 m ont été suivies du début jusqu'à la fin de leur décomposition par des élèves de l'école Wilmot afin de mesurer la vitesse de décomposition des carcasses dépendant de leur état d'immersion dans le ruisseau. Ces 28 carcasses étaient réparties de la façon suivante : dix carcasses échouées, neuf carcasses à moitié immergées et neuf carcasses complètement immergées.

En 2001, seul le ruisseau Wilmot a été échantillonné (avant et après le frai; i.e., août et novembre, respectivement). Nous y avons prélevé l'eau et les sédiments à trois sites supplémentaires soit, amont 2, centre 2 et aval 2 dans le but de mieux comprendre la distribution spatiale du Hg dans le ruisseau (figure 3.1, chapitre 3). Afin de mesurer l'impact de la décomposition des carcasses de saumon sur le partitionnement du Hg dans l'eau (i.e., inorganique *versus* organique et dissous *versus* particulaire), nous avons, en plus des concentrations de Hg total, mesuré les concentrations aqueuses de MeHg, de Hg total dissous (Hg<sub>D</sub>) et de Hg total particulaire (Hg<sub>P</sub>). Parcequ'une augmentation de Hg total dans une rivière entre les sites amont et aval peut résulter d'un gradient naturel en particules au sein du ruisseau (i.e., les sites aval sont considérés comme plus riches en particules que les sites amont donc, plus riches en Hg<sub>P</sub>), nous avons échantillonné la matière particulaire en suspension (MPS) aux six sites du ruisseau Wilmot cette même année. De plus, dans le but d'écarter l'hypothèse selon laquelle des fuites au niveau des fosses septiques ont engendré des augmentations dans les concentrations aqueuses de nutriments et de Hg, nous avons récolté le coliforme fécal *Escherichia coli*. En effet, ce coliforme a été reconnu pour être un excellent indicateur de contaminations récentes dans les cours d'eau lors des rejets des eaux domestiques, des effluents industriels ainsi que des fèces des animaux à sang chaud. Enfin, un taxon d'invertébré aquatique (trichoptère), en plus des trois autres mentionnés précédemment, a été prélevé afin de représenter les invertébrés aquatiques déchetiers.

Pour plus de détails sur l'échantillonnage ainsi que sur les analyses en laboratoire, il importe de se référer à la section « Material and methods » du chapitre 3.

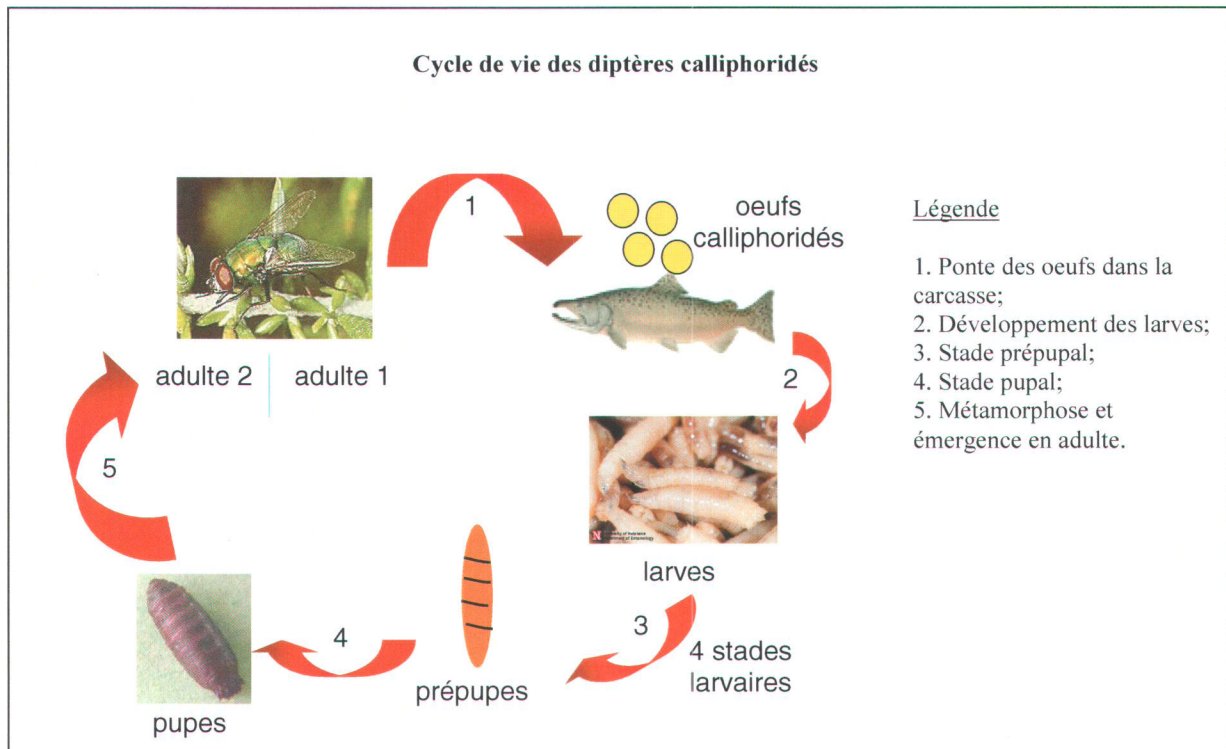
### 5.3 Échantillonnage lors de l'étude portant sur l'accumulation et la perte du Hg chez les larves calliphoridés (chapitre 4)

Quatre truites mouchetées (*Salvelinus fontinalis*) ont été placées à deux mètres de la rive du lac Le Petit situé à la base de plein air de Sainte-Foy (Québec, Canada) au mois de mai 2002. Ces carcasses ont été colonisées par les femelles calliphoridés (diptères) venant y pondre leurs œufs. Nous avons prélevé au cours de cette expérience *in situ*, tous les échantillons en contact avec les carcasses (femelles adultes calliphoridés, œufs de calliphoridés, larves calliphoridés séparées en deux classes de taille : inférieure ou supérieure à 1 cm de longueur, adultes calliphoridés après l'émergence, chair de poisson) afin de suivre la dynamique du Hg lors du développement postembryonnaire des larves calliphoridés (encadré 4). Pour plus de détails sur l'échantillonnage et sur les analyses de Hg, il importe de se référer à la section « Material and methods » du chapitre 4.

### 5.4 Statistiques

Pour toutes les données présentées dans ce document, la normalité des données et l'homogénéité des variances ont été vérifiées et validées. Aucune donnée n'a été transformée. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées au moyen du logiciel SYSTAT, version 10, de SPSS Science Marketing Department (Chicago, IL, Etats Unis).

## Encadré 4 : Cycle de vie des diptères calliphoridés et description du développement postembryonnaire.



- L'embryogenèse à l'intérieur des œufs crée une forme larvaire totalement différente de la forme adulte (ou imaginale) qui ne peut être atteinte qu'après une véritable métamorphose.

- Chaque stade larvaire est séparé par une mue (i.e., changement de l'exosquelette), contrôlée par l'hormone de mue (ou ecdysone) produite par les cellules neurosécrétrices cérébrales dont l'activité dépend de stimuli externes et internes. Au total, les larves effectuent quatre mues au cours de cette phase de leur vie.

- Avant la formation du puparium (i.e., cocon entourant la pupa) à partir de la cuticule larvaire, la larve mobile cesse de se nourrir (= prépupe), vide son tube digestif et quitte généralement la carcasse pour s'enfouir dans le sol.

- La mue entre la prépupe et pupa est marquée par une modification de la forme du corps de la larve qui prend l'aspect d'un « tonnelet » en raison de la contraction des muscles longitudinaux et par le tannage de la cuticule qui se teinte en brun foncé et durcit. Ces transformations aboutissent à l'immobilisation de la pupa.

- Durant la métamorphose, tout l'organisme imaginal se construit à partir de cellules restées en réserve (= cellules imaginaires) et qui ne sont pas intervenues dans l'édification de la larve. Parmi ces remaniements profonds, on note : (1) une dégénération des cellules épidermiques larvaires suite à une fragmentation de leur cytoplasme et le rejet de ces cellules dans la cavité générale de la larve où elles sont phagocytées; (2) un renouvellement total de l'épithélium de l'intestin moyen puisque la métamorphose s'accompagne d'un changement de régime alimentaire. Les cellules de l'épithélium intestinal larvaire dégénèrent et sont rejetées dans la lumière de l'intestin moyen où elles forment une masse compacte appelée le corps jaune. Ce corps jaune persiste dans le tube digestif de l'imago jusqu'à l'émergence de la mouche qui l'éjectera via le méconium; (3) des muscles purement imaginaires (nécessaires au vol par exemple) se construisent entièrement pendant la nymphose; (4) des muscles larvaires disparaissent complètement; (5) des muscles présents chez la larve sont maintenus chez l'imago mais après avoir été profondément remaniés. Tous ces changements dépendent d'un contrôle endocriné complexe.

- La diapause, arrêt de développement à un stade bien précis, donne aux diptères calliphoridés la possibilité de résister efficacement à l'adversité des saisons.

---

## 6. Intégration des résultats et discussion

---

Cette section renferme les principaux résultats de la thèse ainsi que leur interprétation en trois parties. La première partie résume l'étude portant sur les transferts directs de Hg des carcasses de poissons vers les organismes aquatiques (sangues nécrophages et biofilm) en milieu lacustre (chapitre 2). La deuxième partie de cette section concerne le devenir du Hg lors de la mortalité massive du saumon Quinnat au sein d'une frayère ontarienne (chapitre 3). La troisième partie s'intéresse à la dynamique du Hg durant le développement postembryonnaire des larves nécrophages terrestres calliphoridés se nourrissant des carcasses de poisson échouées (chapitre 4). Enfin, la dernière partie de cette section propose des voies de recherche à explorer dans le but d'aboutir à un bilan de masse *in situ* lors de ces deux cas de mortalité naturelle.

### 6.1 Les transferts de mercure des carcasses de poisson vers les nécrophages dans des lacs boréaux : l'utilisation des isotopes stables de mercure

Les résultats de cette étude sont résumés dans le manuscrit accepté pour publication dans le journal *Environmental Pollution* (chapitre 2). Il importe de préciser que des résultats préliminaires issus de la maîtrise (Sarica, 2001) ont été insérés dans cette recherche et constituent un quart des résultats (figure 2.1, chapitre 2). Tous les autres résultats découlent de cette recherche doctorale.

Lors d'une expérience préliminaire menée au lac Laflamme (Parc des Laurentides, Québec, Canada) en juillet 2000, au cours de laquelle 24 carcasses de poisson ont été placées dans la zone littorale de ce lac, seules deux espèces de sangues ont toujours été prélevées soit, à côté des poissons morts (la sangue *Nepheleopsis obscura*), soit à l'intérieur des carcasses (la sangue *Haemopsis* sp.) sur une période de 20 jours. En mesurant leurs concentrations de Hg total en fonction du temps d'exposition aux carcasses (figure 2.1, chapitre 2) nous avons observé une régression positive pour ces deux espèces : les concentrations de Hg total mesurées chez *N. obscura* et *Haemopsis* sp. ont en effet augmenté de 100% et 500%, respectivement, entre les jours 0 et 20 alors qu'aucune augmentation dans les concentrations de Hg total n'a été mesurée chez d'autres invertébrés benthiques

(l'amphipode *Hyalella azteca* et la larve de libellule *Libellula* sp.) proches ou éloignées des poissons morts (figure 2.1, chapitre 2). En observant le profil des concentrations de Hg total dans les sédiments en fonction du temps (figure 2.1, chapitre 2), nos résultats n'indiquent aucune variation dans ces concentrations pour les sédiments témoins (i.e., sans poissons morts) mais indiquent une augmentation significative (+ 30%) de ces concentrations au sein des sédiments prélevés sous et à côté des carcasses durant les 13 premiers jours, suivi d'une diminution significative (- 24%) au jour 20. Cette augmentation serait probablement le résultat des débris de poissons déposés à la surface des sédiments et digérés lors des analyses de Hg; quant à la diminution subséquente, elle serait probablement due à l'ingestion des débris de poisson par des organismes nécrophages. Nous en avons conclu que le Hg provenant des poissons morts ne s'accumulait pas dans les sédiments mais semblait être repris en partie par les organismes nécrophages (sangues) et par conséquent, pouvait retourner dans la chaîne alimentaire lors de la prédation de ces sangues par les poissons résidents et les oiseaux (Sawyer, 1986; Davies et Gates, 1991).

Cependant, nos conclusions ne sont fondées que sur des corrélations entre la teneur en Hg total dans les poissons morts et celle dans les sangues sans un lien causal direct. Par conséquent, nous avons utilisé un traceur pour suivre directement les transferts de Hg des poissons morts vers les organismes nécrophages : ce traceur était un isotope stable du Hg, le  $^{202}\text{Hg}$ . Rappelons que nous avons conduit à la fois une expérience en laboratoire (composée de deux parties : 1) expérience d'accumulation, 2) expérience de perte du  $^{202}\text{Hg}$  chez les sangues nécrophages) et une expérience sur le terrain (lac 240 : lac sans ajouts de Hg isotopique).

#### A) Expériences en laboratoire:

##### 1) Sangues *P. marmorata*

Nos résultats en laboratoire montrent clairement que les concentrations de Hg total, MeHg et  $^{202}\text{Hg}$  en excès augmentent de façon quasi linéaire chez les sangues en présence uniquement des carcasses de perchaudes enrichies (figure 2.2a, chapitre 2). En effet, les quantités de Hg total, MeHg, et  $^{202}\text{Hg}$  en excès (figure 2.2b, chapitre 2) augmentent en fonction du temps d'exposition aux carcasses alors que le poids sec des sangues ne varie pas (figure 2.2c, chapitre 2). Ces résultats indiquent clairement que les sangues *P. marmorata*



accumulent directement le Hg des poissons morts ce qui confirme les résultats obtenus dans le lac Laflamme pour les sangsues *Nepheleopsis obscura* et *Haemopsis* sp. (scénario 2 du modèle cinétique, section 4 du présent chapitre). Le taux de perte du  $^{202}\text{Hg}$  calculé chez les sangsues *P. marmorata* est évalué à  $0.60 \text{ ng } ^{202}\text{Hg}/\text{jour}$  (figure 2.3, chapitre 2) ce qui est environ 4 fois moins élevé que le taux d'accumulation du  $^{202}\text{Hg}$  chez cette espèce ( $2.25 \text{ ng } ^{202}\text{Hg}/\text{jour}$ ); par conséquent, il en résulte une accumulation nette de Hg chez les sangsues et cette accumulation nette chez certains individus dépasse légèrement, à la fin de l'expérience, les concentrations mesurées chez les carcasses (i.e., bioamplification, facteur de concentration = 1.13). Le temps de demi-vie du MeHg chez les sangsues *P. marmorata*, défini comme le temps requis pour que la quantité du MeHg dans un organisme diminue de moitié quand l'organisme n'est plus en contact avec le MeHg (Hare, 1992), est de 22 jours. Cette valeur est comprise entre les temps de demi-vie déterminés pour l'amphipode *Hyaella azteca* (11-18 jours : Tsui et Wang, 2004; 40 jours : Lloyd, 1979) et l'écrevisse *Orconectes virilis* (2000 jours : Headon, 1994). Enfin, les sangsues qui se sont nourries des carcasses de perchaude enrichies atteignent les proportions de MeHg (%) et la signature isotopique des poissons morts dans un intervalle de temps compris entre 8 et 16 jours seulement (figure 2.4b, chapitre 2). Au début de l'expérience seulement 20% du Hg total dans les sangsues est sous forme de MeHg alors qu'après 8 jours, 80% du Hg est sous forme de MeHg (figure 2.4a, chapitre 2).

## 2) Carcasses de perchaudes

Les concentrations de Hg total, MeHg et  $^{202}\text{Hg}$  en excès diminuent significativement chez les perchaudes enrichies dont se nourrissent les sangsues au fur et à mesure du processus de décomposition (figure 2.5, chapitre 2). Cela suggère que soit : 1) *P. marmorata* ingère préférentiellement les tissus riches en Hg (Sawyer, 1986) soit, 2) que la décomposition bactérienne a résulté en la libération du Hg contenu dans les carcasses sous forme de  $\text{Hg}^0$  suite à la déméthylation du MeHg et/ou en la libération (i.e., solubilisation) directe de MeHg dans l'eau (Bloom et Kuhn, 1996; figure 1.3, chapitre 1).

## 3) Biofilm

Les concentrations de Hg total et de  $^{202}\text{Hg}$  en excès mesurées dans le biofilm augmentent fortement durant les 4 premiers jours pour ensuite décliner vers les niveaux de

base (figure 2.6b, chapitre 2) ce qui suggère que le Hg accumulé dans le biofilm est possiblement perdu sous forme de  $Hg^0$  (Bloom et Kuhn, 1996)

Un bilan de masse au sein des aquariums (figure 2.6c, chapitre 2) indique que la majorité du Hg (70%) contenu dans les carcasses de perchaudes est soit :1) perdu lors de la volatilisation du  $Hg^0$  suite à la déméthylation bactérienne du MeHg des carcasses soit, 2) libéré sous forme directe de MeHg dans l'eau (Bloom et Khun, 1996) et que 16% du Hg des carcasses est retrouvé dans les sangsues nécrophages. En terme de biodisponibilité, il est reconnu que le  $Hg^0$  est une espèce chimique du Hg qui ne s'accumule pas dans les organismes vivants à l'inverse du MeHg aqueux et tissulaire, dont la proportion atteint 80% du Hg total chez les sangsues après seulement 8 jours.

### B) Expérience de transplantation *in situ*

La décomposition des carcasses dans la zone littorale du lac 240 a été extrêmement rapide et la majorité des carcasses étaient complètement vidées de leur contenu après seulement 1.5 jours (figure 1.8). Cette décomposition rapide expliquerait par conséquent la raison pour laquelle on visualise peu de poissons morts en nature dans la zone littorale des lacs.



**Figure 1.8** Photographies de carcasses de perchaude après un séjour de 1.5 jours dans la zone littorale du lac 240.

On peut de se demander si cette décomposition rapide *in situ* est le résultat de l'intervention simultanée de : 1) plusieurs espèces de nécrophages, 2) d'un plus grand nombre de nécrophages appartenant à la même espèce (densité élevée). À la vue des résultats, la deuxième hypothèse est retenue. En effet, au cours des 11 jours de l'expérience *in situ*, nous avons prélevé deux espèces de sangsues, *P. marmorata* et *Macrobdella decora* ainsi que deux écrevisses *O. virilis*. Seuls les individus de *P. marmorata* ont présenté des

concentrations de  $^{202}\text{Hg}$  en excès et les concentrations mesurées chez ces derniers *in situ* sont équivalentes à celles mesurées en laboratoire durant les deux premiers jours d'exposition aux carcasses pour les individus de la même espèce (figure 2.6a, chapitre 2). Le fait que ces concentrations en  $^{202}\text{Hg}$  en excès *in situ* n'atteignent jamais celles élevées mesurées en laboratoire est expliquée par la mobilité de *P. marmorata* en nature en présence de nourriture. Cette hypothèse est validée par le fait que nous avons prélevé des individus *P. marmorata* enrichis en  $^{202}\text{Hg}$  à plus de 3 m des boîtes sous les pierres, suggérant que ces derniers sont venus se nourrir des carcasses enrichies pour ensuite aller se cacher sous les pierres à l'abri de leurs prédateurs naturels (poissons, oiseaux). Une expérience simple, consistant à placer le même nombre de trappes à sangsues (figure 1.4, chapitre 1) dans le lac 240 et dans le lac Laflamme permet d'affirmer que la densité des sangsues *P. marmorata* est nettement plus élevée dans le lac 240 (2 sangsues.m<sup>-2</sup> après seulement une nuit) que celle des sangsues *Haemopsis* sp. du lac Laflamme (0.16 sangsues seulement après 5 jours) et que, par conséquent, le temps requis pour décomposer les carcasses de poisson est spécifique au lac et dépend en grande partie de la structure et la densité des communautés des nécrophages.

## 6.2 Libération du mercure et des nutriments lors de la décomposition des carcasses de saumon au sein d'une frayère bordant le lac Ontario

Les résultats de cette étude sont résumés dans le manuscrit publié dans le journal *Limnology and Oceanography* (chapitre 3). Il importe de préciser que des résultats préliminaires issus de la maîtrise (Sarica, 2001) ont été insérés dans cette recherche et constituent un tiers des résultats (figure 3.1, chapitre 3). Tous les autres résultats découlent de cette recherche doctorale.

Il est maintenant établi que le frai des saumons du Pacifique augmente non seulement les concentrations aqueuses en phosphore, en azote et en carbone organique dissous mais aussi les concentrations des BPC dans les sédiments de leurs frayères natales (Krümmel *et al.*, 2003) par excrétion (gamètes et fèces) mais surtout lors de la décomposition de leur carcasse (Larkin et Slaney, 1997; Cederholm *et al.*, 2000; Krümmel *et al.*, 2003). Cette augmentation dans la concentration des nutriments peut stimuler : (1) la production primaire (Stockner et Shortreed, 1978; Peterson *et al.*, 1993; Cederholm *et al.*, 2000); (2) l'activité hétérotrophe (Sobczak, 1996) et (3) la production secondaire (Peterson *et al.*, 1993; Stockner et MacIsaac,

1996) ce qui accroît les chances de survie de la future génération des saumons (Hyatt et Stockner, 1985; Ward et Slaney, 1988; Kline *et al.*, 1990; Bilby *et al.*, 1996; Larkin et Slaney, 1997).

Dans le cadre de cette étude, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Hg et de nutriments ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , P, COD) au sein de composantes biotiques (invertébrés aquatiques et terrestres) et abiotiques (eau, sédiment) du système seraient altérées par la décomposition des carcasses de saumon après le frai. Nous avons échantillonné durant deux années consécutives (2000 et 2001) au sein d'une frayère ontarienne, tributaire du Lac Ontario, qui reçoit chaque année 20 000 saumons Quinnet (*Oncorhynchus tshawytscha*). Ces deux années contrastent par la présence exceptionnelle en 2001 d'un ours qui a prélevé toutes les carcasses à une station aval de la frayère. Nos résultats ont démontré que les stations d'échantillonnage, où les densités de carcasses étaient les plus élevées, présentaient des concentrations aqueuses de Hg total, MeHg, Hg total particulaire et de nutriments plus élevées que les stations où les densités de carcasses étaient les plus faibles (figures 3.3 et 3.4, chapitre 3). Ces augmentations ne sont pas une conséquence de l'hydrologie du ruisseau (i.e., variations temporelles du débit; figure 3.2, chapitre 3), ni le résultat de fuites au niveau des fosses septiques puisque les concentrations aqueuses d'*E. coli* ne varient pas avant et après le frai.

Les concentrations de Hg total mesurées dans les sédiments (figure 3.6, chapitre 3) présentent une grande variabilité inter et intra-station en fonction du temps. Parce que les sédiments peuvent être déplacés de l'amont vers l'aval durant des tempêtes (Sarica *et al.*, 2004a), il est difficile d'utiliser les sédiments comme variable pour faire un suivi du Hg provenant des saumons morts. Cette grande variabilité au sein des sédiments serait aussi probablement le résultat des saumons femelles qui les perturbent fortement au moment du frai pour y déposer leurs œufs.

Les concentrations de Hg total mesurées dans les invertébrés aquatiques et terrestres se nourrissant des carcasses de saumon ont augmenté jusqu'à 25 fois (tableau 3.1, chapitre 3). En milieu aquatique, les principaux taxa (collecteurs, déchetiques et prédateurs) collectés à la station avec une densité élevée de carcasses (station M1) étaient de 1.4 à 3.1 fois plus contaminés en Hg total que les individus du même genre prélevés aux stations témoins (stations GR et U1). De plus, les insectes échantillonnés après le frai 2001 à une station où se

décomposaient des carcasses (station M1) étaient de 1.4 à 2.0 fois plus contaminés en Hg que ceux collectés à ce même site avant le frai (tableau 3.1, excepté pour le prédateur *Hexatoma* sp., chapitre 3). Cette différence parmi les taxa semble être liée au niveau trophique de chaque taxa influençant ainsi le degré auquel ils ont accumulé le Hg provenant des saumons morts comme il l'a été démontré pour les nutriments (Chaloner et Wipfli, 2002). Les larves des mouches terrestres calliphoridés se nourrissant des carcasses de saumon échouées ont présentés des concentrations de Hg total 25 fois plus élevées que celles de leurs parents prélevés au moment de la ponte des œufs à la même station et deux fois plus élevées que les saumons morts (tableau 3.1, chapitre 3). Par conséquent, les larves nécrophages calliphoridés bioamplifient le Hg et le transfèrent du milieu aquatique vers le milieu terrestre (figure 3.8, chapitre 3).

En 2001, le prélèvement des carcasses par l'ours en aval, a engendré des baisses significatives dans les concentrations aqueuses de Hg et de nutriments comparées à celles mesurées au même endroit un an auparavant sans la présence de l'ours. Un budget préliminaire au sein de la frayère (figures 3.8 et 3.9, chapitre 3) suggère que: 1) les carcasses de saumon représentent une source importante de Hg et de nutriments pour les réseaux trophiques aquatiques et terrestres et que 2) les invertébrés (calliphoridés) et vertébrés terrestres (ours) peuvent être d'importants vecteurs de Hg du milieu aquatique vers le milieu terrestre en plus d'être d'importants vecteurs de nutriments (Gende *et al.*, 2004).

### 6.3 Le devenir du mercure accumulé par les larves calliphoridés se nourrissant des carcasses de poisson

Les résultats de cette étude sont résumés dans le manuscrit soumis en vue d'une publication dans le journal *Environmental Toxicology and Chemistry* (Chapitre 4). Tous ces résultats découlent de cette recherche doctorale.

Après le frai du saumon du Pacifique, il est désormais établi que de nombreuses carcasses retrouvées au sein de la frayère (i.e., 10 000 – 300 000 carcasses dépendant de l'intensité du frai en terme d'individus; Gende *et al.*, 2004) s'échouent et sont rapidement colonisées par les diptères calliphoridés femelles venant y pondre leurs œufs. Nous avons démontré que les larves de calliphoridés qui se nourrissent des carcasses de saumon échouées

pouvaient représenter un vecteur significatif de mercure des écosystèmes aquatiques vers les milieux terrestres durant les événements de mortalité massive rencontrés après le frai du saumon Quinnat (Sarica *et al.*, 2004b). Ces larves nécrophages bioamplifiaient le Hg provenant de saumons morts et étaient jusqu'à 25 fois plus contaminées en Hg que leurs parents. Nous avons voulu vérifier dans cette étude si ces larves possédaient un mécanisme naturel d'excrétion du Hg lors de leur développement postembryonnaire (encadré 4, cf. p.26).

Nos résultats ont clairement indiqué que les larves calliphoridés possédaient un mécanisme naturel d'excrétion du mercure puisqu'elles accumulaient le Hg des poissons morts jusqu'au stade pupal pour le perdre en grande quantité (jusqu'à 95% pour le MeHg) après avoir émergées (figures 4.1 et 4.2, chapitre 4). Les proportions de MeHg par rapport au Hg total ont augmenté de 30% chez les larves dont la taille est inférieure à 1 cm de longueur, de 65% chez celles dont la taille est supérieure à 1 cm de longueur pour atteindre 90% chez les larves parvenues au stade pupal, ce qui indique que le MeHg prélevé des carcasses de poisson est retenu en grande partie au cours du développement postembryonnaire. Le facteur de concentration calculé pour chacun de ces stades est en effet de 0.6 pour les petites larves, 1.0 pour les grandes larves et 1.9 pour les pupes. Nuorteva et Nuorteva (1982) ont démontré en laboratoire que les larves calliphoridés se dépuraient naturellement de leur Hg après leur émergence *via* le meconium. Les concentrations ainsi que les quantités de Hg total (figure 4.1, chapitre 4) et de MeHg (figure 4.2, chapitre 4) mesurées chez les adultes calliphoridés venant pondre les œufs et chez les adultes venant d'émergés sont identiques ce qui appuie fortement les conclusions de ces auteurs. Le devenir de ce Hg excrété *via* le meconium dans l'environnement n'est pas encore connu à ce jour.

## 6.4 Conclusion

Cette thèse est la première à s'intéresser au devenir du Hg bioaccumulé dans les poissons lors de deux cas contrastés de mortalité naturelle des poissons: 1) lors de la mortalité annuelle des poissons dans les lacs; 2) lors de la mortalité massive du saumon Quinnat en rivière.

Dans le cas de la mortalité massive des saumons, nos résultats démontrent que l'excrétion du Hg suite à la décomposition de carcasses de saumon présente un impact écosystémique non seulement sur les ruisseaux eux-mêmes mais aussi sur l'environnement

terrestre connexe à ces systèmes via l'action des vertébrés et invertébrés nécrophages. En effet, après la décomposition des carcasses de saumon, la chimie de l'eau peut être complètement altérée et les concentrations aqueuses de nutriments et de Hg (dont le MeHg) peuvent augmenter jusqu'à 25 fois. Ces augmentations dans les concentrations aqueuses de Hg se répercutent sur les concentrations tissulaires de Hg au sein des invertébrés aquatiques. Les invertébrés terrestres nécrophages calliphoridés qui se nourrissent de carcasses de saumon échouées ou à moitié immergées bioamplifient le Hg des saumons morts pouvant représenter, par conséquent, un important transfert de Hg du milieu aquatique vers le milieu terrestre. Cependant, il semble qu'en présence de prédateurs terrestres comme des ours, le recyclage du mercure issu des saumons morts est complètement modifié. En effet, un budget préliminaire indique que 80% de ce Hg peut être transféré du milieu aquatique vers le milieu terrestre par de tels prédateurs.

Les larves nécrophages calliphoridés présentent des concentrations de Hg très élevées par rapport à celles mesurées chez leurs parents en plus de bioamplifier le Hg des saumons morts dont elles se nourrissent. Nos résultats démontrent que les larves possèdent un mécanisme d'excrétion naturel du Hg (inorganique et organique) juste après l'émergence via le méconium. Nous concluons, par conséquent, que seules les larves et non les adultes calliphoridés représentent un risque réel de contamination en Hg pour leurs prédateurs naturels (oiseaux, insectes, jeunes saumons etc.). Le devenir du MeHg lié au méconium dans l'environnement n'est pas encore connu.

Dans le cas de mortalité plus faible de poissons en milieu lacustre, bien que nous ne démontrions pas un impact écosystémique du Hg provenant de ces carcasses, nous prouvons que des transferts directs de Hg existent à un niveau trophique jusqu'alors complètement ignoré (i.e, les nécrophages). Nos résultats indiquent que les sangsues se nourrissent des poissons morts et que leur proportion de MeHg par rapport au Hg total atteint 80% après seulement 8 jours d'exposition aux carcasses alors que sans poissons morts, le pourcentage de MeHg dans les sangsues est de 20%. Un budget du  $^{202}\text{Hg}$  en aquarium suggère que les sangsues représentent 16% de ce recyclage et que les « pertes » comptent pour 70%. Par pertes, on entend : perte par volatilisation du  $\text{Hg}^0$ , solubilisation du MeHg et adsorption sur les parois de l'aquarium. Le biofilm est responsable de la formation du  $\text{Hg}^0$  suite à la déméthylation bactérienne du MeHg suivie d'une réduction bactérienne ainsi que de la solubilisation du MeHg. Cependant, l'extrapolation de ces résultats en nature est dangereuse

car le nombre de sangsues interagissant avec les carcasses peut être plus élevé et la présence de brouteurs peuvent tous deux diminuer l'activité du biofilm.

Que ce soit en milieu lacustre ou en rivière, cette recherche doctorale constitue un premier pas afin d'établir un budget final du Hg libéré par les poissons morts au sein des systèmes aquatiques. D'autres études sont nécessaires pour y parvenir, entre autres, il serait intéressant de connaître, dans le cas de la mortalité massive des saumons, le taux d'ingestion des invertébrés terrestres et aquatiques par les jeunes saumons ainsi que la proportion des carcasses consommées par les ours et autres vertébrés (reptiles, oiseaux, mammifères). En milieu lacustre, il est nécessaire de connaître le taux annuel de mortalité naturelle non liée à la prédation des poissons de même que le taux d'ingestion des nécrophages et des brouteurs par leurs prédateurs naturels à l'échelle du lac.



---

## 7. Bibliographie

---

Allen M.S., Miranda L.E. et Brock R.E. (1998) Implications of compensatory and additive mortality to the management of selected sportfish populations. *Lakes Reserv. Res. Manag.*, **3**, 67-79.

Alverson D.L., Freeberg M.H., Murawski S.A. et Pope J.G. (1994) A global assessment of fisheries bycatch and discards. *FAO Fisheries Technical Paper*, Rome, 233 pp..

Barica J., Gibson J. et Howard W. (1983) Feasibility of snow clearing to improve dissolved oxygen conditions in a winterkill lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**, 1526-1531.

Berryman D. et Jalbert L. (2003) La rivière Bourlamaque : mortalité de poissons du 8 août 2003 et qualité de l'eau, Québec, Ministère de l'Environnement, direction du suivi de l'état de l'environnement et direction régionale de l'Abitibi-Témiscamingue, Envirodoq noenv/2004/0109, collection no qe/140, 37 pp..

Bilby R.E., Fransen B.R. et Bisson P.A. (1996) Incorporation of nitrogen and carbon from spawning coho salmon into the trophic system of small streams - evidence from stable isotopes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **53**, 164-173.

Bloom N.S. et Kuhn E. (1996) Time course speciation of mercury release during the natural decay of fish tissue in freshwater. *Frontier Geosciences Inc.*, 7 pp..

Bozzano A. et Sardà F. (2002) Fishery discard consumption rate and scavenging activity in the northwestern Mediterranean Sea. *J. Mar. Sci.*, **59**, 15-28.

Carpenter S.R., Chiholm S.W., Krebs C.J., Schindler D.W. et Wright R.F. (1995) Ecosystem experiments. *Science*, **269**, 324-327.

Cederholm C.J., Johnson D.H., Bilby R.E., Dominguez L.G., Garrett A.M., Graeber W.H., Greda E.L., Kunze M.D., Marcot B.G., Palmisano J.F., Plotnikoff R.W., Percy W.G., Simenstad C.A. et Trotter P.C. (2000) Pacific salmon and wildlife - Ecological contexts, relationships, and implications for management. Special edition technical report, prepared for

D.H. Johnson and T.A. O'Neil (Manag. Dirs.), wildlife-habitat relationships in Oregon and Washington. Washington Department of Fish and Wildlife, Olympia, WA, U.S.A., pp. 138.

Chaloner D.T. et Wipfli M.S. (2002) Influence of decomposing Pacific salmon carcasses on macroinvertebrate growth and standing stock in southeastern Alaska streams. *J. N. Amer. Benthol. Soc.*, **21**(3), 430-442.

Compeau G. et Bartha R. (1984) Methylation and demethylation of mercury under control redox, pH, and salinity conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 1203-1207.

Compeau G. et Bartha R. (1987) Effect of salinity on mercury-methylating activity of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 261-265.

Clark W.G. (1999) Effects of an erroneous natural mortality rate on a simple age-structured stock assessment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **56**, 1721-1731.

Clarkson T.W. (1976) Exposition au méthylmercure dans les réservoirs Grassy Narrows et White dog. Rapport provisoire. Ministère de la Santé et du Bien-Etre Social, Toronto, ON, 51-58.

Clarkson T.W. (1990) Human health risks from methylmercury in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 821-823.

Craig P.J. et Bartlett P.D. (1978) The role of hydrogen sulphide in environmental transport of mercury. *Nature*, **275**, 635-637.

Craig J.F. (1984) Aging in fish. *Can. J. Zool.*, **63**, 1-8.

Cunningham P.A. et Tripp M.R. (1975) Accumulation, tissue distribution and elimination of  $^{203}\text{HgCl}_2$  and  $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$  in the tissues of American oyster, *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*, **31**, 321-334.

Danylchuk A.J. et Tonn W.M. (2003) Natural disturbances and fish: local and regional influences on winterkill of fathead minnows in boreal lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **132**, 289-298.

Davies, R.W., Gates, T.E., 1991. Intra- and interspecific differences in the response of two lentic species of leeches to seasonal hypoxia, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 1124-1127.

DeMelo R., France R. et McQueen D.J. (1992) Biomanipulation : Hit or myth ?, *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 192-207.

DeVault T.R., Rhodes O.E. Jr. et Shivik J.A. (2003) Scavenging by vertebrates: behavioural, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems, *Oikos*, **102**, 225-234.

D'Itra P.A. et D'Itra F.W. (1977) Mercury contamination: a human tragedy. Ed. John Wiley et Sons, Inc. New York, New York, pp. 311.

Driscoll C.T., Yan C., Schofield C.L., Munson R. et Holsapple J. (1994) The chemistry and bioavailability of mercury in remote Adirondack lakes. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 136-142.

Dutil J.D., Lambert Y. et Chabot D. (2003) Winter and spring changes in condition factor and energy reserves of wild cold compared with changes observed during food-deprivation in the laboratory. *J. Mar. Sci.*, **60**, 780-786.

Fowler S.W., Heyraud M. et La Rosa J. (1978) Factors affecting methyl and inorganic mercury dynamics in mussels and shrimp. *Mar. Biol.*, **46**, 267-276.

Gavis J. et Fergusson J.F. (1972) The cycling of mercury through the environment. *Water Res.*, **6**, 989-997.

Gende S.M., Quinn T.P., Willson M.F., Heintz R. et Scott T.M. (2004) Magnitude and fate of salmon-derived nutrients and energy in a coastal stream ecosystem, *J. Freshwat. Ecol.*, **19**, 149-160.

Gilmour C.C. et Henry E.A. (1991) Mercury methylation in aquatic system affected by acid deposition. *Environ. Pollut.*, **71**, 131-169.

Gobeil C. et Cossa D. (1993) Mercury in sediments and sediment pore water in the Laurentian Trough, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50**, 1794-1800.

Gobeil C., MacDonald R.W. et Smith J.N. (1999) Mercury profiles in sediments of the Arctic Ocean basins. *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 4194-4198.

Grieb T.M., Driscoll S.P., Gloss S.P., Schofield C.L., Bowie G.L. et Porcella D.B. (1990) Factors affecting mercury accumulation in fish in the upper Michigan peninsula. *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 919-930.

Groenewold S. et Fonds M. (2000) Effects on benthic scavengers of discards and damaged benthos produced by the beam-trawl fishery in the southern North Sea. *J. mar. Sci.*, **57**, 1395-1406.

Gullan et Cranston (1994) The insects: an Outline of entomology. Ed. P.J. Gullan et P.S. Cranston, Chapman & Hall, London, Great Britain, pp. 491.

Hare L. (1992) Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.*, **22**, 327-369.

Headon C.M. (1994) Assimilation and depuration of methylmercury by crayfish (*Orconectes virilis*). M. Sc. Thesis, Trent University, Peterborough, ON, 104 pp.

Hesthagen T. et Jonsson B. (2002) Life history characteristics of brown trout in lakes at different stages of acidification. *J. Fish Biol.*, **60**, 415-426.

Hintelmann H. et Ogrinc N. (2003) Determination of stable mercury isotopes by ICP/MS and their application in environmental studies. Dans *Biogeochemistry of environmentally important trace elements*. Ed. Y. Cay et C.O. Braids, ACS Symp. Ser. 835, Washington, DC, U.S.A., 321-338.

Holmlund C.M. et Hammer M. (1999) Ecosystem services generated by fish populations. *Ecol. Econ.*, **29**, 253-268.

Hudson R.J.M., Gherini S.A., Fitzgerald W.F. et Porcella D.B. (1994) Anthropogenic influences on the global mercury cycle: a model-based analysis. *Water Air Soil Pollut.*, **80**, 265-272

Hyatt K.D. et Stockner J.G. (1985) Responses of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) to fertilization of British Columbia coastal lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **42**, 320-331.

Jernelöv A. (1970) Release of methylmercury from sediments with layers containing inorganic mercury at different depths. *Limnol. Oceanogr.*, **15**, 958-964.

Kipling C. et Frost W.E. (1970) A study of the mortality, population numbers, year class strengths, production and food consumption of pike, *Esox lucius*, in Windermere from 1944 to 1962. *J. Anim. Ecol.*, **39**, 115-157.

Kline T.C., Goering J.J., Mathisen O.A. et Poe P.H. (1990) Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific Salmon- $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{N}$  evidence in Sashin Creek, southeastern Alaska, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 136-144.

Krümme E.M., Macdonald R.W., Kimpe L.E., Gregory-Eaves I., Demers M.J., Smol J.P., Finney B. et Blais J.M. (2003) Delivery of pollutants by spawning salmon, *Nature*, **425**, 255-256.

Larkin G.A. et Slaney P.A. (1997) Implications of trends in marine-derived nutrient influx to south coastal British Columbia salmonid production. *Fisheries*, **22**, 16-24.

Lean D.R.S. et Siciliano S.D. (2003) Production of methylmercury by solar radiation. *J. Phys. IV France*, **107**, 743-747.

Lindqvist O. (1991) Mercury in the Swedish environment: physical/chemical forms of mercury. *Water Air Soil Pollut.*, **80**, 715-724.

Lloyd K.M. (1979) Bioaccumulation dynamics of mercury in the detritus-feeding benthic invertebrate, *Hyalella azteca*. M. Sc. Thesis, University of Ottawa. Ottawa, ON, 98 pp.

Lorenzen K. (1996) The relationship between body weight and natural mortality in juvenile and adult fish: a comparison of natural ecosystems and aquaculture, *J. Fish Biol.*, **49**, 627-647.

Mackenzie B.R., Almesjö L. et Hansson S. (2004) Fish, fishing, and pollutant reduction in the Baltic Sea. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 1970-1976.

Mason R.P., Fitzgerald W.F. et Morel F.M.M. (1994) The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 3191-3198.

Mason R.P., Reinfelder J.R. et Morel F.M.M. (1996) Uptake, toxicity, and trophic transfer of mercury in a coastal diatom. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 1835-1845.

Mason R.P. et Sheu G.R. (2002) Role of the ocean in the global mercury cycle. *Global Biogeochem. Cycles*, **16(4)**, 40-1-40-14.

Matilainen T., Verta M., Niemi M. et Uusi-Rauva (1991) Specific rates of net methylmercury production in lake sediments. *Water Air Soil Pollut.*, **56**, 595-605.

Meili M. (1991) Fluxes, pools, and turnover of mercury in Swedish forest lakes. *Water, Air Soil Pollut.*, **56**, 719-727.

Mills K.H., Chalanchuk S.M. et Allan D.J. (2002) Abundance, annual survival, and recruitment of unexploited and exploited lake charr, *Salvelinus namaycush*, populations at the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario, *Environ. Biol. Fish.*, **64**, 281-292.

Morel F.M.M., Kraepiel A.M.L. et Amyot M. (1998) The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **29**, 543-566.

Nakashima B.S. et Leggett W.C. (1980) The role of fishes in the regulation of phosphorus availability in lakes, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**, 1540-1549.

Naylor R.L., Goldberg R.J., Primavera J.H., Kautsky N., Beveridge M.C.M., Clay J, Folke C., Lubchenco J., Mooney H. et Troell M. (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies, *Nature*, **405**, 1017-1024.

Nuorteva P. et Nuorteva S.L. (1982) The fate of mercury in sarcosaprophagous flies and in insects eating them. *Ambio*, **11**, 34-37.

Nriagu J.O. (1983) Rapid decomposition of fish bones in Lake Erie sediments. *Hydrobiologia*, **106**, 217-222.

Olson K.R., Squibb K.S. et Cousins R.J. (1978) Tissue uptake, subcellular distribution, and metabolism of  $^{14}\text{CH}_3\text{HgCl}$  and  $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$  by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **35**, 381-387.

Pauly D. (1980) On the interrelationships between natural mortality, growth parameters, and mean environmental temperature in 175 fish stocks, *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, **39**, 175-192.

Peterson B.J., Deegan L., Helfrich J., Hobbie J.E., Hullar M., Moller B., Ford T.E., Hershey A., Hiltner A., Kipphut G., Lock M.A., Fiebig D.M., McKinley V., Miller M.C., Vestal J.R., Ventullo R. et Volk G. (1993) Biological responses of an arctic river to fertilization. *Ecology*, **74**, 653-672.

Pitcher T.J., Watson R., Forrest R., Valtysson H.P. et Guénette S. (2002) Estimating illegal and unreported catches from marine ecosystems : a basis for change, *Fish and Fisheries*, **3**, 317-339.

Porcella D.B. (1994) Mercury in the environment : Biogeochemistry. Dans *Mercury Pollution-Integration and Synthesis*. Ed. C.J. Watras et J.W. Huckabee, Boca Raton, FL, U.S.A., 3-9.

Priede I.G., Smith K.L. Jr. et Armstrong J.D. (1990) Foraging behavior of abyssal grenadier fish: inferences from acoustic tagging and tracking in the North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res.*, **37**, 81-101.

Rada R.G., Wiener J.G., Winfrey M.R. et Powl D.E. (1989) Recent increases in atmospheric deposition of mercury to north-central Wisconsin lakes inferred from sediment analyses. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**, 175-180.

Rangaswamy C.P. (1976) Estimation of total mortality rates of *Mugil cephalus* in Pulicat lake. *Indian J. Fish.*, **21**, 588-590.

Rask M., Jarven M., Kuoppamaki K. et Poysa H. (1996) Limnological responses to the collapse of the perch population in a small lake. *Ann. Zool. Fennici*, **33**, 517-524.

Rasmussen P.E. (1994) Current methods of estimating atmospheric mercury fluxes in remote areas. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2233-2241.

Rawstron R.R. et Hashagen K.A. (1972) Mortality and survival rates of tagged largemouth bass (*Micropterus salmoides*) at Merle Collins Reservoir. *Calif. Fish. Game*, **58**, 221-230.

Reinfelder J.R., Fisher N.S., Luoma S.N., Nichols J.W. et Wang W.X. (1998) Trace element trophic transfer in aquatic organisms: a critique of the kinetic model approach. *Sci. Total Environ.*, **219**, 117-135.

Reznick D., Ghalambor C. et Nummery L. (2002) The evolution of senescence in fish. *Ageing Develop.*, **123**, 773-789.

Ricker W.E. (1945) Natural mortality among Indiana bluegill sunfish. *Ecology*, **26**, 111-121.

Riisgaard H.U., Kiorboe T., Mohlenberg F., Drabaek I. et Madsen P.P. (1985) Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica*. *Mar. Biol.*, **86**, 44-62.

Robinson J.B. et Tuovinen O.H. (1984) Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds – physiological, biochemical and genetic analyses. *Microbiol. Reviews*, **48**, 95-124.



Sarica J. (2001) Les carcasses de poisson: vecteurs de mercure dans les eaux douces ? MSc thesis, Institut national de la recherche scientifique (INRS)-Eau, Sainte-Foy, QC, Canada.

Sarica J., Amyot M. et Hare L. (2004a) An easy method to measure total particulate Hg in water without chemical digestion, *Water Air Soil Pollut.*, **151**, 3-10.

Sarica J., Amyot M., Hare L., Doyon M.R. et Stanfield L.W. (2004b) Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream. *Limnol. Oceanogr.*, **49**, 891-899.

Savenkoff C. et Castonguay M. (2003) L'écosystème du nord du golfe du Saint-Laurent (milieu des années 1980). *Le Naturaliste Canadien*, **127**, 84-88.

Sawyer R.T. (1986) Ecology of freshwater leeches. Dans *Leech biology and behaviour. II. Feeding biology, ecology, and systematics*. Ed. R.T. Sawyer. Clarendon Press Oxford, New-York, pp.524-589.

Schneider J.C. (1997) Fate of dead fish in a small lake. *Amer. Midl. Nat.*, **140**, 192-196.

Schuster P.F., Krabbenhoft D.P., Naftz D.L., Cecil L.D., Olson M.L., Dewild J.F., Susong D.D., Green J.R. et Abbott M.L. (2002) Atmospheric mercury deposition during the last 270 years: a glacial ice core record of natural and anthropogenic sources. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2303-2310.

Scott W.B. et Crossman E.J. (1974) Poissons d'eau douce du Canada. Bulletin 184. Office des recherches sur les pêcheries du Canada, Ottawa, ON, Canada, pp.1026.

Seigneur C., Vijayaraghavan K., Lohman K., Karamchandani P. et Scott C. (2004) Global source attribution for mercury deposition in the United States. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 555-569.

Sellers P., Kelly C.A., Rudd J.W.M. et MacHutchon A.R. (1997) Photodegradation of methylmercury in lakes. *Nature*, **380**, 694-697.

Smith C.R. (1985) Food for the deep sea: utilization, dispersal, and flux of nekton falls at the Santa Catalina Basin floor. *Deep-Sea Res.*, **32**, 417-442.

Smith R.L. et Smith T.M. (1998) Trophic structure. In: Smith, R.L., Smith, T.M. (Eds.), *Elements of Ecology*, fourth edition, Benjamin/Cummings Science Publishing, San Francisco, CA, pp. 328-341.

Sobczak W.V. (1996) Epilithic bacterial responses to variations in algal biomass and labile dissolved organic carbon during biofilm colonization. *J. N. Amer. Benthol. Soc.*, **15**, 143-154.

Sorensen E.M. (1991) Mercury. Dans *Metal poisoning in fish*. Ed. Elsa M.B. Sorensen, CRC Press. Boca Raton, FL, U.S.A., 285-331.

Sparholt H., Larsen L.I. et Nielsen J.R. (2002) Non-predation mortality of Norway pout (*Trisopterus esmarkii*) in the North Sea. *J. Mar. Sci.*, **59**, 1276-1284.

Spry D.J. et Wiener J.G. (1991) Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes : a critical review. *Environ. Pollut.*, **71**, 243-304.

St. Louis V., Rudd J.W.M., Kelly C.A. et Barrie L.A. (1995) Wet deposition of methylmercury in northwestern Ontario compared to other geographic locations. *Water Air Soil Pollut.*, **80**, 405-414.

Stockner J.G. et Shortreed K.R.S. (1978) Enhancement of autotrophic production by nutrient addition in a coastal rainforest stream on Vancouver island. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **35**, 28-34.

Stockner J.G. et MacIsaac E.A. (1996) British Columbia lake enrichment programme : two decades of habitat enhancement for sockeye salmon. *Regul. Rivers Res. Manage.*, **12**, 547-561.

Summers A.O. et Silver S. (1978) Microbial transformations of metals. *Ann. Rev. Microbiol.*, **32**, 637-644.

Swain E.B., Engstrom D.R., Brigham M.E., Henning T.A. et Brezonik P.L. (1992) Increasing rates of atmospheric mercury deposition in midcontinental North America. *Science*, **257**, 784.

Takizawa Y. (2000) Understanding Minamata disease and strategies to prevent further environmental contamination by methylmercury. *Water Sci. Technol.*, **42**, 139-146.

Trudel M. et Rasmussen J.B. (1997) Modeling the elimination of mercury in fish. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 1716-1722.

Tsui T.K. et Wang W.X. (2004) Uptake and elimination routes of inorganic mercury and methylmercury in *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 808-816.

Twining B.S. et Fisher N.S. (2004) Trophic transfer of trace metal from protozoa to mesozooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **49**, 28-39.

Ullrich S.M., Tanton T.W. et Abdrashitova S.A. (2001) Mercury in the aquatic environment : a review of factors affecting methylation. *Crit. Rev. Env. Sci. Tech.*, **31**, 241-293.

Vanni M.J., Luecke C., Kitchell J.F., Allen Y., Temte J. et Magnusson J.J. (1990) Effects on lower trophic levels of massive fish mortality. *Nature*, **344**, 333-335.

Ward B.R. et Slaney P.A. (1988) Life history and smolt-to-adult survival of Keogh River steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and the relationship to smolt size. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1110-1122.

Warren C.E., Wales J.H., Davis G.E. et Doudoroff P. (1964) Trout production in an experimental stream enriched with sucrose. *J. Wildl. Manag.*, **28**, 617-660.

Watras C.J. et Bloom N.S. (1992) Mercury and methylmercury in individual zooplankton - implication for bioaccumulation. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 1313-1318.

Watras C.J., Bloom N.S., Hudson R.J.M., Gherini S., Munson R., Claas S.A., Morrison K.A., Hurley J., Wiener J.G., Fitzgerald W.F., Mason R.P., Vandal G., Powell D., Rada R., Rislov L., Winfrey M., Elder J., Krabbenhoft D., Andren A.W., Babiartz C., Porcella D.B. et Huckabee J.W. (1994) Sources and fates of mercury and methylmercury in Wisconsin lakes. In: Proceedings of the 2<sup>nd</sup> international conference on mercury as an environmental pollutant, Lewis Pub., Boca Raton, 153-180 pp..

Watras C.J., Morrison K.A., Host J.S. et Bloom N.S. (1995) Concentration of mercury species in relationship to other site-specific factors in the surface waters of northern Wisconsin lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 556-565.

Wilson R.R. Jr. et Smith K.L. Jr. (1984) Effect of near-bottom currents on detection of bait by the abyssal grenadier fishes *Coryhaenoides* sp., recorded *in situ* with a video camera on a free vehicle. *Mar. Biol.*, **84**, 83-91.

Winfrey M.R. et Rudd J.W.M. (1990) Environmental factors affecting the formation of methylmercury in low pH lakes. *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 853-869.

Wright D.R. et Hamilton R.D. (1982) Release of methylmercury from sediments: effects of mercury concentration, low temperature and nutrient addition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 1459-1466.

Yau C., Collins M.A., Bagley P.M., Everson I. et Priede I.G. (2002) Scavenging by megabenthos and demersal fish on the South Georgia slope. *Antarc. Sci.*, **14**, 16-24.

---

# Chapitre 2 : Mercury transfer from fish carcasses to scavengers in boreal lakes: the use of stable isotopes of mercury (article 1)

---

José Sarica<sup>1</sup>, Marc Amyot<sup>2</sup>, Landis Hare<sup>1</sup>, Paul Blanchfield<sup>3</sup>, R.A. (Drew) Bodaly<sup>3</sup>, Holger Hintelmann<sup>4</sup> and Marc Lucotte<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Institut National de la Recherche Scientifique (INRS) - Eau, Terre et Environnement, Université du Québec, C.P. 7500, Sainte-Foy, QC, G1V 4C7, Canada;

<sup>2</sup> Département des sciences biologiques, Université de Montréal, C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, QC, H3C 3J7, Canada;

<sup>3</sup> Freshwater Institute, Fisheries and Oceans Canada, 501 University Crescent, Winnipeg, MB, R3T 2N6, Canada;

<sup>4</sup> Department of Chemistry, Trent University, 1600 West Bank Drive, Peterborough, ON, K9J 7B8, Canada; [hhintelmann@trentu.ca](mailto:hhintelmann@trentu.ca);

<sup>5</sup> Institut des sciences de l'environnement, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-ville, Montréal, QC, H3C 3P8, Canada.

Environmental Pollution (sous presse)

## Résumé

Les nécrophages jouent un rôle important dans le flux de l'énergie, de la matière et des polluants au sein des réseaux trophiques. Dans le cas du méthylmercure (MeHg), qui se bioamplifie le long des réseaux trophiques aquatiques, le mouvement de ce composé organométallique des carcasses de poisson vers les nécrophages n'a encore jamais été démontré. Nous avons mesuré les transferts de MeHg des carcasses de poisson vers les sangsues nécrophages dans deux lacs boréaux et en laboratoire. Les résultats obtenus lors d'une expérience préliminaire *in situ* ont indiqué que les sangsues étaient fortement attirées par les carcasses de poisson et que leurs concentrations de Hg augmentaient jusqu'à un facteur 5 durant le temps d'exposition aux poissons morts. Dans le but de mesurer des transferts directs de Hg en conditions contrôlées, nous avons nourri des sangsues avec des carcasses de poissons naturellement enrichies en  $^{202}\text{Hg}$ . Les sangsues ont rapidement accumulé le Hg de ces poissons morts et en moins de deux semaines ont atteint la signature isotopique de ces carcasses. Les invertébrés nécrophages, comme les sangsue, pourraient ainsi retourner en partie le Hg des carcasses de poisson vers d'autres niveaux trophiques au sein des lacs.

**Abstract**

Scavengers play an important role in the flow of energy, matter and pollutants through food webs. In the case of methylmercury (MeHg), which biomagnifies along aquatic food chains and can reach very high concentrations in fish, the movement of this metal from fish carcasses to aquatic scavengers has never been demonstrated. We measured the transfer of MeHg from fish carcasses to scavenging leeches in two boreal lakes and in the laboratory. The results of an initial field experiment indicated that leeches were strongly attracted to fish carcasses and that their Hg concentrations increased by as much as a factor of 5 during the time that Hg-rich fish were available for consumption. To measure the transfer of Hg under controlled conditions, we exposed leeches to  $^{202}\text{Hg}$ -labelled fish that had been marked *in situ* following a whole lake  $^{202}\text{Hg}$  addition. Leeches rapidly accumulated Hg from fish carcasses, and within two weeks assumed the isotopic signature of the carcasses. Necrophagous invertebrates such as leeches could therefore return Hg from fish carcasses to other trophic levels in lakes.

Key words: scavengers, leeches, fish carcasses, methylmercury, stable isotopes of mercury

## 1. Introduction

Methylmercury (MeHg) is a neurotoxicant that is accumulated by aquatic organisms and biomagnified along food chains (Porcella, 1994; Morel et al., 1998; Ullrich et al., 2001). Even lakes remote from point sources can have high mercury (Hg) concentrations because inorganic Hg is carried over great distances in the atmosphere and can be methylated locally (Fitzgerald et al., 1998). Because Hg biomagnifies along aquatic food chains, the majority of the MeHg present in the water column of lakes is in fish (Porcella, 1994; Watras et al., 1994). When these fish die, their Hg could be recycled (Sarica et al., 2004b). The mortality of fish can result from a variety of causes including senescence (Ricker, 1945; Schneider, 1997; Savenkoff and Castonguay, 2003), starvation (Lambert and Dutil, 1997; Dutil and Lambert, 2000; Savenkoff and Castonguay, 2003), depleted oxygen (Barica et al., 1983; Danylchuk and Tonn, 2003), or industrial accidents (Naylor et al., 2000). The nutrients (DeVault et al., 2003) and MeHg in fish carcasses do not necessarily enter the microbial loop but can be assimilated by scavengers such as leeches. Because fish carcasses represent a large potential source of MeHg for aquatic scavengers, we set out to determine if MeHg is indeed transferred from carcasses to necrophagous invertebrates in the field and in the laboratory.

First, we carried out a preliminary experiment in a small boreal lake in southern Quebec (Lake Laflamme) to monitor the succession of freshwater invertebrates on fish carcasses and to measure Hg concentrations in these scavengers during carcass decomposition. Based on these initial findings, we designed parallel laboratory and field experiments in which we followed the uptake of  $^{202}\text{Hg}$  by scavengers from yellow perch that had been exposed to this stable Hg isotope in another boreal lake (Lake 658, Experimental Lakes Area (ELA), Ontario). Through this combination of field and laboratory experiments, we hope to determine if Hg in fish carcasses is likely to be taken up by scavengers in nature.

## 2. Methods

### 2.1. Field experiment in Lake Laflamme

Ultra-clean techniques associated with mercury sampling were used in this study. Sample bottles and laboratory glassware were acid washed with 15%  $\text{HNO}_3$  (v/v), 1%  $\text{HCl}$  (v/v) and carefully rinsed seven times with ultrapure water (Milli-Q system water,  $> 18 \text{ Mohm}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) while wearing unpowdered latex gloves.



In early June 2000, 24 carcasses of smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) were placed at a depth of 2 meters in the littoral zone of Lake Laflamme (47°19'N, 71°07'W), a boreal lake located just north of Quebec City, Quebec, Canada. Littoral zones of lakes are considered to be sites of natural fish mortality because they are the feeding and spawning grounds for many fish (Elder and Smith, 1988). Furthermore, carcasses were placed on sediment because dead fish are assumed to sink to the lake bottom at the low temperatures encountered during our experiment (10-15°C; Parker 1970; Elder and Smith, 1988). Individual carcasses, set 5 m apart, were placed on large-mesh plastic screens (2.8 x 2.1 cm aperture) and anchored to the sediments using cords and stakes. Additional screening was installed above half of the fish carcasses to restrict feeding by vertebrates (referred to as "protected carcasses"). Carcasses were grouped into three classes according to their total length: class 1 = 20-25 cm; class 2 = 25-30 cm and class 3 = 30-45 cm.

Divers collected two fish of each size class (one protected and one unprotected) on 1, 6, 13 and 20 d after the fish were placed in Lake Laflamme. The majority of carcasses were completely decomposed by day 20. Each carcass was gently placed in a plastic box while underwater to retain associated scavengers. Divers then used cores (4.4 cm diam. x 10 cm) to collect sediments underlying and adjacent to carcasses, as well as at a nearby control site without carcasses. Invertebrates were also collected in cores (7.8 cm diameter x 15 cm) from sediment underlying and adjacent to the carcasses. Lastly, additional invertebrates were obtained by dragging a benthic net (0.5 mm mesh aperture) along the sediment situated on one side of each fish carcass. In the laboratory, approximately 0.25g (wet weight) of fish dorsal muscle was placed in plastic bags and frozen. The uppermost centimeter was removed from each sediment core and frozen in a high-density polyethylene container. Invertebrates were sorted to the lowest taxonomic level possible (Klemm, 1985; Merrit and Cummins, 1996) and allowed to depurate for 48 h to eliminate Hg bound to gut contents. They were then placed on Teflon sheets in either 1.5 ml high-density polyethylene microcentrifuge tubes (small invertebrates; Croteau et al., 2001) or in a Petri dish (large invertebrates; Hare et al., 1989) and frozen.

## 2.2. Laboratory and field experiments at ELA

To measure Hg transfer from fish carcasses to necrophagous leeches, we used <sup>202</sup>Hg-rich yellow perch (*Perca flavescens*) from Lake 658 (latitude and longitude: 49° 44'N, 93°

44°W; ELA, Ontario, Canada); this lake had been spiked in June 2001 with three stable isotopes of Hg (including  $^{202}\text{Hg}$ ) as part of the whole-ecosystem experiment (METAALICUS: Mercury Experiment to Assess Atmospheric Loadings in Canada and the United States). As a result, the yellow perch used in our laboratory and field experiments have a specific isotopic signature for  $^{202}\text{Hg}$  that they acquired in the wild. Yellow perch were caught by gill nets with mesh sizes of either 8 mm or 10 mm (2-m high x 15-m long). Gill nets were set for short periods of time (<15 min) and captured yellow perch were immediately anaesthetized in clove oil and then transported on ice back to the ELA field station.

### 2.2.1. ELA Laboratory experiments

In separate experiments, we measured: (1)  $^{202}\text{Hg}$  uptake by leeches and biofilm from  $^{202}\text{Hg}$ -labelled yellow perch; (2)  $^{202}\text{Hg}$  loss from leeches that had fed on these perch. We also measured N isotope ratios in scavengers and carcasses.

To measure Hg transfer from carcasses to scavengers and biofilm, a total of 78 leeches (*Percymoorensis marmorata*; mean ( $\pm$  standard deviation: SD) dry weight of  $0.45 \pm 0.10$  g) were collected from ELA Lake 240, to which no Hg isotopes had been added. Ten leeches were immediately frozen to determine initial Hg concentrations and five were sacrificed for taxonomic identification. Forty leeches were placed in five aquaria (8 leeches per aquarium), and thirteen in a sixth aquarium that served as a control. Nine isotopically enriched, freshly-killed yellow perch (age 0; mean ( $\pm$  SD) length of  $9.0 \pm 0.4$  cm and dry weight of  $1.8 \pm 0.2$  g) from Lake 658 were placed in each aquarium, except for the control aquarium to which no fish were added. Temperature, pH and dissolved oxygen concentrations in aquaria (temperature =  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; pH =  $7.04 \pm 0.02$ ; oxygen =  $8.3 \pm 0.6$  mg L $^{-1}$ ) remained similar to those in Lake 240.

Four leeches were removed from each of four aquaria on days 2, 4, 8 and 16 after perch addition. Leeches in the fifth aquarium were not sampled during the first 16 days. Because carcasses were completely decomposed by day 16, we added additional  $^{202}\text{Hg}$  enriched yellow perch ( $n = 9$ ) to the fifth aquarium and collected three leeches from it on each of days 28 and 32. Two leeches were collected from the reference aquarium on each of days 2, 4, 8, 16 and 28 and three leeches were taken from this aquarium on day 32. All leeches collected were rinsed with deionised water and frozen individually on clean Teflon sheeting,

inserted in a clean polypropylene centrifuge tube (volume = 15 mL; Eppendorf) and frozen until Hg and  $\delta^{15}\text{N}$  analyses.

Fish carcasses were collected from the aquaria on days 0, 8 and 16 to measure fish Hg concentrations during decomposition. Biofilm growing on fish carcasses was collected on days 2, 4, 8 and 16, by carefully rinsing each carcass with deionised water. The rinse water was filtered through a clean QM-A filter (pore size: 0.7  $\mu\text{m}$ ). Each filter was then placed in a clean plastic Petri dish (4.7 cm diam.) and frozen until analysis.

To measure Hg loss from scavengers, 16 leeches that had fed on  $^{202}\text{Hg}$ -labelled fish for 16 d were transferred from the first four aquariums of the preceding experiment to four aquariums containing unlabelled yellow perch collected from Lake 240. The same collection protocol for perch from Lake 658 was used for perch from Lake 240. On days 2, 4, 8 and 16, one leech was collected from each of the four aquaria and stored in the same manner as that for leeches in the uptake experiment.

### 2.2.2. ELA field experiment

To study the transfer of Hg from carcasses to leeches in the wild, we anchored 16 plastic boxes (30 x 15 cm) on the sediment at a water depth of 30 cm in the littoral zone of Lake 240 (no added  $^{202}\text{Hg}$ ). Each box contained ten  $^{202}\text{Hg}$ -labelled yellow perch carcasses and the aperture of these boxes was screened with a large mesh netting (2.5 x 2.0 cm) to allow invertebrate scavengers to pass through but to keep out fish. We collected four boxes at each of days 2, 4, 8 and 11. By day 11, the majority of the carcasses were completely decomposed. We collected all scavengers in and under the boxes as well as under rocks in the littoral zone up to a distance of 3 m from the boxes. Biofilm on fish carcasses was also collected. Storage procedures for these scavengers were the same as for those mentioned above for leeches.

### 2.3. Hg analyses

For total Hg, all frozen samples were freeze-dried (lyophilizer FTS Systems) and blended in the laboratory. Dorsal muscle of fish sampled in the Lake Laflamme experiment was measured using method 207-Hg 1.0 of the Ministère de l'Environnement et de la faune du Québec (1986). Briefly, samples were placed in 75 ml glass Pyrex tubes with concentrated

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HNO<sub>3</sub> (3:1) and held at 90°C for 2 h in 6% potassium permanganate (w/v) on a hot plate. Hg<sup>2+</sup> generated was reduced to Hg<sup>0</sup> with a combination of 1% stannous sulfate (w/v), 0.6% sodium chloride (w/v) and 1% hydroxylamine sulfate (w/v). Gaseous Hg was measured by UV photometry with vapour formation (Milton Roy; detection limit = 7 ng of Hg). Samples of similar weight of a certified reference material (marine dogfish, DORM-2, National Research Council of Canada (NRCC), Ottawa, Ont.) were submitted to the same procedures; measured Hg concentrations in the standards varied little over time (DORM-2, CV = 6%) and were not significantly different ( $p > 0.05$ ) from certified values. Blanks were also run and no appreciable Hg contamination was detected.

For all other types of biological samples (i.e., aquatic invertebrates, yellow perch and biofilm), total Hg concentrations were measured by a Direct Mercury Analyzer (DMA-80, Monroe, C.T., detection limit = 0.01 ng Hg) using thermal combustion (drying: 10 s at 160 °C; thermal desorption: 150 s at 750°C for 150 s). QA/QC was assessed by using reference material for appropriate matrices: Hg concentrations in reference material varied little over time and were not significantly different from certified values (DORM-2, CV = 7%; TORT-1, NRCC, Ottawa, ON, CV = 4%; oyster, National Bureau of Standards (NBS)-1566; Washington, DC, CV = 2%). For measurements of Hg in biofilm growing on carcasses, we followed the procedure of Sarica et al. (2004a) using a direct combustion method. Samples of a certified reference material (oyster, NBS-1566, Washington, DC) were submitted to the same procedures. Measured Hg concentrations in the standard varied little over time (CV = 2-8%) and were not significantly different from certified values. Blanks were also run and no appreciable Hg contamination was detected.

We determined total Hg concentrations in Lake Laflamme sediment using US EPA method 7471A (1983). Briefly, samples were digested in 50-mL glass Pyrex tubes in a mixture of concentrated HCl and HNO<sub>3</sub> (3:1) and heated at 95°C for 2.5 h on a hot plate (Technicon, BD-40). The oxidant used was a combination of 5% potassium permanganate (w/v) and 5% potassium persulfate (w/v). Following digestion, excess potassium permanganate was neutralised with 12% (w/v) sodium chloride and 12% (w/v) hydroxylamine chloride. The reductant was 3% stannous chloride (w/v). Gaseous Hg was detected by cold-vapor atomic absorption spectrometry (Varian Spectrometer AA-20; detection limit = 0.7 µg of Hg). Hg concentrations in reference material varied little over time and were not

significantly different from certified values (marine sediments, BEST-1, NRCC, Ottawa, ON, CV = 4%).

Concentrations of mercury isotopes in biological tissues were determined by continuous flow cold vapor generation coupled on-line to inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP/MS). Briefly, samples were digested in 20 mL Pyrex glass tubes in a mixture of concentrated HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (7:3 v/v). The digest was mixed on-line with 10% (w/v) stannous chloride using a peristaltic pump. Gaseous Hg was separated from the liquid stream in a gas-liquid-separator using Hg-free argon and directly introduced into the plasma of a high resolution ICP/MS (Thermo-Finnigan Element2). The concentration of excess <sup>202</sup>Hg was calculated following the method of Hintelmann and Ogrinc (2003).

Extraction and ethylation of MeHg from biological tissues was accomplished following the methods of Bloom (1989, 1992). Briefly, MeHg was extracted with a 25 % (w/v) KOH/MeOH solution at a temperature of 68 °C over 8 h. For MeHg ethylation, lactic acid and 1% (w/v) sodium tetraethylborate were added. Ethylated MeHg from the solution was purged on a Tenax® column, which was then dried for 10 minutes. The derivatized Hg species are eventually thermodesorbed onto a GC column. MeHg was detected by atomic fluorescence with a detection limit of 1.1 ng Hg g<sup>-1</sup>. MeHg concentrations in reference material varied little over time and were not significantly different from certified values (TORT-2, NRCC, Ottawa, ON, CV = 10%).

#### 2.4. Stable isotopes of N

Stable isotopes of N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) were measured in scavengers to establish their trophic level (Cabana and Rasmussen, 1994). Stable isotopes of N in biological tissues were determined using the method described in Fry et al. (1992). Samples were combusted in an elemental analyser (Carlo Erba NC2500) and resulting gases were delivered via continuous flow to an isotope ratio mass spectrometer (IRMS; Thermo Finnigan Delta Plus XP). Stable nitrogen isotope values are expressed in  $\delta$  notation as a parts per thousand difference from a standard by the following equation:

$$\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

where  $X$  is <sup>15</sup>N and  $R$  is the ratio <sup>15</sup>N:<sup>14</sup>N. For nitrogen,  $R_{\text{standard}}$  is atmospheric (AIR) nitrogen.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Field experiments at Lake Laflamme

##### 3.1.1. Carcass colonisation

Seventeen of the 24 smallmouth bass carcasses placed in Lake Laflamme remained at their initial location, and the remainder were found intact on shore within the first few days of the experiment (excluded from subsequent analyses). No significant difference was found in the time for complete decomposition of the remaining carcasses between protected and unprotected carcasses ( $t$  test,  $p > 0.05$ ,  $n$  varied between 3 and 6 for each sampling date). This result suggests that resident fish and macroinvertebrates bigger than the mesh size of the screening that we used (i.e., 2.8 x 2.1 cm aperture) were not responsible for the decomposition of fish carcasses. Because no significant differences were observed in the numbers of invertebrate taxa under carcasses vs. those adjacent to carcasses, or on protected vs. unprotected carcasses or with carcass length (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n$  varied between 12 and 24) these data were combined for subsequent analyses.

Densities of both the dragonfly *Libellula* sp. and the amphipod *Hyalella azteca* were not significantly different between sites with carcasses and at reference sites (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 66$ ), whereas the densities of Chironomidae were significantly lower (ANOVA,  $p = 0.027$ ,  $n = 66$ ) in sediments near carcasses (Table 1).

Leeches were not found at the reference site, but were present in and near fish carcasses. Eight *Haemopsis* sp. (3 on days 1 and 6; 1 on days 13 and 20) were collected on or in fish carcasses whereas 19 *Nepheleopsis obscura* were found in sediment near carcasses (4, 6, 0 and 9 individuals on days 1, 6, 13 and 20, respectively). Note that of these 27 leeches, only 14 leeches were used for Hg analyses because eight were lost during the depuration experiment and five were sacrificed for identification. Because *Haemopsis* sp. are reported to eat other leeches (Sawyer 1986), their presence could also explain the absence of *Nepheleopsis obscura* on carcasses. Furthermore, because leeches can repulse (Broenmark and Malmqvist, 1986) or consume small invertebrates (Anholt, 1986; Dahl, 1998), their presence could explain the lower densities of Chironomidae near carcasses (Table 1).

### 3.1.2. Hg concentrations

Mercury concentrations in dorsal muscle varied with smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) size class, with bigger carcasses (class 3 =  $1.37 \pm 0.30$  mg kg<sup>-1</sup>, dry weight) being more contaminated than smaller ones (class 1 =  $0.69 \pm 0.10$  mg kg<sup>-1</sup>, dry weight).

Mercury concentrations in sediments at the reference site (Fig. 1) did not vary significantly among sampling dates (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 12$ ). At sites with carcasses, sediment Hg (Fig. 1) increased significantly between days 1 and 6 and decreased significantly after day 13 (ANOVA,  $p = 0.014-0.022$ ,  $n = 18$ ). The initial increase (30%) in sediment Hg is probably the result of fish debris accumulating at the sediment surface. Likewise, Bloom and Kuhn (1996) observed that methylmercury in a fish carcass was transferred to the surrounding sediment (13% after 15 d). The decrease (24%) in sediment Hg after day 13 is likely explained both by the ingestion of fish debris by benthic invertebrates and by bacterial decomposition (more details are given on bacterial decomposition below). A return to pre-carcass sediment Hg concentrations suggests that much of the Hg in fish carcasses is not incorporated into the sediment but is transferred to benthic invertebrates or to the water column.

No significant differences in Hg concentrations of both *Libellula* sp. and *Hyaella azteca* were detected between the reference site and sites near carcasses (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 8$  for *Libellula* sp. and  $n = 16$  for *Hyaella azteca*; Fig. 1). In addition, no significant temporal increase (regression,  $r^2 = 0.000-0.003$ ,  $p = 0.45-0.95$ ) was observed in Hg concentrations in either of these taxa. These results suggest that either these taxa did not feed on fish carcasses or that these invertebrates did not remain for long periods near carcasses or both. In contrast, Hg concentrations in both species of leeches increased significantly (regression,  $r^2 = 0.70-0.95$ ,  $p = 0.002-0.02$ ) over time (Fig. 1); suggesting that these annelids ingested, either directly or indirectly, substantial amounts of Hg-rich fish. Mercury concentrations in *Haemopsis* sp. rose by 500% during the experiment, whereas those of *Nepheleopsis obscura* rose by 100% (Fig. 1). However, the relationship between total Hg concentrations and exposure duration for *Haemopsis* sp. is tentative because the Hg measurement on the last sampling day (day 13) is based on a single individual. Overall, the results of this preliminary field experiment suggest that leeches can play a key role in recycling the Hg present in fish carcasses. To measure Hg exchange by these scavengers

under controlled conditions, we conducted laboratory experiments at the Experimental Lakes Area.

### 3.2. Laboratory experiments

Total Hg,  $^{202}\text{Hg}$  and MeHg concentrations in leeches (*P. marmorata*) feeding on  $^{202}\text{Hg}$ -enriched perch carcasses in the laboratory increased over time (ANOVA,  $p = 0.000-0.001$ ,  $n = 44$ , Fig. 2a), whereas Hg levels in starved leeches did not change. The burdens of both non-isotopic Hg (total Hg and MeHg) and isotopic Hg ( $^{202}\text{Hg}$ ) increased over time (Fig. 2b), whereas leech dry weight did not (Fig. 2c). Together, these data indicate that *P. marmorata* accumulated Hg from the  $^{202}\text{Hg}$ -labelled yellow perch carcasses and is consistent with our findings from Lake Laflamme for *Haemopsis* sp. and *N. obscura*. Accumulation rates of total Hg for *P. marmorata*, *Haemopsis* sp., and *N. obscura* were 18, 61 and 6 ng d<sup>-1</sup>, respectively. The species with jaws (i.e. *Haemopsis* sp. and *P. marmorata*; Sawyer, 1986) are capable of feeding directly on fish tissue and attained somewhat higher Hg concentrations than those of the carcasses on which they fed; the ratio of leech to carcass total Hg was 1.10 (after 15 d) and 1.13 (after 32 d), respectively, for these taxa. These data suggest that Hg is biomagnified between carcasses and leeches.

The accumulation rate of  $^{202}\text{Hg}$  by *P. marmorata* (2.25 ng d<sup>-1</sup>) was higher than the corresponding loss rate for this species (0.60 ng d<sup>-1</sup>). To estimate the biological half-life of  $^{202}\text{Hg}$  in *P. marmorata* from the Hg-loss experiment, we used a linear model ( $y = -0.60x + 40$ ;  $r^2 = 0.32$ ; Fig. 3) because the strength of the relationship between  $^{202}\text{Hg}$  concentrations and time was slightly stronger than with an exponential model ( $y = 43.e^{-0.02x}$ ;  $r^2 = 0.21$ ). The estimated biological half-life of 22 d falls between the half-lives of MeHg reported for the amphipod *Hyalella azteca* (11-18 d, Tsui and Wang 2004) and the crayfish *Orconectes virilis* (2,000 d; Headon 1994). At the beginning of the lab experiment, only 20% of the total Hg burden of *P. marmorata* was MeHg, whereas 80% of the Hg in *P. marmorata* was MeHg at day 16 (Fig. 4a). The proportions of MeHg and of  $^{202}\text{Hg}$  in *P. marmorata* reached a plateau after 16 d (Fig. 4b), approaching values found in fish carcasses (dotted line on Fig. 4b). Overall, the above results suggest that leeches accumulate Hg and reach the levels and speciation of Hg of their prey within about two weeks.



Total Hg,  $^{202}\text{Hg}$  and MeHg concentrations measured in labelled yellow perch carcasses decreased significantly as a function of time in the presence of leeches (ANOVA,  $p = 0.000-0.009$ ,  $n = 12$ ; Fig. 5). This suggests that: either (1) *P. marmorata* preferentially fed on tissues rich in Hg, such as muscle and liver, which is in agreement with the observations of Sawyer (1986), and/or (2) that bacterial decomposition resulted in a release of aqueous MeHg (i.e., bacterial solubilisation) and  $\text{Hg}^0$  (i.e., bacterial demethylation) from fish tissue (Bloom and Kuhn, 1996). Indeed, microbial demethylation of methylmercury can form volatile  $\text{Hg}(0)$  leading to Hg losses from carcasses (Bloom and Kuhn, 1996) and the breakdown of amino acids can decrease the concentration of Hg-binding sites such as those on cystine.

Total Hg and  $^{202}\text{Hg}$  concentrations measured in biofilm (Fig. 6b) increased strongly during the first 2-4 days and declined thereafter to background levels (note that on day 16, no biofilm was found on carcasses). It has been speculated that Hg accumulated in biofilm is released to the water column after transformation into  $\text{Hg}^0$  (Bloom and Kuhn 1996).

The overall mass balance of  $^{202}\text{Hg}$  in the aquariums (Fig. 6c) for days 0, 8 and 16, suggests that the majority (up to 70%) of the Hg in labelled fish carcasses was probably lost (evasion of  $\text{Hg}^0$ , adsorption on aquarium walls which was not transferred to scavengers) and/or found as aqueous MeHg (Bloom and Kuhn, 1996). The remaining Hg was mainly found in leeches rather than the biofilm. The recycling of Hg to the food web would therefore more likely involve scavengers than biofilm grazers.

$\delta^{15}\text{N}$  values can be used to indicate the trophic position of organisms in food webs (Cabana and Rasmussen, 1994). In our study,  $\delta^{15}\text{N}$  (Fig. 7) values measured in leeches not exposed to carcasses were not significantly different from those measured in yellow perch or in leeches exposed to carcasses (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 23$ ). This ratio was however over 4‰ higher than the ratio measured in crayfish, another potential scavenger. Consequently, our results suggest that some leeches may include fish in their natural diet because the  $\delta^{15}\text{N}$  is similar for control leeches than those feeding on fish carcasses. In addition, no correlation was observed between Hg concentrations and  $\delta^{15}\text{N}$  values measured in leeches feeding on fish carcasses, which contrasts with studies where  $\delta^{15}\text{N}$  is strongly correlated with Hg concentrations (Cabana and Rasmussen, 1994; Atwell et al., 1998). However, the duration of the experiment described in this study was most likely not long enough to significantly alter  $\delta^{15}\text{N}$  values. The fact that %MeHg fluctuates on a much shorter time scale than  $\delta^{15}\text{N}$  values is

an important finding suggesting that %MeHg can be used as an integrator indicating short term changes of bioamplification of pollutants, whereas  $\delta^{15}\text{N}$  can not track such changes in diets.

### 3.3. Transplantation experiments in Lake 240

Carcasses labelled with isotopic Hg were transplanted from  $^{202}\text{Hg}$ -rich Lake 658 to unspiked Lake 240, in order to follow Hg transfer from carcasses to scavengers in the wild. After only two days, most carcasses were emptied of their internal organs. This loss of mass occurred faster than in either our laboratory experiment or in Lake Laflamme and may have resulted from a wider diversity and a higher number of scavengers interacting with fish carcasses in Lake 240.

During our field experiment, we collected several species of scavengers: 1) 28 *P. marmorata* at the following locations: 10 in boxes, 14 close to boxes (<30 cm) and four under rocks in the littoral zone (>3 m from boxes); 2) five leeches, *Macrobdella decora*, (2 in boxes, 3 close to boxes) and 3) two crayfish, *Orconectes virilis* (1 in box, 1 at >3 m distance).

The  $^{202}\text{Hg}$  and MeHg concentrations measured in *P. marmorata* were similar in the lake and in the laboratory during the first four days (Fig. 6a). In addition, high  $^{202}\text{Hg}$  concentrations were measured only in this species and not in the other invertebrates. These results suggest that the fast decomposition in Lake 240 is caused by the higher density of *P. marmorata* and not by the presence of other potential scavengers. To test this idea, we compared leech densities on a littoral band of 50 m of Lake 240 (fast decomposition) and in Lake Laflamme (slow decomposition), using the same number of leech traps. We captured 2 leeches  $\text{m}^{-2}$  after one night in Lake 240 and only 0.16 leeches  $\text{m}^{-2}$  after 5 days in Lake Laflamme. Consequently, it seems that the time for complete decomposition of fish carcasses is lake specific and depends on the density of the scavenger community.

The profiles of total Hg and  $^{202}\text{Hg}$  concentrations measured in biofilm in the field (Fig. 6b) show similar patterns to those measured in the laboratory, which suggests similar  $^{202}\text{Hg}$  uptake, transformation and excretion. Note, however, that  $^{202}\text{Hg}$  concentrations observed in biofilm in the laboratory study are nearly 3 fold higher than those measured in the field on day 4.

#### 4. Conclusion

In both of our study lakes, we observed that leeches were the main scavengers interacting with fish carcasses. The decomposition of carcasses in lakes can be rapid, which could explain why fish carcasses are rarely seen in lakes. Direct Hg transfer was measured from fish carcasses to the leech *P. marmorata* and to the biofilm growing on carcasses rich in  $^{202}\text{Hg}$ . A preliminary mass balance showed that 16% of the Hg in fish is transferred to leeches and 3% is found in biofilm. It is possible that a significant fraction of carcass-bound MeHg was directly transfer to the water as aqueous MeHg and/or transformed to Hg(0) and degassed from the water body. Further studies are needed to evaluate the relative importance of Hg recycling by scavengers as opposed to Hg loss due to degassing. Nevertheless, after only 8 d, leeches in contact with carcasses reached a steady state with respect to their percentage MeHg and their isotopic Hg content. Since leeches are important prey for resident fishes in a majority of lakes in North America (Sawyer, 1986; Davies and Gates, 1991), they likely represent an important transfer vector of mercury from dead to living fish. Our experiments constitute a first step towards understanding the recycling of Hg from fish carcasses in boreal lakes. To fully evaluate the impact of recycled Hg bound to carcasses, other processes need to be further investigated, namely: (1) the natural non-predatory mortality of fish; (2) the rates of scavenger-induced fish decomposition in lakes having various types of fish and scavenger communities; (3) the consumption rate of fish by scavengers and the consumption rate of scavengers by resident fish at the whole-ecosystem scale.

## **Acknowledgements**

This is contribution no. 9 of the METAALICUS initiative. Funding was provided to M.A. by the NSERC Collaborative Mercury Research Network, Fisheries and Oceans (DFO) and the Canadian Foundation for Innovation. J.S. was supported by a scholarship from INRS. We thank Dr. Cheryl Podemski (DFO) for identification of the leeches. For the experiment in Lake Laflamme, we thank Marie-Renée Doyon, René Rodrigue, Jord Orvoine and Anne Gosselin for their technical assistance in the field and Louise Simoneau, Gertrude Guay, and Brian Dimock for their help with Hg analyses. Thanks also to Michel Lagacé, Denis Laliberté, Guy Nadeau and Daniel Houle for their help with the experimental design. Technical assistance at ELA by Jane Orihel, Jeff Rose, Ken Sandilands, Danielle Godard, Lori Flavelle and Alexandre Poulain is also acknowledged. Lastly, we would like to thank F. Boudreau, G. Cabana, C. Gobeil, R. Schetagne and A. Tessier for their comments on an earlier version of the manuscript.

## References

Anholt, A.S., 1986. Prey selection by the predatory leech *Nepheleopsis obscura* in relation to three alternative models of foraging. *Canadian Journal of Zoology* 64, 649-655.

Atwell, L., Hobson, K.A., Welch H.E, 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: insights from stable nitrogen isotope analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55, 1114-1121.

Barica, J., Gibson, J., Howard, W., 1983. Feasibility of snow clearing to improve dissolved oxygen conditions in a winterkill lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40, 1526-1531.

Bloom, N.S., 1989. Determination of picogram levels of methylmercury by aqueous phase ethylation, followed by cryogenic gas chromatography with cold vapour atomic fluorescence detection. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 1131-1140.

Bloom, N.S., 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissues. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49, 1010-1017.

Bloom, N.S., Kuhn, E., 1996. Time course speciation of mercury release during the natural decay of fish tissue in freshwater. Report. Frontier Geosciences Inc., Seattle, WA.

Broenmark, C., Malmqvist, B., 1986. Interactions between the leech *Glossiphonia complanata* and its gastropod prey. *Oecologia* 69, 268-276.

Cabana, G., Rasmussen, J.B., 1994. Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature* 372, 255-257.

Croteau, M.N., Hare, L., Tessier, A., 2001. Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58, 1737-1746.

Dahl, J., 1998. The impacts of vertebrate and invertebrate predators on a stream benthic community. *Oecologia* 117, 217-226.

Danylchuk, A.J., Tonn, W.M., 2003. Natural disturbances and fish: local and regional influences on winterkill of fathead minnows in boreal lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 132, 289-298.

Davies, R.W., Gates, T.E., 1991. Intra- and interspecific differences in the response of two lentic species of leeches to seasonal hypoxia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48, 1124-1127.

DeVault, T.R., Rhodes, O.E. Jr., Shivik, J.A., 2003. Scavenging by vertebrates: behavioural, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems. *Oikos* 102, 225-234.

Dutil, J.D., Lambert, Y., 2000. Natural mortality from poor condition in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 826-836.

Elder, R.L., Smith, G.R., 1988. Fish taphonomy and environmental inference in paleolimnology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 62, 577-592.

Fitzgerald, W.F., Engstrom, D.R., Mason, R.P., Nater E.A., 1998. The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. *Environmental Sciences and Technology* 32, 1-12.

Fry, B., Brand W., Mersh, F.J., Tholke, K., Garritt, R., 1992. Automated analysis system for coupled  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  measurements. *Analytical Chemistry* 64, 288-291.

Hare, L., Campbell, P.G.C., Tessier, A., Belzile, N., 1989. Gut sediments in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to animal trace element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 451-456.

Headon, C.M., 1994. Assimilation and depuration of methylmercury by crayfish (*Orconectes virilis*). M. Sc. thesis, Trent University, Peterborough, ON.

Hintelmann, H., Ogrinc, N., 2003. Determination of stable mercury isotopes by ICP/MS and their application in environmental studies. In: Cay, Y., Braids, C.O. (Eds.), Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements. American Chemical Society Symposium Series Vol. 835, Washington, DC, pp. 321-338.

Klemm, D.J., 1985. Freshwater leeches (Annelida: Hirudinea). In: Klemm, D.J. (Ed.), A guide to the freshwater Annelida (Polycheta, Naidid and Tubificid Oligochaeta, and Hirudinea) of North America. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa.

Lambert, Y., Dutil, J.D., 1997. Condition and energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*) during the collapse of the northern Gulf of St. Lawrence stock. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54, 2388-2400.

Lloyd, K.M., 1979. Bioaccumulation dynamics of mercury in the detritus-feeding benthic invertebrate, *Hyaella azteca*. M. Sc. Thesis, University of Ottawa. Ottawa, ON.

Merritt, R.W., Cummins, K.W., 1996. An Introduction to the Aquatic Insects of North America. In: Merritt, R.W., Cummins, K.W. (Eds.), Third edition, Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa.

Ministère de l'Environnement et de la faune du Québec, 1986. Méthode 207-Hg 1.0. Tissus biologiques. Détermination du mercure, méthode automatisée par photométrie UV formation de vapeur. Internal report, 10 pp.

Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. Annual Reviews of Ecology and Systematics 29, 543-566.

Naylor, R.L., Goldberg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect on aquaculture on world fish supplies. Nature 405, 1017-1024.

Parker, R.O., Jr., 1970. Health maintenance of cultured fishes: principal microbial diseases. CRC Press, Boca Raton, FL.

Porcella, D.B., 1994. Mercury in the environment: Biogeochemistry. In: Watras C.J. and Huckabee, J.W. (Eds.), Mercury Pollution-Integration and Synthesis. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 3-19.

Prahacs, S.M., and Hall, K.J., 1996. Leeches as *in situ* biomonitors of chlorinated phenolic compounds. Part 2: Pulp mill investigations. Water Resources 30, 2301-2308.

Ricker, W.E., 1945. Natural mortality among Indiana bluegill sunfish. Ecology 26, 111-121.

Sarica, J., Amyot, M., Hare, L. 2004a. An easy method to measure total particulate Hg in water without chemical digestion. Water, Air and Soil Pollution 151, 3-10.

Sarica, J., Amyot, M., Hare, L., Doyon, M.R., Stanfield, L.W. 2004b. Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream. Limnology and Oceanography, 49(4), 891-899.

Savenkoff, C., Castonguay, M., 2003. L'écosystème du nord du Golfe du Saint-Laurent (milieu des années 1980). Le Naturaliste Canadien 127, 84-88.

Sawyer, R.T., 1986. Ecology of freshwater leeches. In: Sawyer, R.T. (Ed.), Leech Biology and Behaviour. II. Feeding Biology, Ecology, and Systematics. Clarendon Press Oxford, New York, NY, pp. 524-589.

Schneider, J.C., 1997. Fate of dead fish in a small lake. American Midland Naturalist 140, 192-196.

Scott, W.B, Crossman, E.J., 1984. Freshwater fishes of Canada. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada 184, 1-996.

Smith, R.L., Smith T.M., 1998. Trophic structure. In: Smith, R.L., Smith, T.M. (Eds.), Elements of Ecology, fourth edition, Benjamin/Cummings Science Publishing, San Francisco, CA, pp. 328-341.



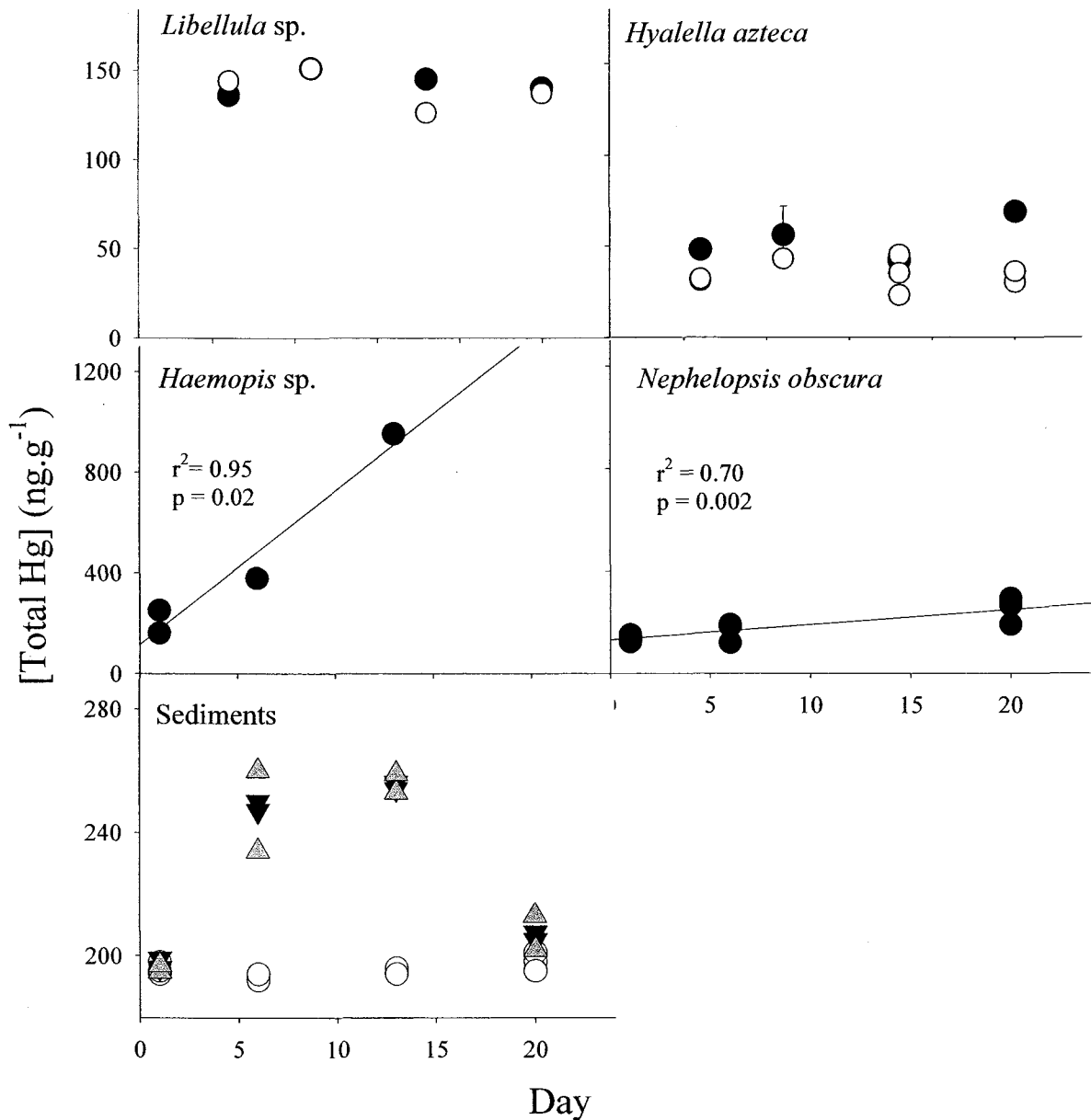
Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A., 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews of Environmental Sciences and Technology* 31, 241-293.

U.S. EPA. 1983. Method 7471A. Methods for evaluating solid waste (SW-846). Review 1, Office of solid Wastes, Washington, DC.

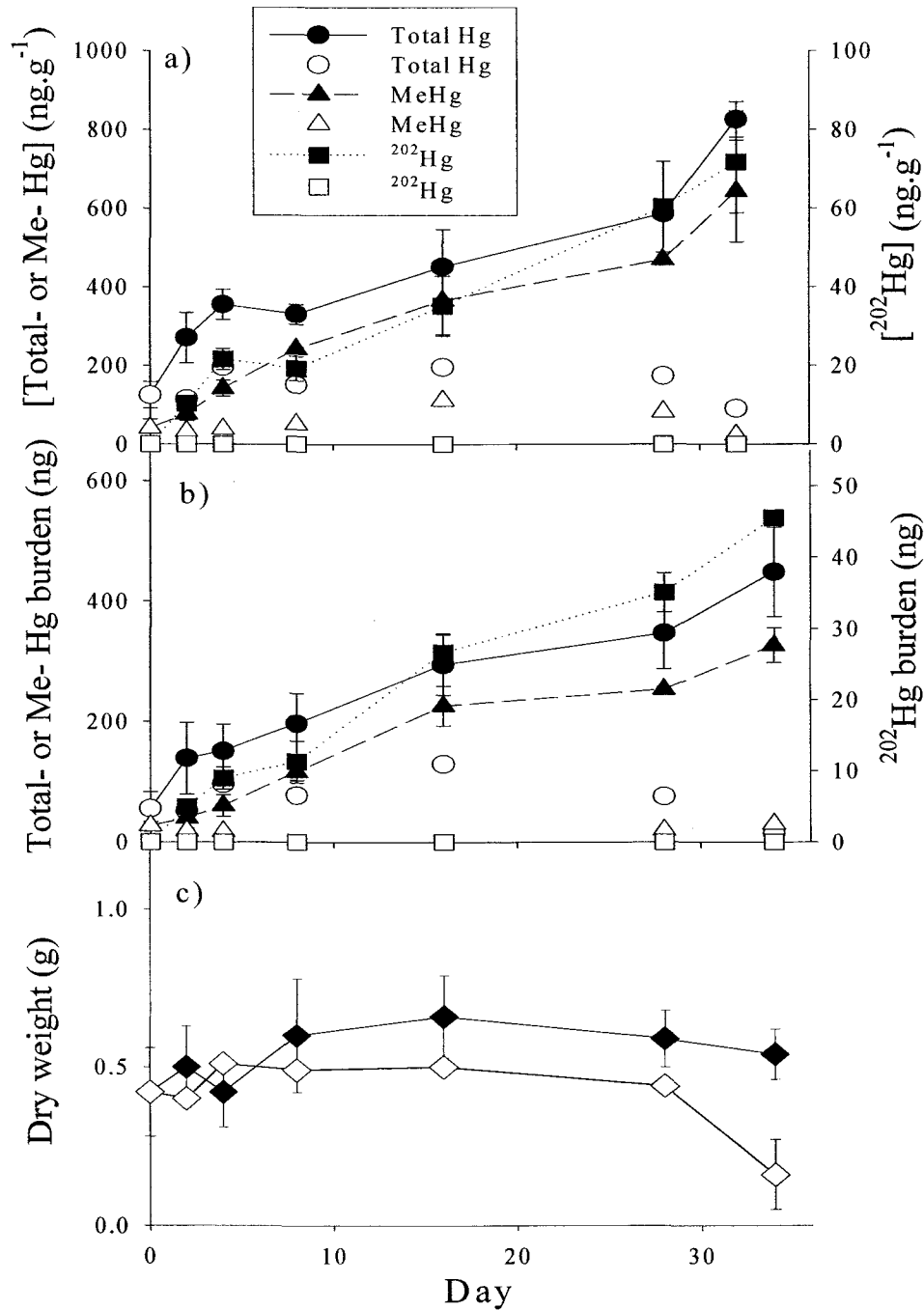
Watras, C.J., Bloom, N.S., Hudson, R.J.M., Gherini, S., Munson, R., Claas, S.A., Morrison, K.A., Hurley, J., Wiener, J.G., Fitzgerald, W.F., Mason, R.P., Vandal, G., Powell, D., Rada, R., Rislov, L., Winfrey, M., Elder, J., Krabbenhoft, D., Andren, A.W., Babiartz, C., Porcella, D.B., Huckabee J.W., 1994. Sources and fates of mercury and methylmercury in Wisconsin lakes. In: *Proceedings of the Second International Conference on Mercury as an Environmental Pollutant*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 153-180.

**Table 2.1** Mean density (number of individuals.m<sup>-2</sup> ± SE) of invertebrates collected at the reference site and near carcasses (n = 3 for the reference site and n = 9-18 at sites near carcasses). For Chironomidae, different letters (<sup>a</sup> and <sup>b</sup>) indicate a significant difference (ANOVA, *p* < 0.05).

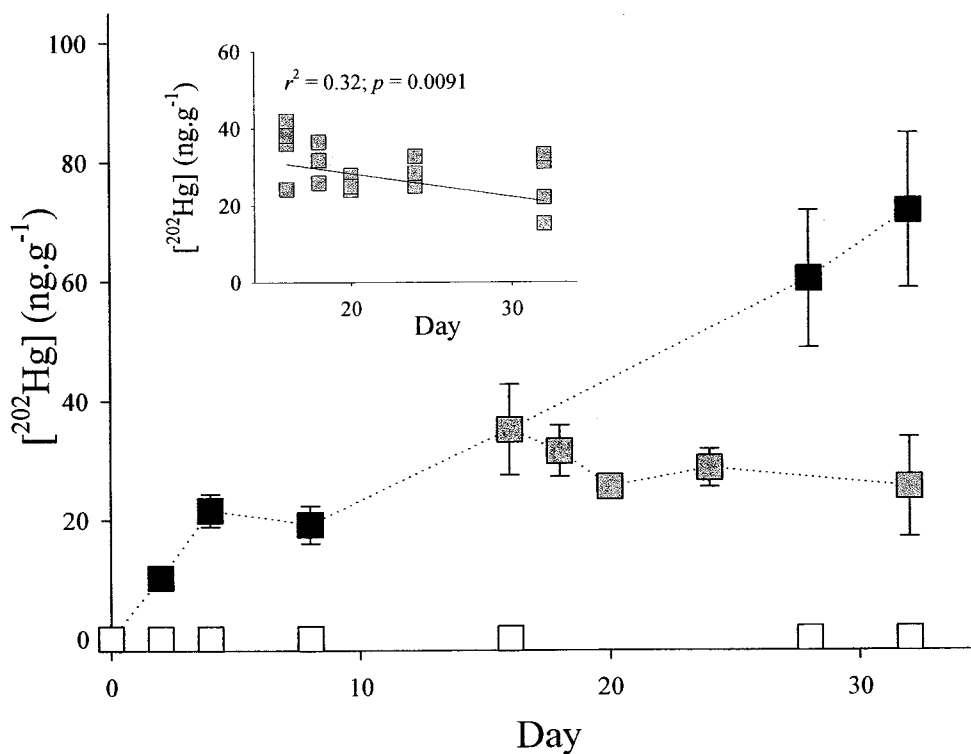
Day	Reference site				Near carcasses			
	1	6	13	20	1	6	13	20
Taxon:								
<i>Libellula</i> sp.	33 ± 0	17 ± 10	17 ± 10	17 ± 10	23 ± 15	38 ± 15	12 ± 10	10 ± 6
<i>Hyalella azteca</i>	40 ± 20	52 ± 31	87 ± 58	20 ± 10	80 ± 25	73 ± 42	47 ± 32	11 ± 7
Chironomidae	70 <sup>a</sup> ± 35	35 <sup>a</sup> ± 15	68 <sup>a</sup> ± 18	52 <sup>a</sup> ± 20	48 <sup>a</sup> ± 16	10 <sup>b</sup> ± 4	10 <sup>b</sup> ± 4	6 <sup>b</sup> ± 12



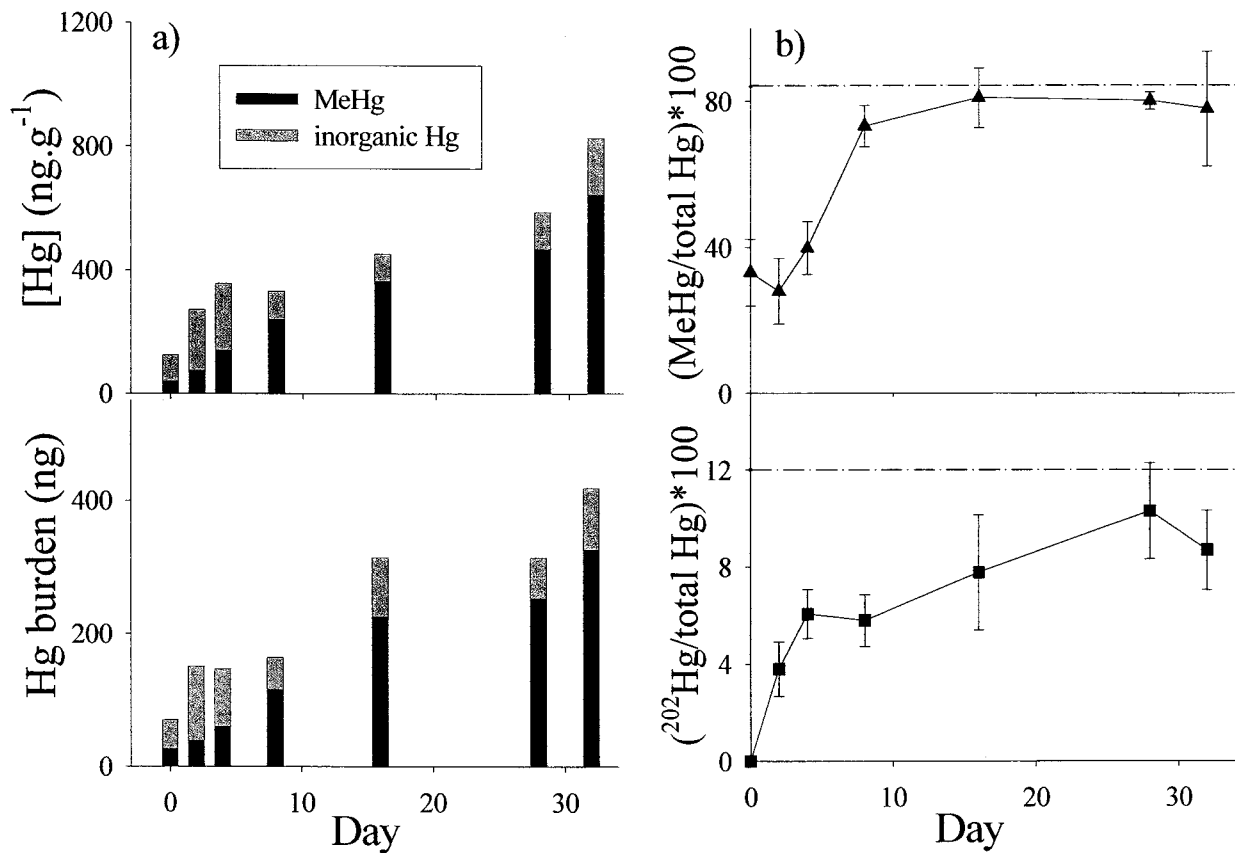
**Figure 2.1** Temporal changes in total Hg concentrations (ng.g<sup>-1</sup> dry weight) in the dragonfly *Libellula* sp. (uppermost left panel), in the amphipod *Hyalella azteca* (uppermost right panel), in the leeches *Haemopsis* sp. (middle left panel) and *Nephelopsis obscura* (middle right panel), and in sediments (lower panel) adjacent to (dark triangle pointed downwards) and under (grey triangle pointed upwards) carcasses as well as in control sediment without carcasses (open symbols). Each point represents one individual or sediment core;  $r^2$  and  $p$  values are presented for significant relationships.



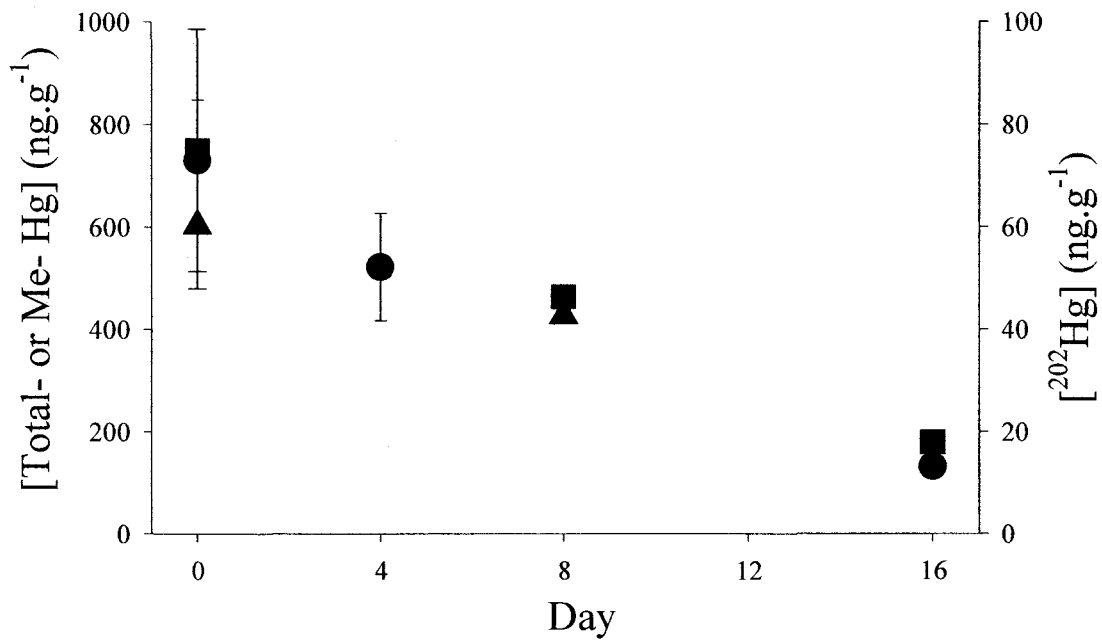
**Figure 2.2** Temporal variations in Hg in the leech *Percymoorensis marmorata* in the presence (closed symbols) or absence (open symbols) of <sup>202</sup>Hg-enriched fish carcasses: a) mean ( $\pm$ SD) concentrations ( $\text{ng g}^{-1}$ , dry weight) of total Hg, MeHg (left Y axis) and <sup>202</sup>Hg (right Y axis); b) mean burdens (ng, dw) of total Hg, MeHg (left Y axis) and <sup>202</sup>Hg (right Y Axis); c) mean dry weight (g).



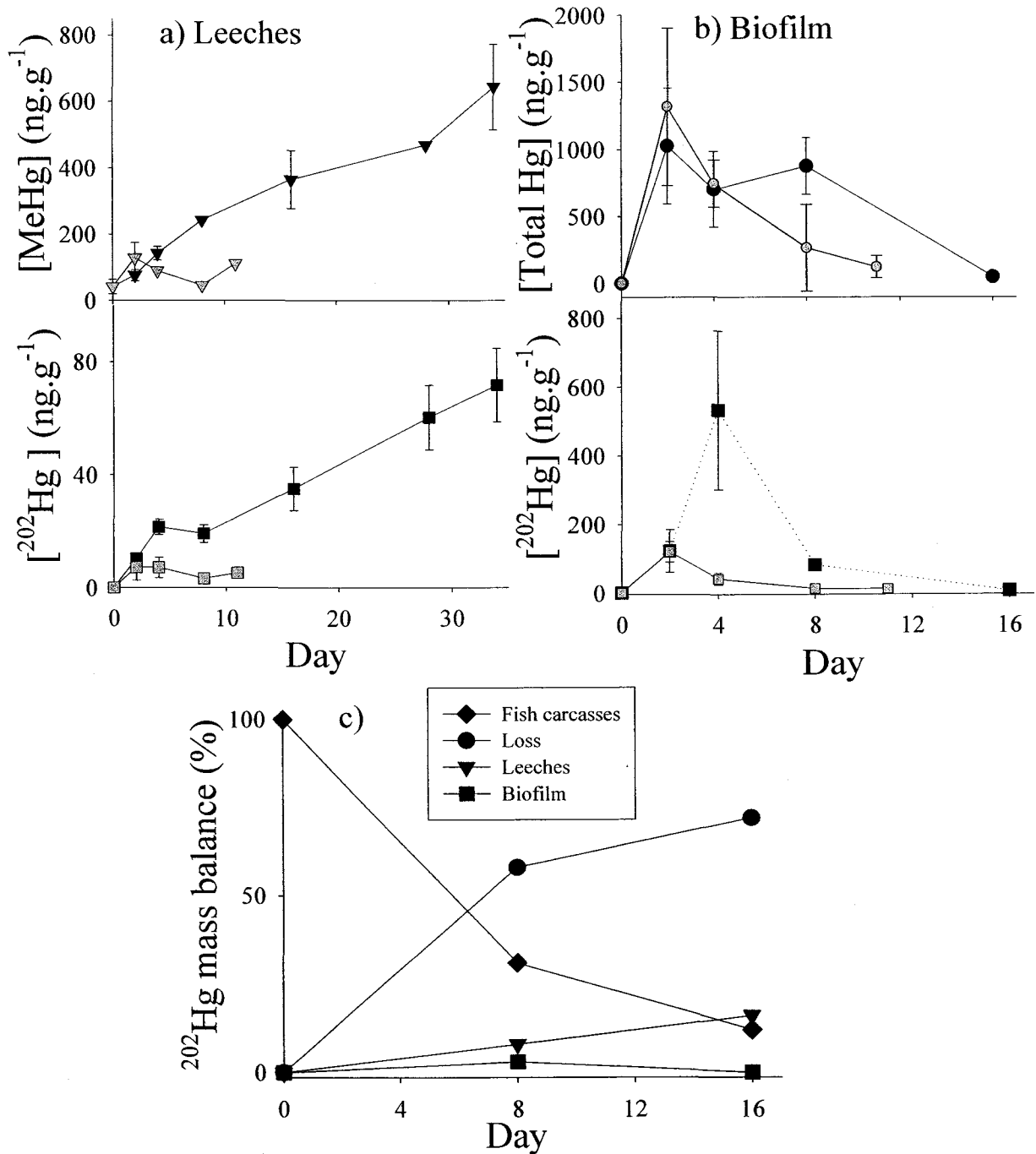
**Figure 2.3** Temporal variations in mean ( $\pm$ SD) concentrations (ng g $^{-1}$ ) of  $^{202}\text{Hg}$  measured in the leech *Percymoorensis marmorata* either in the presence of  $^{202}\text{Hg}$ -enriched fish (dark square), or with unlabelled fish substituted for Hg-enriched fish on day 16 (grey squares), or in the absence of fish carcasses (white squares). The inset shows individual values for the Hg-loss measurements (grey squares in main graph).



**Figure 2.4** a) Concentrations (ng g<sup>-1</sup>; upper panel) and Hg burden (ng indiv.<sup>-1</sup>; lower panel) of organic (MeHg) and inorganic Hg and b) Mean ( $\pm$ SD) proportion (%) of MeHg (upper panel) and <sup>202</sup>Hg (lower panel) measured in the leech *Percymoorensis marmorata* as a function of time (days) in the presence of <sup>202</sup>Hg-enriched fish carcasses in the laboratory. The dashed line represents the fractions that MeHg and <sup>202</sup>Hg represent of the total Hg in fish carcasses.

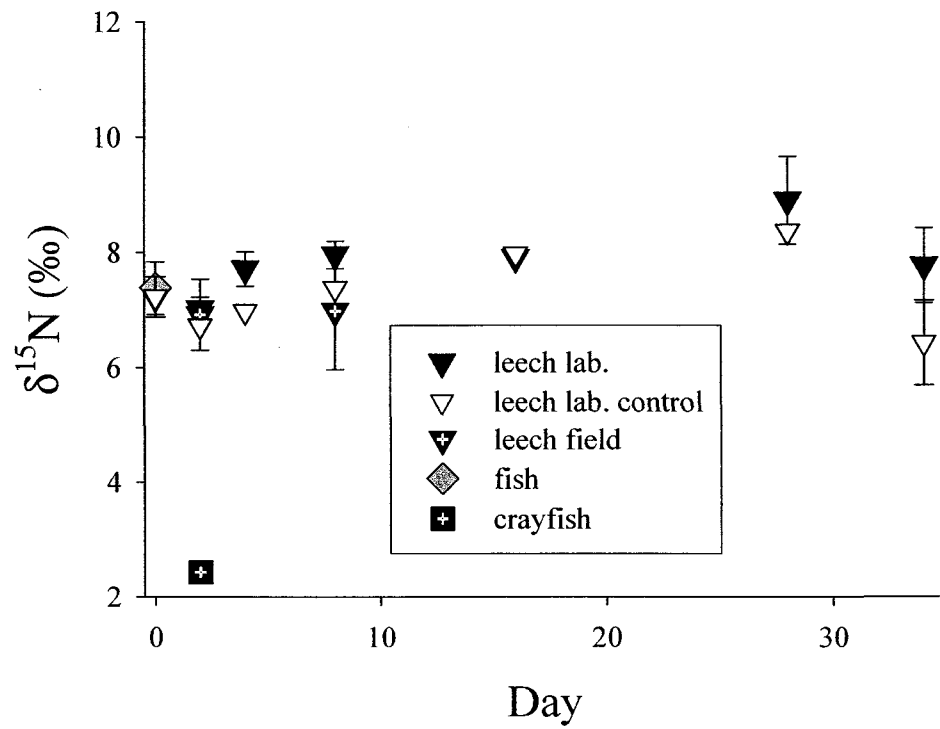


**Figure 2.5** Temporal variations in the mean concentrations ( $\pm$ SD) of total Hg (circles), MeHg (triangles) and  $^{202}\text{Hg}$  (squares) in  $^{202}\text{Hg}$ -enriched fish carcasses in the presence of the leech *Percymoorensis marmorata* in the laboratory.



**Figure 2.6** Temporal changes in mean ( $\pm$ SD) concentrations ( $\text{ng g}^{-1}$ ) of: a) MeHg (upper panel) and  $^{202}\text{Hg}$  (lower panel) in the leech *Percymoorensis marmorata* in the laboratory (dark symbols) and in the field (grey symbols) in the presence of  $^{202}\text{Hg}$ -enriched fish carcasses; b) total Hg (upper panel) and  $^{202}\text{Hg}$  (lower panel) concentrations ( $\text{ng g}^{-1}$ ) in biofilm growing on  $^{202}\text{Hg}$ -enriched fish carcasses in the laboratory (dark symbols) and in the field (grey symbols); c)  $^{202}\text{Hg}$  mass balance (%) calculated for aquaria.





**Figure 2.7** Temporal changes in mean ( $\pm$ SD)  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) measured: (1) in the leech *Percymoorensis marmorata* in the laboratory (triangles) and in the field (cross in triangles) in the presence (solid triangles) or in the absence (control; open triangles) of  $^{202}\text{Hg}$  enriched fish carcasses; (2) in yellow perch (grey diamond) and (3) in the crayfish *Orconectes virilis* (cross in square).



---

# Chapitre 3 : Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream (article 2)

---

José Sarica<sup>1</sup>, Marc Amyot<sup>2</sup>, Landis Hare<sup>1</sup>, Marie-Renée Doyon<sup>1</sup> and Les William Stanfield<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut National de la Recherche Scientifique (INRS), Eau, Terre et Environnement, Université du Québec, 2800 rue Einstein, C.P. 7500, Sainte-Foy, QC, G1V 4C7, Canada;

<sup>2</sup> Département des sciences biologiques, Université de Montréal, C.P. 6128, succ. Centre-Ville, Montréal, QC, H3C 3J7, Canada;

<sup>3</sup> Ontario Ministry of Natural Resources, Picton, ON, K0K 2T0, Canada;

*Limnology and Oceanography*. 2004. 49(4), 891-899.

## RÉSUMÉ

En rivière, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Hg et de nutriments ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , P, COD) au sein de composantes biotiques (invertébrés aquatiques et terrestres) et abiotiques (eau, sédiment) du système seraient altérées par la décomposition des carcasses de saumon après le frai. Nous avons échantillonné durant deux années consécutives (2000 et 2001) au sein d'une frayère ontarienne, tributaire du Lac Ontario, qui reçoit chaque année 20 000 saumons Quinnet (*Oncorhynchus tshawytscha*). Ces deux années contrastent par la présence exceptionnelle en 2001 d'un ours qui a prélevé toutes les carcasses à la station aval de la frayère. Nos résultats ont démontré que les stations d'échantillonnage, où les densités de carcasses étaient les plus élevées, présentaient des concentrations aqueuses de Hg total, MeHg, Hg total particulaire et de nutriments plus élevées que les stations où les densités de carcasses étaient les plus faibles. Les concentrations de Hg mesurées dans les invertébrés aquatiques et terrestres se nourrissant des carcasses de saumon ont augmenté jusqu'à 25 fois. En 2001, le prélèvement des carcasses par l'ours en aval, a engendré des baisses significatives dans les concentrations aqueuses de Hg et de nutriments comparées à celles mesurées au même endroit un an auparavant sans la présence de l'ours. Un budget préliminaire au sein de la frayère montre que: 1) les carcasses de saumon représentent une source importante de Hg et de nutriments pour les réseaux trophiques aquatiques et terrestres et que 2) les invertébrés et vertébrés terrestres peuvent être d'importants vecteurs de Hg du milieu aquatique vers le milieu terrestre.

## ABSTRACT

We tested the hypothesis that concentrations of mercury species (Hg) and nutrients ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , P, dissolved organic carbon) in abiotic and biotic components would be altered by the decomposition of salmon carcasses in streams. We investigated a tributary stream of Lake Ontario receiving spawning runs of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) for two years with contrasting bear activity. Stations with high carcass densities had significantly higher levels of aqueous total Hg, MeHg, particulate Hg and nutrients than did stations with lower carcass densities. Hg levels in aquatic and terrestrial invertebrates feeding on carcasses increased by up to 25 fold. In 2001, a bear removed most carcasses at the downstream station and aqueous Hg and nutrient concentrations were significantly lower compared to the preceding year, when no bear was active at that station. A preliminary budget for this stream shows that (1) salmon carcasses can be an important source of Hg and nutrients to aquatic and terrestrial food webs and (2) terrestrial invertebrates and vertebrates can be important water-to-land vectors of Hg.

## INTRODUCTION

In North America and Scandinavia, mercury (Hg) is present in some native fish at unacceptably high concentrations ( $>0.5 \text{ mg kg}^{-1}$  wet weight; Ontario Ministry of the Environment 1999). Because methylmercury (MeHg) concentrations increase along aquatic food chains, the majority of the MeHg in the water column of lakes tends to be present in fish (Porcella 1994). In spite of the importance of fish as a MeHg sink, processes involved in the recycling of MeHg following fish death are little known. The majority of Pacific salmon species, including Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), die after spawning, resulting in a great number of fish carcasses in receiving streams (Cederholm et al. 2000). Studies have concluded that salmon carcasses, eggs and gametes can contribute nutrients and dissolved organic carbon to streams (Cederholm et al. 1999), resulting in the stimulation of primary production (Cederholm et al. 2000), heterotrophic activity (Sobczak 1996), and secondary production (Cederholm et al. 2000). These increases in primary and secondary production can result in aquatic invertebrate densities 25 fold higher in streams receiving Pacific salmon runs compared to other streams (Wipfli et al. 1998). Salmon carcasses influence invertebrate densities through changes in the quantity or quality of biofilm for scrapers, of fine particulate organic material for collectors, of coarse particulate organic material for shredders, and of invertebrates for predators (Chaloner and Wipfli 2002). Recently, Krümmel et al. (2003) demonstrated that sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) can assimilate polychlorinated biphenyls (PCBs) from the ocean and deliver these contaminants to their natal spawning lakes after spawning. Indeed, these authors reported that sedimentary PCB concentrations were strongly correlated with the density of salmon runs.

We tested the hypothesis that salmon carcasses can also be an important source of Hg to streams receiving Chinook salmon runs from Lake Ontario. We considered the impact of fish decomposition on mercury levels in both abiotic (sediment and water) and biotic (invertebrates feeding on carcasses) compartments in one of those streams, Wilmot Creek. Furthermore, we were able to compare Hg transfer between the aquatic and terrestrial environment at one site in the presence and absence of bear consumption, as

during the second year of our study a black bear took up residence in the lower reaches of our study stream.

## MATERIAL AND METHODS

### Study design

In the first year of our study, we used a control-impact design, in which control sites were: (1) upstream sites on Wilmot Creek where no salmon spawned or died; (2) a site in a neighboring stream similar to Wilmot Creek, but in which few salmon spawned. The second year, we added a temporal component to our sampling protocol by sampling sites in Wilmot Creek before and after the spawning of Chinook salmon.

### Study site

Wilmot Creek (43°59'N, 78°38'W; Fig. 3.1) is a cold water stream that drains into Lake Ontario approximately 22 km downstream of its origin. The mean width is 7 m (Gibson 1996). The most abundant migratory piscivorous fish in Wilmot Creek is the Chinook salmon of which approximately 20,000 spawn in the autumn of each year (Stanfield et al. 2002).

We selected six sampling stations along this creek (Fig. 3.1). Each sampling station corresponded to a stretch of 250 m. Stations "upstream 1" (U1), "mid-stream 1" (M1) and "downstream 1" (D1) were sampled in 2000 after Chinook spawning (20 Oct). These stations were sampled again in 2001 before (20 Aug) and after (26 Oct) Chinook spawning with three additional stations, that is, "upstream 2" (U2), "mid-stream 2" (M2) and "downstream 2" (D2). Chinook can usually reach station M1, whereas few salmon were observed upstream of this site (i.e., at U1).

The discharge of Wilmot Creek was measured between station D2 and the creek mouth by the Ontario Ministry of Natural Resources (Fig. 3.1). Although it varied

between 882 and 1334 L/s from 1991 to 2001 (Fig. 3.2A), stream discharge was similar for our two sampling periods (summer and fall 2000:  $740 \pm 140 \text{ L s}^{-1}$ ; summer and fall 2001:  $765 \pm 219 \text{ L s}^{-1}$ ; Fig. 3.2B, C).

In 2000, we also sampled a second watercourse, the Ganaraska River, which is located 20 km east of Wilmot Creek. This stream receives few salmon. We collected samples at a station (GR) located 10 km upstream from the mouth of this river.

## Sampling and analysis

### *Aqueous mercury*

All sampling bottles and laboratory glassware were washed in 15%  $\text{HNO}_3$ , followed by 1%  $\text{HCl}$  and then rinsed seven times in ultrapure water (Milli-Q system water,  $>18 \text{ Mohm cm}^{-1}$ ) while wearing unpowdered latex gloves. To obtain samples for total aqueous Hg, we filled five 60 ml Teflon bottles with creek water at each sampling station in each year. For dissolved Hg ( $[\text{Hg}]_D$ ) and particulate Hg ( $[\text{Hg}]_P$ ), we collected water in three 60 ml Teflon bottles at each station in 2001 both before and after spawning. Samples for total  $[\text{MeHg}]_{(aq)}$  were collected in four Teflon bottles (1 L) at each station in 2001, preserved with  $\text{HCl}$  (5%, v/v) and held in the dark.

We determined total Hg and  $\text{Hg}_D$  (QM-A filters, pore size =  $0.7 \mu\text{m}$ ) concentrations in water following method 1631 (revision D) from the United States Environmental Protection Agency (U.S. E.P.A. 2001). Briefly,  $\text{BrCl}$  oxidation is followed by hydroxylamine addition, reduction with  $\text{SnCl}_2$ , sparging of elemental Hg to gold amalgamation traps, thermal desorption of the Hg followed by detection through Atomic Fluorescence Spectrometry (AFS) using a Tekran 2600 (detection limit, estimated as 3 times the standard deviation of 10 blanks, was  $60 \text{ pg L}^{-1}$ ). Samples of inter-laboratory reference material diluted 50 fold (rain water, FP-HG77-5 and FP-HG77-2, Environment Canada, Ottawa, Ontario, Canada; mean ( $\pm$  SD) certified values =  $2.22 \pm 0.08 \text{ ng L}^{-1}$  and  $0.11 \pm 0.04 \text{ ng L}^{-1}$ , respectively) were submitted to the same procedures; measured Hg



concentrations in the standards varied little over time (mean ( $\pm$ SD) measured values =  $2.27 \pm 0.06$  ng L<sup>-1</sup> and  $0.13 \pm 0.005$  ng L<sup>-1</sup>; coefficient of variation, CV, of 2-4%, respectively) and were within the intercalibrated ranges. Blanks were also run and no appreciable Hg contamination was detected.

For measurements of particulate Hg, we followed the procedure of Sarica et al. (2004). Briefly, water samples were passed through QM-A filters (pore size:  $0.7 \mu\text{m}$ ) in the field and then the filters were freeze-dried (FTS Systems lyophilizer) for storage. Total particulate Hg was measured with a Direct Mercury Analyzer (D.M.A.-80, Monroe, Connecticut, U.S.A.) using thermal combustion (drying: 10 s at 160 °C; thermal desorption: 150 s at 750 °C). Samples of a certified reference material (oyster, National Bureau of Standards (N.B.S.)-1566; Washington, District of Columbia, U.S.A; mean ( $\pm$  SD) certified values =  $57 \pm 15$  ng g<sup>-1</sup> dry weight) were submitted to the same procedures. Measured Hg concentrations in the standard varied little over time (mean ( $\pm$  SD) measured values =  $67 \pm 4.69$  ng g<sup>-1</sup>; CV = 7%) and were within the certified range. Blanks were also run and no appreciable Hg contamination was detected. The detection limit of the DMA-80 was 0.01 ng Hg.

MeHg(aq) was pre-concentrated and extracted following the procedure of Cai et al. (1997) using a gas chromatography – atomic fluorescence spectrometric system (Hewlett Packard model 5860, Ringoes, New Jersey, U.S.A.; detection limit = 0.02 ng L<sup>-1</sup>). A methylmercury chloride stock solution was prepared by dissolving approximately 20 mg MeHgCl (Aldrich ACS reagent 99%) in 20 ml of methanol (EM Science, ACS reagent 99.91%) to yield a concentration of approximately 1000 ppm MeHgCl as Hg. Further dilutions with water were made as needed. Recoveries from internal standard addition were within acceptable limits (i.e., greater than 90%).

### *Hg in sediments*

At each sampling station, four cores (4.4 cm diameter) were used to collect sediments at about 1 m from the shore. The uppermost centimetre was removed from

each sediment core and frozen in a plastic container until total Hg analysis. QA/QC was assessed by using certified material (BEST-1, National Research Council of Canada (N.R.C.C.), Ottawa, Ontario, Canada; mean ( $\pm$  SD) certified values =  $92 \pm 9$  ng g<sup>-1</sup> dry weight; mean ( $\pm$  SD) measured values =  $86 \pm 3$  ng g<sup>-1</sup>; CV = 3%).

#### *Hg in fish, invertebrates and biofilm*

To assess the level of contamination of fresh carcasses, 10 salmons were captured by electrofishing and samples of their dorsal muscle and livers were retrieved, placed in a plastic bag and frozen until analysis.

Aquatic macroinvertebrates in the vicinity of the carcasses were collected with a Surber sampler until a sufficient biomass of invertebrates was obtained. Principal species of aquatic invertebrates were sorted to the lowest taxonomic level possible (Merritt and Cummins 1996; Wiggins 1996) and allowed to depurate for 48 h to eliminate Hg bound to gut contents. They were then placed on Teflon sheets in 1.5 ml high-density polyethylene microcentrifuge tubes (small invertebrates; Croteau et al. 2001) and frozen until Hg analyses. The four most abundant taxa collected were two caddisflies, (*Hydropsyche* sp. and *Limnephilus* sp.), a tipulid (*Hexatoma* sp.) and a stonefly (*Claassenia* sp.). *Hydropsyche* feeds on algae, detritus and animals, *Limnephilus* is a shredder that feeds on leaf litter; *Hexatoma* consumes oligochaetes and dipterans and *Claassenia* feeds on trichopteran, ephemeropterans and chironomids (Merritt and Cummins 1996). Terrestrial fly (Diptera: Calliphoridae) eggs and larvae found on beached salmon carcasses were also collected, placed on Teflon sheets in 1.5 ml microcentrifuge tubes, and frozen. We also collected the biofilm growing on three submerged salmon carcasses. Samples were filtered with QM-A filters (pore size = 0.7  $\mu$ m) and the filters were frozen until analysis.

For all biological samples, Hg concentrations were measured by direct combustion, using the same analytical protocol as for particulate Hg. QA/QC was assessed by using reference material for appropriate matrices: Hg concentrations in

reference material varied little over time and were within the certified ranges (DORM-2, Environmental Chemistry Institute, Ottawa, Ontario, Canada; mean ( $\pm$  SD) certified values =  $230 \pm 50$  ng g<sup>-1</sup> dry weight, mean ( $\pm$  SD) measured values =  $205 \pm 21$  ng g<sup>-1</sup>; CV = 10%; TORT-1, N.R.C.C., Ottawa, Ontario, Canada, mean ( $\pm$  SD) certified values =  $330 \pm 30$  ng g<sup>-1</sup> dry weight; mean ( $\pm$  SD) measured values =  $325 \pm 10$  ng g<sup>-1</sup>, CV = 3%; oyster, N.B.S.-1566, Washington, District of Columbia, U.S.A., mean ( $\pm$  SD) certified values =  $57 \pm 15$  ng g<sup>-1</sup> dry weight; mean ( $\pm$  SD) measured values =  $56 \pm 2$  ng g<sup>-1</sup>, CV = 4%).

### *Carcass densities*

To estimate carcass densities at each station in 2000 and 2001, flags were first attached on trees along the shore every 50 m, over a distance of 250 m. Then, the numbers of submerged, half-submerged and beached carcasses were counted. At the time the census was conducted, spawning had just ended; therefore, the total number of carcasses did not change during sampling.

### *Rate of carcass decay*

A stretch of 250 m of the creek was intensively monitored: (1) to determine the partitioning of carcasses based on their state of immersion (beached, half submerged and submerged) and (2) to estimate the decomposition time of carcasses. Twenty-eight carcasses present on this stretch of creek were monitored for 24 d, at which point all carcasses had completely decayed.

### *Water chemistry*

Five high density polyethylene (HDPE) bottles (250 ml) were filled with water at each station for  $[\text{NH}_4^+]_{(\text{aq})}$ ,  $[\text{NO}_3^-]_{(\text{aq})}$ ,  $[\text{P}]_{(\text{aq})}$  analyses. Nitrates were determined with method 300.0 from U.S. E.P.A. (1993) using ionic chromatography (DIONEX DX300, Sunnyvale, California, U.S.A.; detection limit =  $0.02 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) and an anionic column

(DIONEX AS14). Ammonium and total phosphorus were measured following U.S. E.P.A. methods 351.2 (1983) and 365.1 (1993), respectively, by spectrophotometry (LACHAT instruments, QuickChem FIA+ 8000, Milwaukee, Wisconsin, U.S.A.; detection limit for ammonium =  $0.003 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; detection limit for total phosphorus =  $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ ).

Four amber bottles filled with water were collected at each site to measure dissolved organic carbon (DOC). These bottles were pre-treated by heating at  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  in a combustion oven for 6 h and were rinsed with ultrapure ELGA water (Milli-Q system organofree,  $>18 \text{ Mohm cm}^{-1}$ ). Total and dissolved organic carbon (filtered with GF/F filters, pore size =  $0.45 \mu\text{m}$ ) were determined with an organic carbon analyzer (Shimadzu TOC-5000A, Columbia, Maryland, U.S.A.; detection limit =  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ). In our study, more than 90% of the total organic carbon was dissolved. For this reason, only DOC concentrations are mentioned in this paper.

For all of these analyses, samples of a certified reference material were submitted to the same procedures; measured concentrations in the reference material varied little over time (ammonium: nutrients 2185, Belpre, Ohio, U.S.A., mean ( $\pm$  SD) certified values =  $5.53 \pm 0.05 \text{ mg-N L}^{-1}$ , mean ( $\pm$  SD) measured values =  $5.55 \pm 0.11 \text{ mg-N L}^{-1}$ ; CV = 2%; nitrates: rain water, FP-73SW-7, Burlington, Ontario, Canada, mean ( $\pm$  SD) certified values =  $2.1 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$ , mean ( $\pm$  SD) measured values =  $2.00 \pm 0.06 \text{ mg L}^{-1}$ ; CV = 3%; phosphorus: nutrients 2185 mean ( $\pm$  SD) certified values =  $6.55 \pm 0.02 \text{ mg-P L}^{-1}$ , mean ( $\pm$  SD) measured values =  $6.54 \pm 0.19 \text{ mg-P L}^{-1}$ , CV = 3%; organic carbon: DEMAND 42.02, Belpre, Ohio, U.S.A., mean ( $\pm$  SD) certified values =  $42.02 \pm 0.17 \text{ mg L}^{-1}$ , mean ( $\pm$  SD) measured values =  $41.94 \pm 1.26 \text{ mg L}^{-1}$ , CV = 3%) and were within the certified range. Blanks were also run and no appreciable contamination was detected.

#### *Suspended particulate matter (SPM)*

Three 1 L Teflon bottles were filled with creek water at each sampling station (before and after spawning 2001) and then filtered on a pre-heated clean filter (GF/F,

Whatman, pore size = 0.45  $\mu\text{m}$ ). These filters were placed in a Teflon in-line filtration unit (series 47 filter holder, Savillex, Minnesota, U.S.A.) and water from each 1 L bottle was pumped (Cansun field pump, Winnipeg, Manitoba, Canada) through the unit. Filters were then frozen for transport, freeze-dried and re-weighed to determine the weight of suspended particulate matter.

### *Fecal coliforms*

To assess if our water chemistry data were biased by leaks from neighboring septic tanks, we measured fecal coliforms in the water. Four water samples were collected at each site in 2001 (before and after spawning), filtered on a sterile membrane (pore size = 0.45  $\mu\text{m}$ ) and incubated for  $24 \pm 2$  h at  $44.5 \pm 2$  °C on a m-Fc environment. The identification of fecal coliforms was confirmed by a negative reaction with cytochrome-oxidase, a positive reaction with ONPG (ortho-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside) and with MUG (4-methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide). The detection limit of this method is 1 unit representing one colony. In our study, 80-100% of fecal coliform colonies were formed of *Escherichia coli*. For this reason, we use the term *E. coli* to refer to fecal coliforms in water.

## RESULTS AND DISCUSSION

### **Effect of carcass densities on Hg and nutrient concentrations in water and sediments**

The smallest densities of salmon carcasses (Fig. 3.3, lowermost panels) were observed at the Ganaraska River station in 2000 as well as at the Wilmot Creek upstream stations in both 2000 (U1) and 2001 (U1 and U2). After spawning in 2000, the highest density of salmon carcasses was observed at station D1. In 2001, most carcasses disappeared from D1 (mostly as a result of bear activity) and the site with the highest density of salmon carcasses remaining was M1 (Fig. 3.3). Note that bears have been absent from this watershed for many decades, and that the presence of bears in our study was exceptional.

Concentrations of total Hg, Hg<sub>P</sub>, MeHg, DOC, P, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and SPM were significantly higher at stations of maximum carcass density than at other stations in both years (ANOVA,  $p < 0.02$ ,  $n = 15-30$ ; Fig. 3.3). Furthermore, in 2001, the concentrations of these substances were higher at station M1 after spawning than before spawning ( $t$ -test;  $p = 0.001-0.007$ ,  $n = 6-10$ ; Fig. 3.3). When pooling all data (after spawning in both years), concentrations of these substances were positively correlated with carcass density ( $r_s = 0.70-0.85$ ;  $p = 0.003 - 0.035$ ; Fig. 3.4A-F). These results strongly indicate that salmon carcasses altered the water chemistry of the stream. Although similar nutrient increases at spawning stations have been reported previously (Cederholm et al. 1999; Cederholm et al. 2000), this is the first evidence of carcass-induced contamination of a stream by mercury. Note that inter-annual or monthly variations in stream hydrology are unlikely to explain these differences in water chemistry, since discharges varied little during the summer and fall of 2000 and 2001 (Fig. 3.2B and C).

The influence of carcasses on water chemistry is further evidenced by the fact that, after spawning, DOC and SPM were correlated to total and particulate Hg as well as MeHg, whereas no such correlation was observed before spawning (Fig. 3.5A, B and C). The presence of carcasses, a source of DOC and SPM, likely caused these positive correlations. Indeed, many studies have shown that salmon carcasses can provide an important source of allochthonous organic matter (Cederholm et al. 2000). For instance, Bilby et al. (1996) estimated that small salmon runs (approximately 1,000 individuals) can contribute 25 to 40% of allochthonous organic matter inputs to a given stream. Since measured densities of *E. coli* were not significantly different (paired  $t$ -test,  $p > 0.05$ ) before and after spawning at all stations, these patterns in water chemistry were more likely due to the presence of fish carcasses than to inputs from septic tanks. At the station of maximum carcass density (M1 in 2001), we measured 2 and 3 fold increases in the concentrations of particulate Hg and total Hg, respectively (Fig. 3.3). [MeHg] also increased dramatically at this station (Fig. 3.3). Prior to spawning, MeHg and Hg<sub>P</sub> represented, respectively, 2 and 40% of the total Hg, whereas after spawning these proportions increased to 10 and 60%. We measured no increase in the concentration of dissolved Hg, [Hg]<sub>D</sub>, after spawning in 2001, and the station of maximum carcass density

was not the site with the highest  $[\text{Hg}]_D$ . These results can be explained if carcass decomposition resulted in the release of fish tissue as small particles, therefore increasing the levels of particulate and total Hg, but not of dissolved Hg. Hg in particles of fish tissue must first be metabolized by bacteria to yield dissolved Hg, which could take some time. Furthermore, laboratory experiments by Bloom and Kuhn (1996) suggest that bacteria release Hg assimilated from fish carcasses as elemental Hg, a gaseous form that would be lost to the atmosphere. The low concentrations measured in biofilm on salmon carcasses (Table 3.1) are also consistent with low  $[\text{Hg}]_D$  and the release of Hg assimilated by the biofilm as volatile gaseous Hg.

An alternative explanation for the link between  $\text{Hg}_P$  concentrations and carcass density could be that salmon resuspended sediments during spawning. However at the time of sampling, salmon had been dead for  $\sim 3$  d; it is therefore unlikely that sediment resuspension was a contributing factor.

In sediments, Hg concentrations varied greatly among stations and at the same station in two consecutive years (Fig. 3.6). Because sediments can move downstream during spates (Sarica et al. 2004), it would be difficult to use sediments to monitor Hg inputs from salmon carcasses. This high variability may be caused by salmon which can disturb sediments during spawning.

### **Effect of carcasses on Hg in biota**

The main taxa of aquatic insects (collectors, shredders and predators) collected at the site of maximum carcass density were 1.4 to 3.1 times more contaminated with Hg than individuals of the same genera at U1 and at GR stations (Table 1;  $t$ -test;  $p = 0.000$ - $0.041$ ,  $n = 6$ - $10$  individuals per taxa). Also, insects collected after spawning at M1 in 2001 were 1.4 to 2.0 times more contaminated than those collected before spawning. The only exception to these patterns was the lack of a statistical difference between Hg concentrations in *Hexatoma* before and after spawning in 2001. This difference among

taxa suggests that their biology and trophic relationships influence the degree to which they accumulate Hg from spawning salmon.

Mercury concentrations in two taxa (*Hydropsyche* and *Claassenia*) differed between 2000 and 2001, at a site with similar carcass densities (station M1). These differences may be due to yearly changes in invertebrate growth and total biomass. Alternatively, our estimate of carcass density may not fully reflect the mean carcass density to which invertebrates were exposed prior to our arrival. Indeed, we expect carcass densities to be more directly related to short term indicators such as water chemistry variables.

From a survey conducted on a 240 m stretch of the stream, approximately 68% of carcasses were fully or partly available for colonization by terrestrial insects (beached or half submerged; Fig. 3.7). Calliphorid fly maggots used carcasses as a source of food and accelerated the time for complete decomposition by a factor of 2 for beached carcasses (Fig. 3.7). The 12 d decomposition time in the presence of maggots is similar to those reported elsewhere for salmon (Cederholm et al. 2000). Calliphorid larvae feeding on carcasses had Hg concentrations 25 times those of their parents collected at the same station, and levels two fold higher than those in salmon (Table 3.1). Consequently, terrestrial larvae feeding on carcasses biomagnified Hg and transferred it from the aquatic to the terrestrial ecosystem.

### **Influence of carcass removal by bears**

Bears can be important vectors of salmon-derived nitrogen to the terrestrial environment, transporting between 70 and 80% of salmon to the forest during spawning (Reimchen 2000). In 2001, a bear removed approximately 80% of the carcasses at station D1, the site of maximum carcass density in 2000. As a consequence, concentrations of total Hg, Hg<sub>P</sub>, Hg<sub>D</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and P were not statistically different at D1, before and after spawning in 2001, whereas these elements peaked at this station in 2000 (Fig. 3.3). Furthermore, concentrations of DOC and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> at station D1 were lower after spawning



than those at upstream stations M1 and M2. Removal of carcasses by bears likely led to a decrease in local levels of mercury and nutrients in the water column at station D1. These results indicate that bears likely transported substantial amounts of salmon-derived Hg to the terrestrial ecosystem.

### **A budget for salmon-derived Hg in Wilmot Creek**

In figure 3.8, we integrate our data from station D1 to describe the fate of salmon-derived Hg in the presence and absence of bears and other potential scavengers. We assumed that whole salmon have a mean concentration of total Hg of  $0.20 \pm 0.05 \text{ mg kg}^{-1}$  wet weight and a mean wet weight of 6.6 kg (adult salmon from Lake Ontario; Scott and Crossman 1984). We also assumed that station D1 (length: 250 m) is representative of a 3 km stretch of stream having a mean width of 5 m, and thus an area of  $15,000 \text{ m}^2$ . Since a carcass density of  $0.24 \text{ salmon m}^{-2}$  was measured at station D1 in the absence of bears, the total flux of salmon-bound Hg from Lake Ontario to this reach of stream is 4.75 g (Fig. 3.8), for the 21 d period covered by this study. Without bears, we presume that all of the Hg in beached salmon, which represent 36% of the total number of carcasses (Fig. 3.7), and which thus contain 1.71 g of Hg, is transferred to the riparian zone by maggots (Fig. 3.8, left panel). The assumption that beached carcasses were totally eaten by maggots was supported by regular visual inspections of decaying carcasses, and has also been established by others (Cederholm et al., 2000). Downstream transport is calculated from the difference between total water-column Hg concentrations when carcasses are present and those when they are absent (Fig. 3.3). This difference ( $0.35 \text{ ng L}^{-1}$ ) multiplied by the median stream discharge during salmon run in 2001 ( $765 \text{ L s}^{-1}$ ; Fig. 3.2C) gives a downstream Hg flux of 0.49 g over 21 d. By difference, we obtain the amount of Hg remaining in the aquatic system at station D1 (2.55 g). As shown in Fig. 3.8 (left panel), 54% of the carcass-bound Hg stays at the site where salmon died, and 36% is transferred to the riparian zone.

The salmon carcasses removed by bears corresponds to the difference between the density of carcasses measured at station D1 in 2000 and in 2001 after spawning, i.e., 0.20

salmon  $\text{m}^{-2}$  (Fig. 3.8, right panel). Therefore, 83% of the salmon-bound Hg was consumed by bears and other scavengers. When considering the added impact of maggots on the beached carcasses, approximately 90% of the Hg (4.24 g) will end up in the terrestrial system in the presence of bears, compared to 36% in their absence.

During our 21 d study, the amount of Hg transported by salmon to the whole stream (Fig. 3.9) was 10.3 g, which corresponds to an annual flux of 29.4 g if we assume that the salmon run lasted 60 d. This annual Hg flux is close to the 26.4 g of Hg that we calculated from published estimates of salmon runs in Wilmot Creek, assuming the same mean salmon weight and Hg concentration as above (Stanfield et al. 2002). For the whole stream (Fig. 3.9), we observe that: (1) when bears are active at site D1, they are the main force dictating the fate of salmon-bound Hg, leading to a water-to-land transfer of 40% of the salmon-bound Hg; (2) without bears, the majority of the Hg pool (54%) stays at the site of salmon death, with a third being transferred to the terrestrial systems by maggots. As shown by the dashed lines in Fig. 3.8, many of the processes involved need to be further investigated to refine this assessment.

At the scale of the drainage basin ( $94 \text{ km}^2$ ), total Hg inputs by salmon runs represent approximately 1 to 3% of the atmospheric deposition (wet and dry:  $10\text{-}30 \mu\text{g Hg m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ ; International Joint Commission and Commission for Environmental Cooperation 2003). Assuming that MeHg represents more than 95% of total Hg in piscivorous fish (Watras and Bloom 1992) and less than 5% of atmospheric deposition (Lindqvist 1991), salmon runs likely represent a large MeHg flux (i.e.,  $27.9 \text{ g MeHg yr}^{-1}$ ) at the drainage basin scale (wet and dry deposition:  $47\text{-}141 \text{ g MeHg yr}^{-1}$ ). However, one must remember that most methylation (and demethylation) affecting aquatic bioaccumulation likely occurs *in situ*, near or in the stream.

This study, along with the one by Krümmel et al. (2003), provides evidence that toxic substances can be efficiently transported by Pacific Salmon and delivered to their native streams. Further studies are needed to clearly assess the toxicological risk related to this pathway for the stream and terrestrial communities.

---

## ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge financial support from NSERC, COMERN and FQRNT to M.A. J.S. was supported by a scholarship from INRS. Special thanks to B. Anderson and her pupils from Wilmot Creek School and to S. Marriott and her pupils from Trinity College. J. Laroulandie, X. de Rouvroy de Saint-Simon provided technical assistance in the field. D. Lean and J. Holmes helped in MeHg analysis and M. G. Bordeleau, P. Fournier, S. Saint-Pierre and S. Duval did nutrient analysis. I.D. Cameron, and F. Smith from the Ontario MNR provided discharge data. F. Boudreau, G. Cabana, C. Gobeil, M. Lucotte, R. Schetagne and A. Tessier reviewed an earlier version of the manuscript.

## REFERENCES

Bilby, R.E., B.R. Fransen, and P.A. Bisson. 1996. Incorporation of nitrogen and carbon from spawning coho salmon into the trophic system of small streams - evidence from stable isotopes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**: 164-173.

Bloom, N.S., and E. Kuhn. 1996. Time course speciation of mercury release during the natural decay of fish tissue in freshwater. Internal report. Frontier Geosciences Inc. (unpubl.).

Cai, Y., G. Tang, R. Jaffe, and R. Jones. 1997. Evaluation of some isolation methods for organomercury determination in soil and fish samples by capillary gas chromatography - atomic fluorescence spectrometry. *Internat. J. Environ. Anal. Chem.* **68**: 331-345.

Cederholm, C.J., M.D. Kunze, T. Murota, and A. Sibatani. 1999. Essential contributions of nutrients and energy for aquatic and terrestrial ecosystems. *Fisheries* **24**: 6-15.

Cederholm, C.J., D.H. Johnson, R.E. Bilby, L.G. Dominguez, A.M. Garrett, W.H. Graeber, E.L. Greda, M.D. Kunze, B.G. Marcot, J.F. Palmisano, R.W. Plotnikoff, W.G. Percy, C.A. Simenstad, and P.C. Trotter. 2000. Pacific salmon and wildlife - Ecological contexts, relationships, and implications for management. Special edition technical report, prepared for D.H. Johnson, and T.A. O'Neil (Manag. Dirs.), wildlife-habitat relationships in Oregon and Washington. Washington Department of Fish and Wildlife.

Chaloner, D.T., and M.S. Wipfli. 2002. Influence of decomposing Pacific salmon carcasses on macroinvertebrate growth and standing stock in southeastern Alaska streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **21**: 430-442.

Croteau, M.N., L. Hare, and A. Tessier. 2001. Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 1737-1746.

Gibson, S.F. 1996. Salmonid spawning survey and redd characterization for *Salmo trutta*, *Oncorhynchus kisutch* and *Oncorhynchus tshawytscha* in Wilmot Creek. Great Lakes Salmonid Ecology Unit Ontario Ministry of Natural Resources (OMNR, unpubl.).

International Joint Commission, and Commission for Environmental Cooperation. 2003. Addressing atmospheric mercury: Science and policy. A workshop sponsored by the International Air Quality Advisory Board of the IJC and the CEC, Research Triangle Park, NC, December 2001 .

Krümmel, E.M., R.W. Macdonald, L.E. Kimpe, I. Gregory-Eaves, M.J. Demers, J.P. Smol, B. Finney, and J.M. Blais. 2003. Delivery of pollutants by spawning salmon. *Nature* **425**: 255-256.

Lindqvist, O. 1991. Mercury in the Swedish environment: physical/chemical forms of mercury. *Water Air Soil Pollut.* **80**: 715-724.

Merritt, R.W., and K.W. Cummins. 1996. An introduction to the aquatic insects of North America. Third edition, R.W. Merritt, and K.W. Cummins [eds.], Kendall/Hunt publishing Company.

Ontario Ministry of the Environment. 1999. Guide to eating Ontario sport fish. 21<sup>th</sup> edition revised, Queen's printer for Ontario.

Porcella, D.B. 1994. Mercury in the environment: Biogeochemistry, p. 3-19. *In* C.J. Watras and J.W. Huckabee [eds.], *Mercury Pollution-Integration and Synthesis*. CRC Press.

Reimchen, T.E. 2000. Some ecological and evolutionary aspects of bear-salmon interactions in coastal British Columbia. *Can. J. Zool.* **78**: 448-457.

Sarica, J., M. Amyot and L. Hare. 2004. An easy method to measure total particulate Hg in water without chemical digestion. *Water, Air and Soil Pollut.* **151**: 3-10.

Scott, W.B, and E.J. Crossman. 1984. *Poissons d'eau douce du Canada*. Bulletin 184. Office des recherches sur les pêcheries du Canada.

Sobczak, W.V. 1996. Epilithic bacterial responses to variations in algal biomass and labile dissolved organic carbon during biofilm colonization. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **15**: 143-154.

Stanfield, L.W., M. Desjardins, R. Hughes-Renke, and C. Robinson. 2002. *Wilmot Creek study, preliminary study results: A background report to the Wilmot Creek fisheries plan*. Ontario Ministry of Natural Resources (OMNR, unpubl.)

U.S. E.P.A.. 1983. Method 351.2. Methods for chemical analysis of water and wastewaters. EPA-660/4-79-020.

U.S. E.P.A.. 1993. Method 300.0. Determination of inorganic anions by ion chromatography. Revision 2.1. EPA-600/R-93-100.

U.S. E.P.A.. 1993. Method 365.1. Methods for chemical analysis of water and wastes. EPA-600/R-93-100.

U.S. E.P.A.. 2001. Method 1631, revision D. Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. EPA-821/R-02-019.

Watras, C.J., and N.S. Bloom. 1992. Mercury and methylmercury in individual zooplankton -implication for bioaccumulation. *Limnol. Oceanogr.* **37**: 1313-1318.

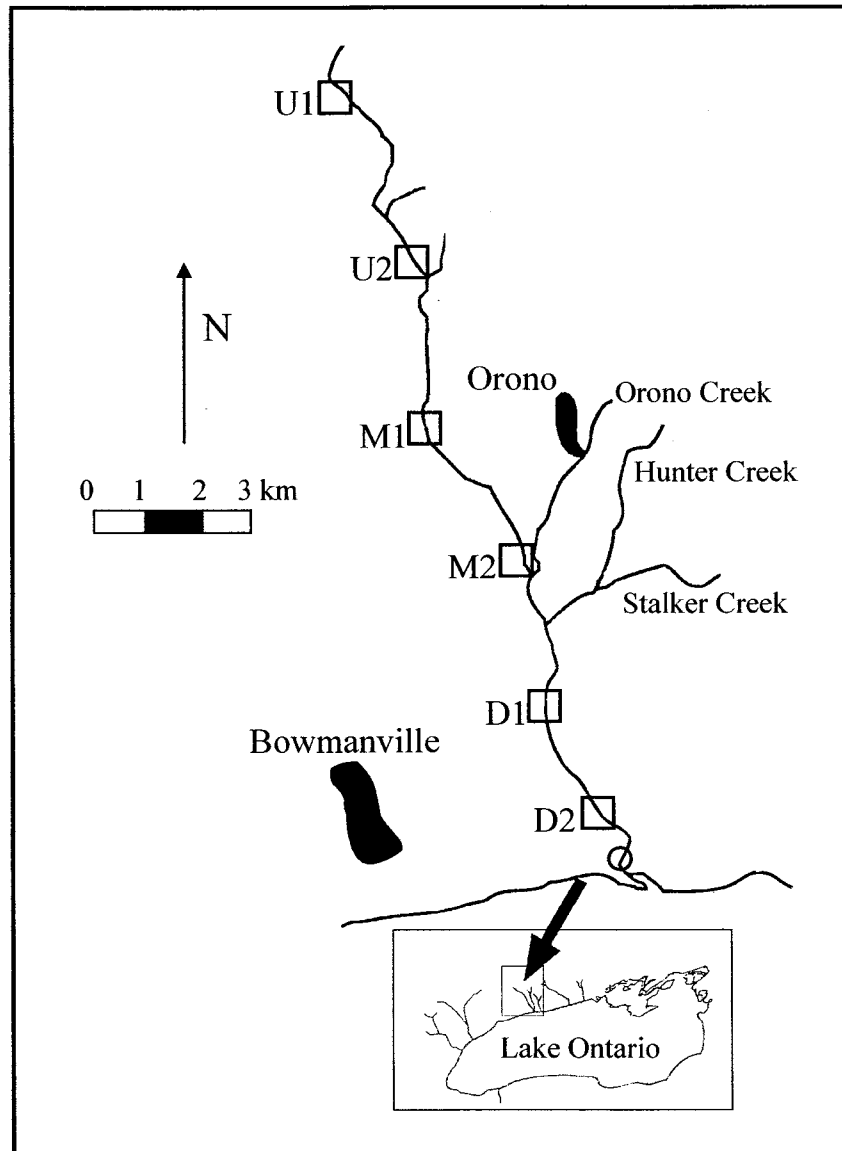
Wiggings, G.B. 1996. *Larvae of the North America caddisfly genera (Trichoptera)*. Second edition, Glenn B. Wiggings [ed.], University of Toronto press.

Wipfli, M.S., J. Hudson, and J. Caouette. 1998. Influence of salmon carcasses on stream productivity: response of biofilm and benthic macroinvertebrates in southeastern Alaska, U.S.A. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 1503-1511.

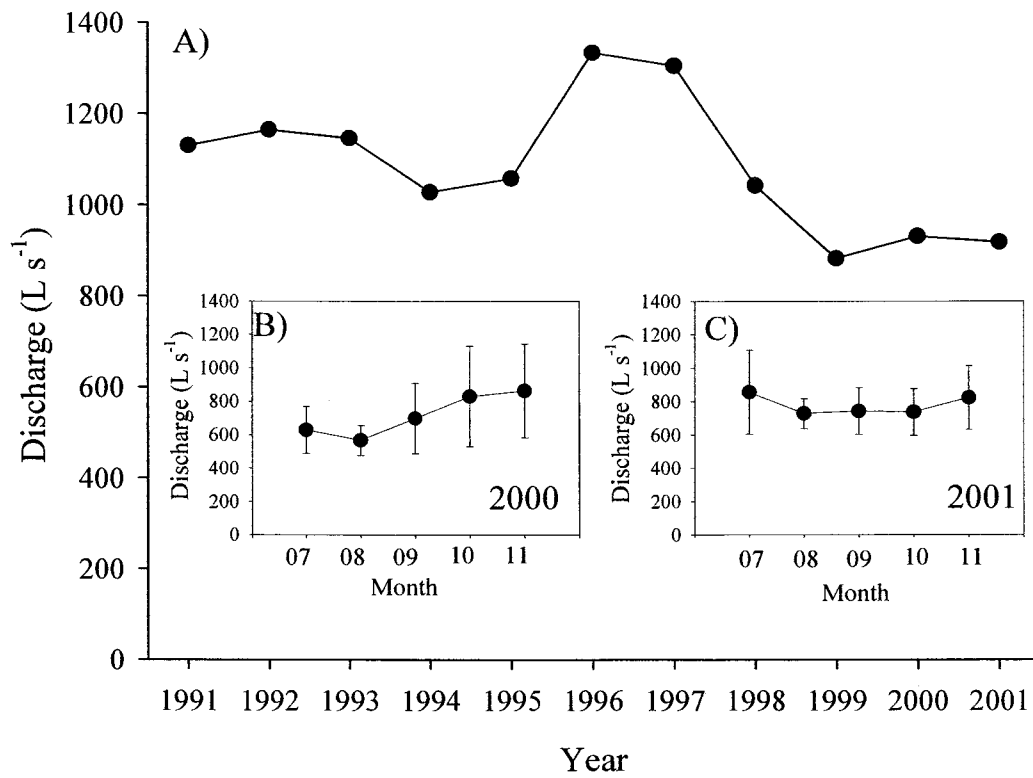
Table 3.1. Density of salmon carcasses (indiv m<sup>-2</sup>) as well as mean concentrations of Hg (ng g<sup>-1</sup>, dry-weight) in dorsal muscle and liver of salmon carcasses, in aquatic and terrestrial invertebrates and in biofilm as measured in spawnings 2000 (after) and 2001 (before and after) at various stations in Wilmot Creek and in one station in the Ganaraska River (GR) in 2000. Values in parentheses represent SD; - indicates no data; \* represents a significant difference at a given station between upstream (U1) and spawning station (M1) in 2000, or between upstream and Ganaraska River stations in 2000, or before and after spawning in 2001 (*t*-test, *p*<0.05).

Spawning year	2000				2001			
	Station				U1		M1	
		GR	U1	M1	DI	Before	After	Before
Carcass density	0.08	0.08	0.22	0.24	0	0	0	0.20
	<b>[total Hg]</b>							
<b>Chinook salmon</b>								
Dorsal muscle	-	740 (90)	-	990 (380)	-	-	-	-
Liver	-	580 (100)	-	540 (250)	-	-	-	-
<b>Aquatic invertebrates</b>								
<i>Hydropsyche</i> sp.	163 (54)	114 (34)	352* (35)	-	75 (10)	117 (30)	111 (9)	224* (22)
<i>Claassenia</i> sp.	210 (60)	153 (15)	338* (43)	-	173 (18)	162 (26)	163 (26)	225* (14)
<i>Hexatoma</i> sp.	183 (40)	192 (36)	285* (15)	-	206 (29)	135 (54)	345 (68)	289 (103)
<i>Limnephilus</i> sp.	-	-	-	-	126 (4)	155 (35)	136 (8)	240* (24)
<b>Biofilm on carcasses</b>	-	-	54 (2)	-	-	-	-	-
<b>Terrestrial invertebrates</b>								
Calliphoridae adults	-	-	56 (30)	-	-	-	-	-
Calliphoridae larvae	-	-	1650 (200)	-	-	-	-	-

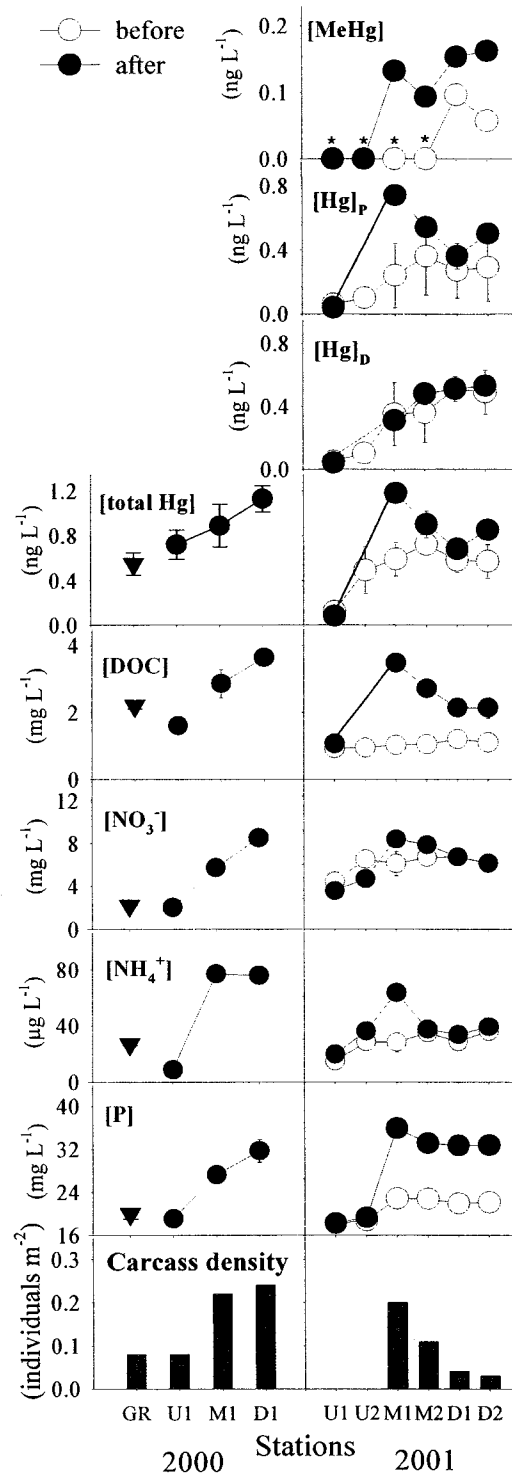




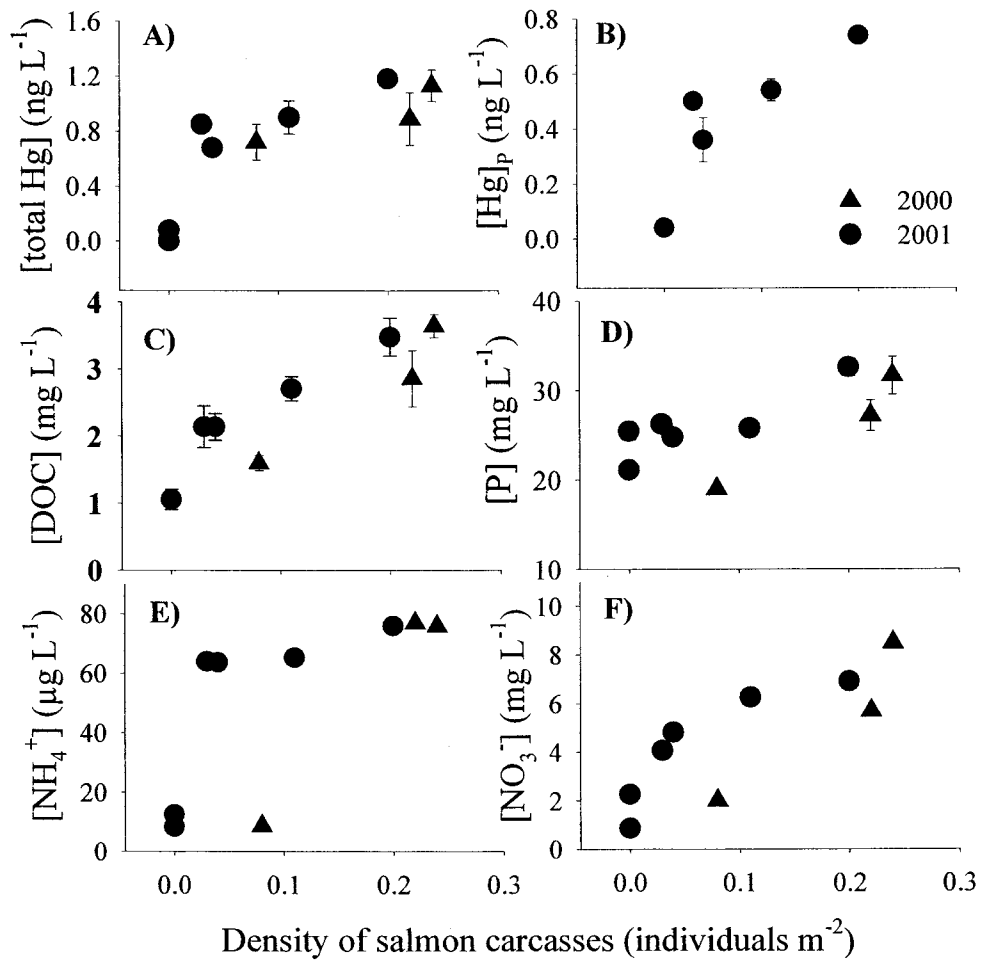
**Figure 3.1** Location of Wilmot Creek ( $43^{\circ}59'N$ ,  $78^{\circ}38'W$ ) and our six sampling stations (U1, U2, M1, M2, D1, D2). The open circle at the mouth of the stream indicates the location where the discharge was measured. Redrawn from Gibson (1996).



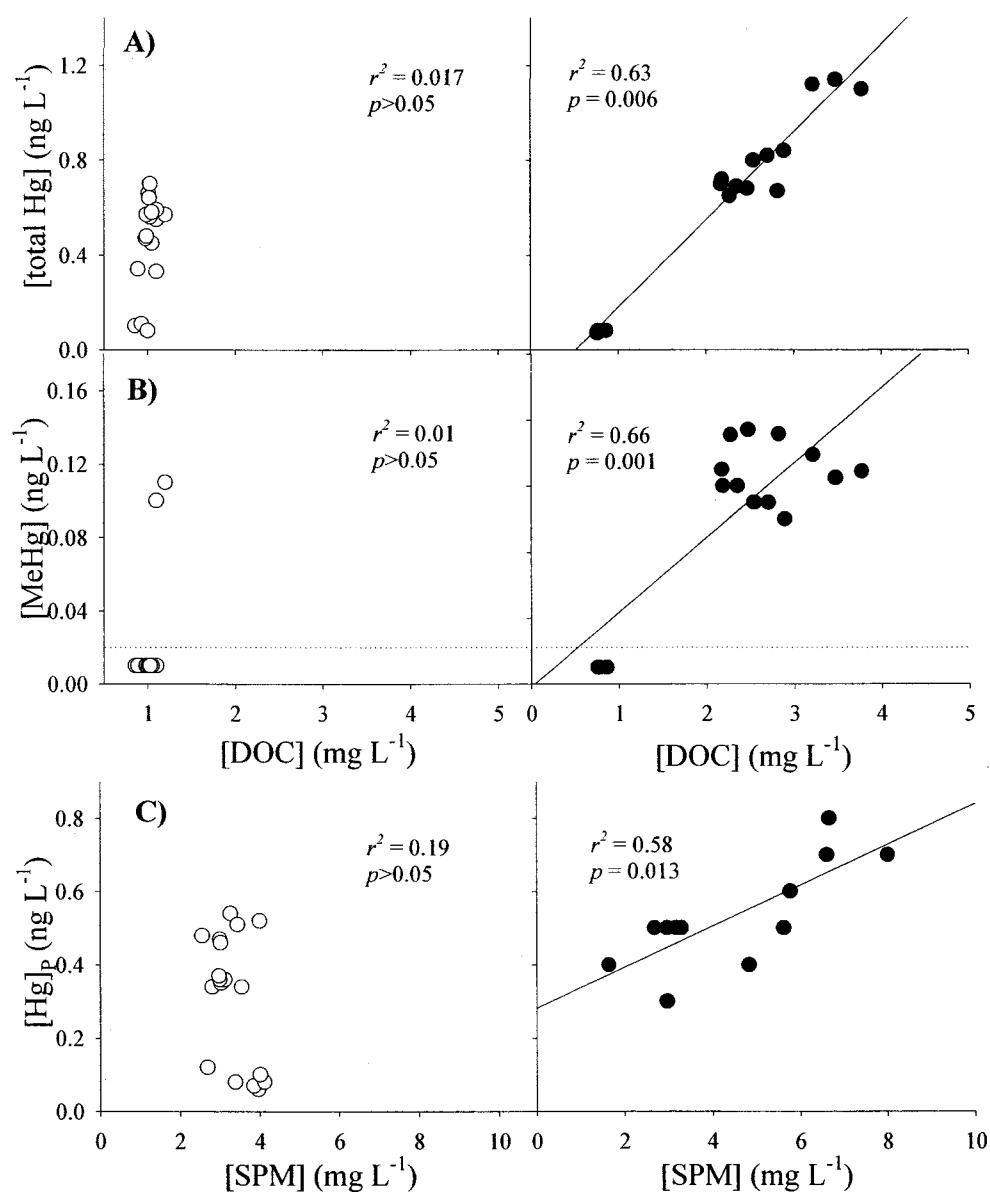
**Figure 3.2** A) The yearly mean discharge ( $L s^{-1}$ ) of Wilmot Creek for the period of 1991 to 2001 as well as its monthly mean ( $\pm$ SD) discharge ( $L s^{-1}$ ) measured in (B) 2000 and in (C) 2001.



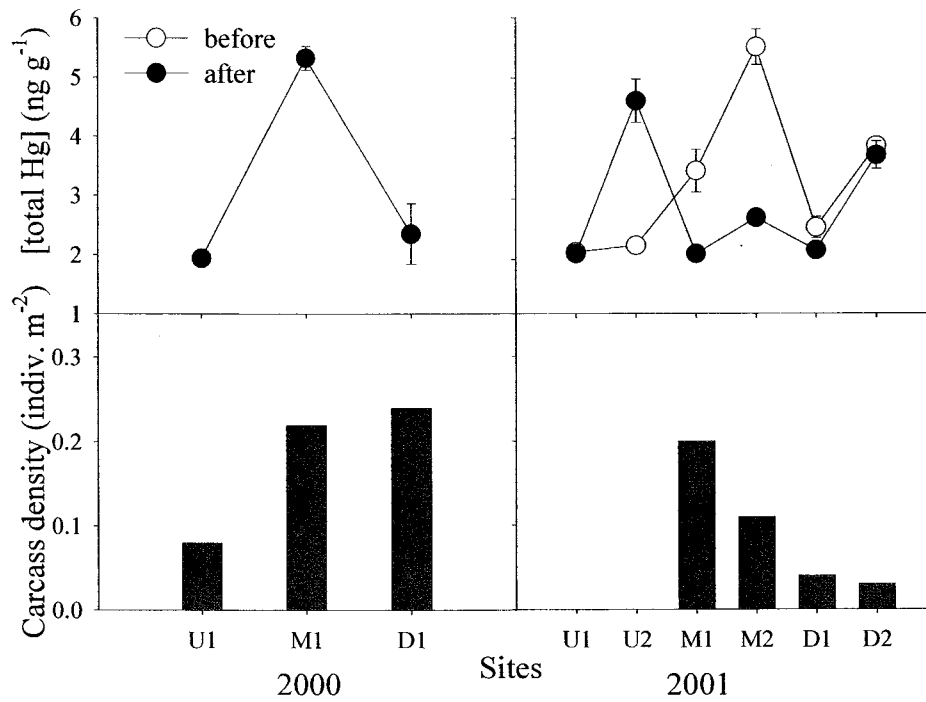
**Figure 3.3** Mean concentrations ( $\pm$  SD) of Hg ( $\text{ng L}^{-1}$ ), dissolved organic carbon, DOC, ( $\text{mg L}^{-1}$ ), nitrate ( $\text{mg L}^{-1}$ ), ammonium ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), phosphorus ( $\text{mg L}^{-1}$ ) and the density of salmon carcasses ( $\text{individuals m}^{-2}$ ) measured in the Gananaska River (GR; inverted triangle) and at each station in Wilmot Creek in 2000 (left panel) and in 2001 (right panel). Data were collected before and after spawning. \* indicates data under the detection limit.



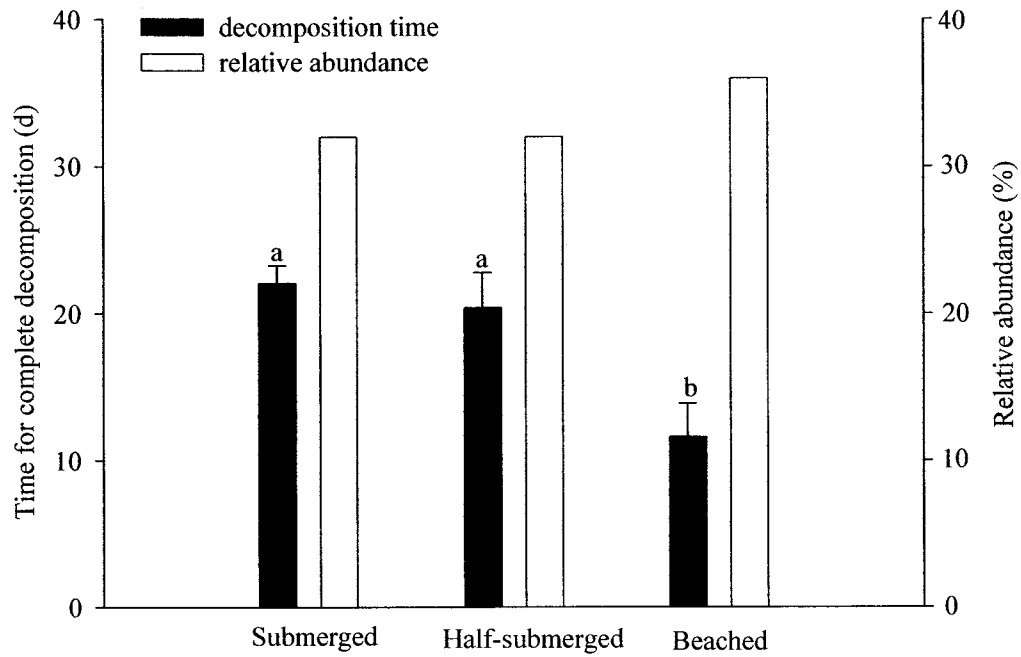
**Figure 3.4** Mean concentrations ( $\pm$  SD) of A) total Hg ( $\text{ng L}^{-1}$ ), B) total particulate Hg ( $\text{ng L}^{-1}$ ), C) dissolved organic carbon, DOC, ( $\text{mg L}^{-1}$ ), D) phosphorus ( $\text{mg L}^{-1}$ ), E) ammonium ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) and F) nitrates ( $\text{mg L}^{-1}$ ) as a function of the density of salmon carcasses ( $\text{individuals m}^{-2}$ ) in the stream after spawnings 2000 and 2001



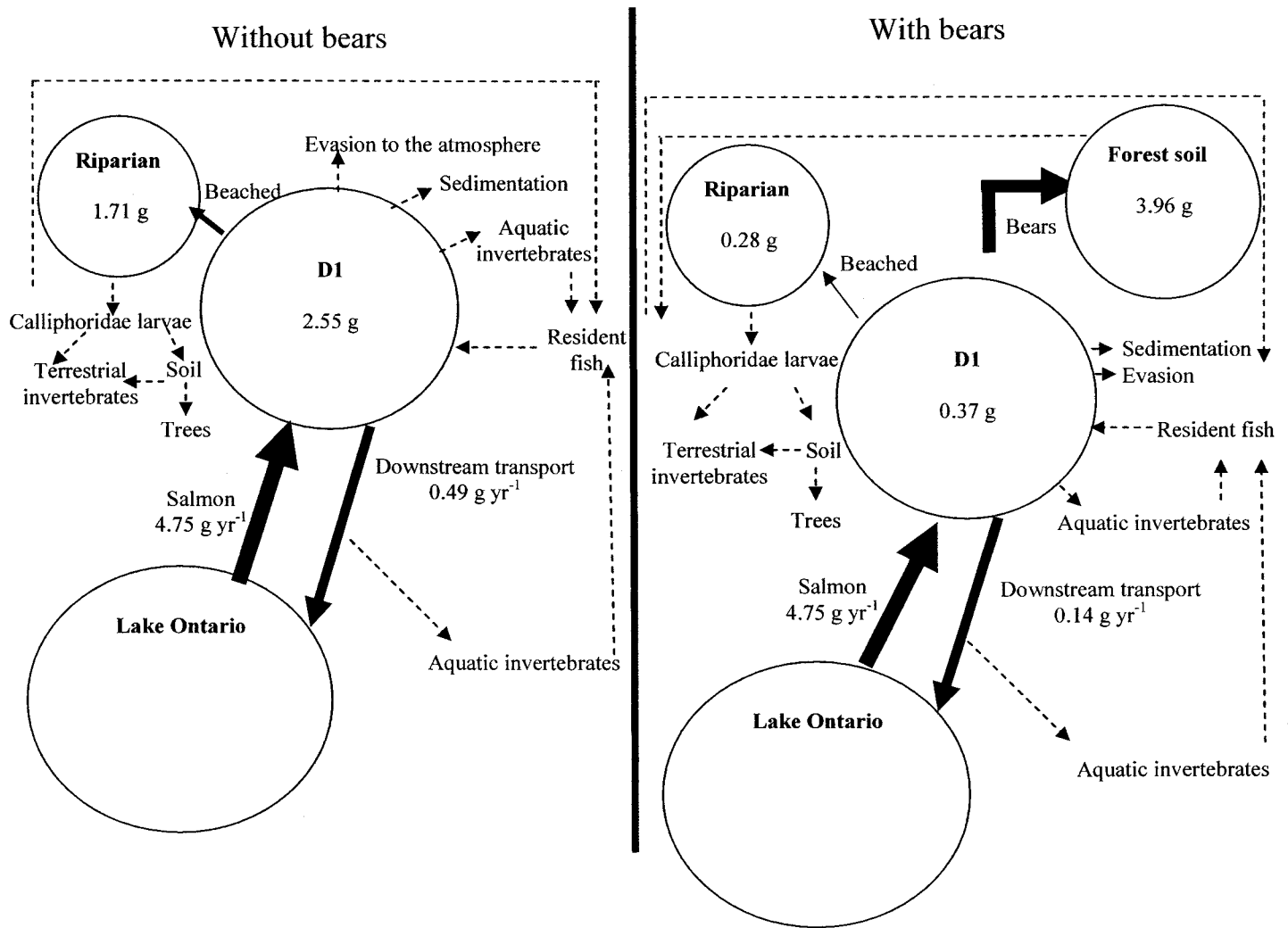
**Figure 3.5** Relationships between A) total Hg (ng L<sup>-1</sup>) and dissolved organic carbon, (DOC, mg L<sup>-1</sup>) concentrations, B) MeHg (ng L<sup>-1</sup>) and DOC (mg L<sup>-1</sup>) concentrations as well as between C) total particulate Hg (ng L<sup>-1</sup>) and suspended particulate matter (SPM, mg L<sup>-1</sup>) concentrations before (open circles) and after (closed circles) spawning in 2001. Each symbol represents one sample and data from all stations are combined. Regression coefficients ( $r^2$ ) and associated  $p$  values are given for significant relationships. The dashed line for MeHg regressions indicate the instrumental detection limit.



**Figure 3.6** Mean concentrations ( $\pm$  SD) of total Hg (ng g<sup>-1</sup> dry weight) in sediments and the density of salmon carcasses (individuals m<sup>-2</sup>) measured at each station in the stream during spawnings 2000 and 2001. Mercury data were collected before and after spawning.

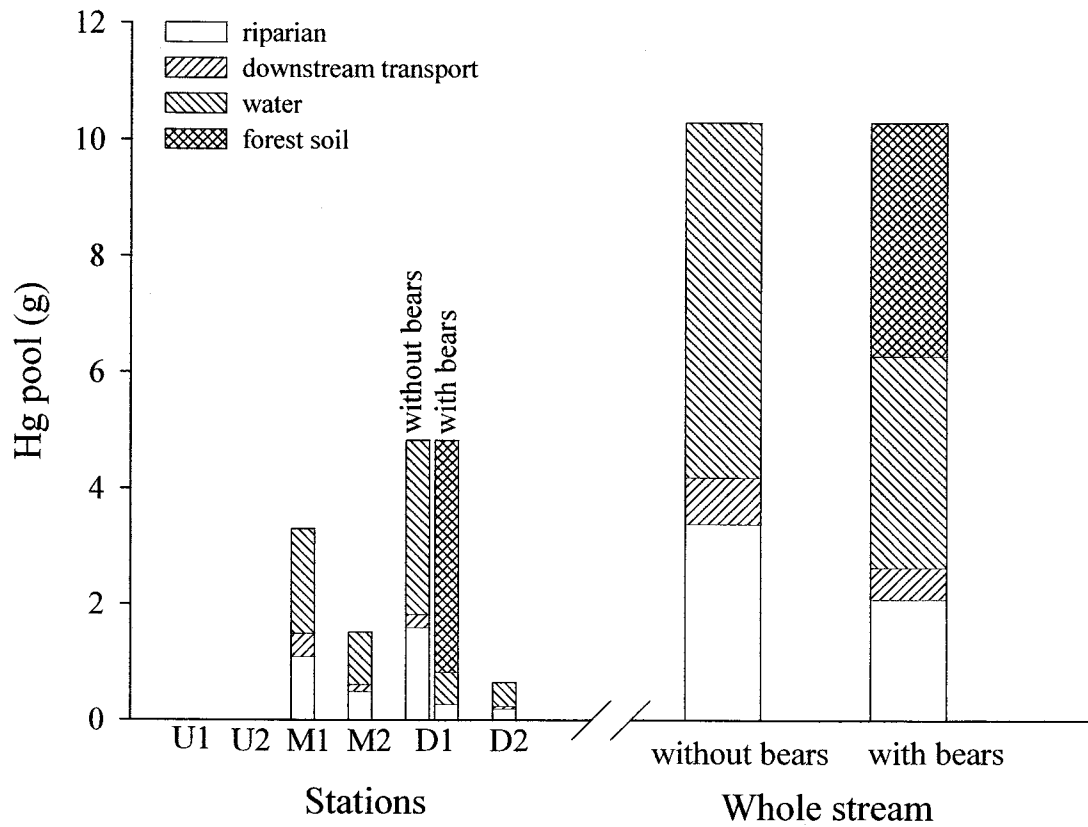


**Figure 3.7** Time of complete decomposition and relative abundance for submerged, half-submerged and beached salmon carcasses in Wilmot Creek. Different letters represent a significant difference (ANOVA,  $p < 0.05$ ). SD is presented.



**Figure 3.8** Assessments of Hg pools (g) and Hg fluxes (g yr<sup>-1</sup>) at station D1 (riparian area, water, downstream transport and forest soil) with or without bears. The dashed lines represent processes for which fluxes are unknown.





**Figure 3.9** Assessments of Hg pools (g) at each station and for the whole stream, with or without the presence of bears.



---

# Chapitre 4: The fate of mercury accumulated by blowflies feeding on fish carcasses (article 3)

---

José Sarica,<sup>†</sup> Marc Amyot,<sup>‡</sup> Julien Bey,<sup>§</sup> and Landis Hare<sup>†</sup>

<sup>†</sup> Institut national de la recherche scientifique (INRS), Eau, Terre et Environnement, Université du Québec, 2800 rue Einstein, C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, G1V 4C7, Canada;

<sup>‡</sup> Département des sciences biologiques, D223, Pavillon Marie-Victorin, Université de Montréal, 90, Vincent d'Indy, Montréal, H2V 2S9, Canada;

<sup>§</sup> Institut universitaire technologique de Clermont-Ferrand, B.P. 86, 63172 Aubière cédex, France.

Environmental Toxicology and Chemistry (sous presse)

**RÉSUMÉ**

Parce que les poissons représentent le principal réservoir de méthylmercure (MeHg) dans la colonne d'eau des systèmes aquatiques d'eau douce, la libération du MeHg issue de leur carcasse pourrait représenter un flux important vers l'environnement. Les larves d'invertébrés nécrophages peuvent jouer un rôle important dans ce recyclage de Hg. Nous avons étudié en nature l'accumulation du Hg dans les larves des mouches domestiques (diptère, Calliphoridae) se nourrissant des carcasses de poisson échouées. Nos résultats ont indiqué que le MeHg accumulé dans ces larves nécrophages était retenu jusqu'au stade pupal pour être finalement éliminé après l'émergence par les nouveaux adultes. Nous concluons que les calliphoridés possèdent un mécanisme efficace d'excrétion du MeHg qu'elles ont accumulé à partir des carcasses de poisson.

**ABSTRACT**

Because fish represent the principal methylmercury (MeHg) pool in the water column of freshwater systems, MeHg released from their carcasses could represent an important flux to the environment. Necrophageous invertebrates such as fly larvae can play an important role in this Hg recycling. We studied Hg accumulation by blowflies (Diptera, Calliphoridae) feeding on beached fish carcasses in the field. We found that the MeHg these flies accumulated as larvae is retained in their pupal stage but is eliminated by the adult following emergence. We conclude that calliphorids possess an efficient mechanism for excreting the MeHg that they accumulate from carcasses.

Keywords- Methylmercury, Fish carcasses, Necrophageous, Blowfly, Calliphorid

## INTRODUCTION

The largest pool of methylmercury (MeHg) in the biota of freshwaters is found in fish tissues [1,2]. Because MeHg is a neurotoxicant, the health of natural predators of fish (including man) can be affected by fish consumption [3]. It has generally been considered that piscivorous animals are at the top of aquatic food chains, and thus contain the highest amount of MeHg. However, necrophageousnecrophagous insects and their predators can be even higher up the food web than fish [4]. The results of recent studies [5, 6] suggest that necrophageousnecrophagous invertebrates recycle mercury (Hg) from fish carcasses. In particular, calliphorid larvae feeding on beached Pacific salmon carcasses can accumulate and biomagnify Hg to levels up to 30 fold higher than their parents, and twice that of the salmon carcasses on which they feed. However, it is unclear if these fly larvae retain this Hg through all of their development stages. This is important to know because adults would be more likely to transfer Hg to the terrestrial environment than would larvae. Previous Other studies have already indicated that emerging aquatic insects can be important in the transfer of contaminants from the aquatic to the terrestrial environment s could be significant, such as in the case of emerging aquatic larvae [7,8]. In this paper, we present the results of a field experiment in which we measured changes in Hg in carcass-associated blowflies through their various developmental stages (egg, larva, pupa, adult).

## MATERIAL AND METHODS

### *Collection of field samples*

Four brook trout carcasses (*Salvelinus fontinalis*; mean ( $\pm$  standard deviation, SD) dry weight =  $532 \pm 72$  g; mean ( $\pm$ SD) length =  $34 \pm 3$  cm) were inserted individually in minnow traps ( $n = 4$ ) placed close to the shore of Le Petit Lake (Sainte-Foy, Québec, Canada) in mid-May 2002.

Carcasses were monitored continuously for 12 hours at the start of the experiment, during which time and native adult blowflies (referred to as adults (lay)) were collected sampled immediately after they had laid their eggs ointo a the carcass during this time period. After 12 hours, each minnow trap was inserted into a perforated plastic bag to avoid subsequent colonisation by other flies and to keep blowfly larvae in fish carcasses for the full duration of the experiment. Day 0 began started when we placed inserted the carcasses in plastic bags. To follow changes in the Hg content of fish during decomposition, we collected fish tissues at times 0 and 12 days. On day 0 we collected dorsal muscle, whereas on day 12 we collected a mixture of decomposing muscles and internal organs. The collection of all blowfly stages was done over a period of one month. Specifically, we sampled blowfly adults (lay), eggs, larvae less than 1 cm of length, larvae greater than 1 cm of length, prepupae, pupae and adults emerging from carcasses (referred to as adults (emerg.)) from each fish carcass. Individual animals or fish tissues were then inserted on Teflon sheets in 1.5 ml high density polyethylene microcentrifuge tubes and frozen [9]. Samples were then freeze dried (lyophilizer FTS Systems<sup>TM</sup>; Mountain View, CA, USA) and subsequently homogenized with a Teflon-coated piston, using the centrifuge tube as the mortar.

### *Hg analyses*

Ultraclean techniques associated with mercury sampling were used in this study. Sample bottles and laboratory glassware were acid washed with 15% HNO<sub>3</sub> (v/v), 1% HCl (v/v) and carefully rinsed seven times with ultrapure water (Milli-Q system water, > 18 Mohm·cm<sup>-1</sup>) while wearing unpowdered latex gloves. All frozen samples were freeze-dried (lyophilizer FTS Systems) and blended in the laboratory.

We measured the total Hg concentration in each blowfly development stage and in the dorsal muscle of fish using a Direct Mercury Analyzer (DMA-80, atomic absorption spectrophotometry, Monroe, CT, USA) with thermal combustion (drying: 10 s at 160 °C; thermal desorption: 150 s at 750°C). Quality control was assessed by using reference material for appropriate matrices: Hg concentrations in reference material varied little

over time and were not significantly different from certified values (marine dogfish: DORM-2, coefficient of variation = 9% and lobster hepatopancreas: TORT-1, coefficient of variation = 3%: National Research Council of Canada , Ottawa, Ontario, Canada; oyster, coefficient of variation = 4%: National Bureau of Standards-1566, Washington, District of Columbia, USA).

The extraction and ethylation of MeHg from the various developmental stages of blowflies collected from carcass 3 and from fish tissues (carcasses 1 and 3) were conducted according to the methods described by Bloom [10,11]. Fish carcass 3 was used for MeHg analyses in blowflies because it was the one that provided sufficient biomass for all of the developmental stages. Briefly, MeHg was extracted with a 25 % (w/v) KOH/MeOH solution at a temperature of 68 °C for 8 h. For MeHg ethylation, lactic acid and 1% (w/v) sodium tetraethylborate were added. Ethylated MeHg from the solution was purged on a Tenax® column (Scientific instrument Services, Ringoes, NJ, USA), which was then dried for 10 minutes. The derivatized Hg species were thermodesorbed onto a GC column. MeHg was detected by atomic fluorescence with a detection limit of 5.4 pg of Hg. MeHg concentrations in reference material varied little over time and were not significantly different from certified values (TORT-2, coefficient of variation = 10%: National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario, Canada).

## STATISTICS

We used multifactorial analyses of variance (ANOVA; factor I: Hg in carcasses; factor II: Larval stages) to test for the effect of Hg in different carcasses. This ANOVA indicated that there was no direct effect or interaction of total Hg in different carcasses on total Hg in larval stages ( $p > 0.05$ ,  $n = 99$ ). We therefore pooled all the data (Fig. 4.1). Differences in MeHg concentrations and burdens between developmental stages of blowflies in carcass 3 were tested with a one-way ANOVA (Fig. 4.2). Differences in total Hg and MeHg concentrations for each fish carcass between days 0 and 12 were tested with a *t* test. All analyses were performed using SYSTAT, version 10, from SPSS Science Marketing Department (Chicago, IL, USA)».



## RESULTS AND DISCUSSION

Total Hg and MeHg concentrations in brook trout carcasses (Table 4.1) decreased significantly between days 0 and 12 (*t* test,  $p = 0.005-0.04$ ,  $n = 4$  per carcass). This suggests that either blowfly larvae preferentially fed on tissues rich in Hg, such as muscle and liver, and/or the activity of larvae in carcasses caused a mixing of Hg rich muscle tissues with less contaminated internal organs.

For all carcasses, both total Hg and MeHg concentrations and burdens increased significantly from eggs to pupae (mutifactorial ANOVA,  $p = 0.0004-0.017$ ,  $n = 99$ ; Fig. 4.1a,b and Fig. 4.2a,b). Maximum Hg values in pupae were from 4 times higher than those in colonizing adults.

Small and large blowfly larvae had similar total Hg concentrations (ANOVA,  $p > 0.05$ ; Fig. 4.1a) but differed in their total Hg burdens (ANOVA,  $p = 0.001$ ,  $n = 37$ ; Fig. 4.1b), suggesting that total Hg accumulation occurred at the same rate as did the addition of larval tissues (Fig. 4.1c). In contrast, large larvae had higher MeHg concentrations and burdens than did small larvae (ANOVA,  $p = 0.001$ ,  $n = 14$ ; Fig. 4.2a,b), which suggests that MeHg is biomagnified between fish and blowfly larvae. Note that this conclusion is based on the data collected on a single carcass and should therefore be considered with caution. The concentration factor, calculated as the ratio of the total Hg concentration in blowflies to that in fish [12], was lower for larvae (0.84) than for prepupae and pupae (1.3 and 1.6, respectively). The concentration factor calculated this time with using MeHg concentrations (blowflies collected on carcass 3) reached 0.57 for small larvae, 1.0 for large larvae, 1.7 for prepupae and 1.93 for pupae. However, all of these concentration factors were lower than those reported for calliphorid larvae feeding on Pacific salmon carcasses (concentration factor = 2.3 for total Hg; [5]). The difference is likely explained by the fact that in our study less than 50% of the Hg in the dorsal muscle of brook trout is MeHg (Table 4.1), whereas in the dorsal muscle of Pacific salmon carcasses more than 80% of the Hg is MeHg [5]. The relatively higher concentration factors reported for Pacific salmon suggest that blowfly larvae are able to excrete inorganic mercury much

more effectively than MeHg (strongly bound to proteins), which is in agreement with results obtained in a laboratory experiment on blowflies by Nuorteva and Nuorteva [4]. The proportion of MeHg increases from small larvae (30%) to large larvae (65%) to pupae (90%), suggesting that MeHg taken up from fish is largely retained through the various stages. This result contrasts with the trends reported for some other Diptera [13,14,15] and Lepidoptera [16,17] for which some metals are eliminated between the larval and pupal stages.

Adults 2 had much lower total Hg (Fig. 4.1a) and MeHg (Fig. 4.2a) concentrations than did pupae, suggesting that the considerable quantities of Hg taken up by blowfly larvae were eliminated after emergence of the adult flies. Indeed, Hg concentrations and Hg burdens decreased by 70 % (i.e,  $105 \pm 20$  (standard error)  $\text{ng g}^{-1}$ ) and 96 % (i.e,  $2.7 \pm 0.5$  (standard error) ng), respectively, after emergence. Both MeHg concentrations and MeHg burdens decreased also by more than 95% (i.e,  $130 \pm 10$  (standard error)  $\text{ng g}^{-1}$  and  $2 \pm 0.4$  (standard error) ng), after emergence. Episodic metal elimination through processes such as molting, larval defecation and voiding of the meconium (wastes in the gut) by adults has been reported for various insect taxa [15,16]. The meconium is reported to be an effective means of eliminating metals for insects of several orders including the Neuroptera [15], Lepidoptera [16,17] and Diptera [4,13]. For example, Kazimirova and Ortel [15] showed that the following emergence flies can eliminate via the meconium 30% of their Cd, 50% of their Pb and 40% of their Cu, after emergence. Nuorteva and Nuorteva [4] observed in the laboratory that up to 80% of the Hg measured in pupae was defecated in the meconium of adult blowflies. Thus blowflies have a well-developed ability to decrease their Hg content via the meconium.

We conclude that blowfly larvae efficiently accumulate MeHg from fish carcasses up to the pupal stage, but lose most of this MeHg after emergence. Thus, beetles, spiders and birds feeding on these larvae [4,18] would be exposed to high Hg concentrations and could develop symptoms of mercury poisoning (i.e, leg paralysis) causing death [4], whereas predators of calliphorid adults would be less likely to suffer such a fate. The ecosystem fate of the MeHg associated to the meconium is unknown.



## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors gratefully acknowledge financial support to M. Amyot from the Collaborative Mercury Research Network, Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and The Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. J. Sarica was supported by a scholarship from INRS. We thank A. Vachon from la Base de Plein-Air de Sainte-Foy for his help in the field experimental design. Lastly, we would also like to thank F. Boudreau, G. Cabana, C. Gobeil and R. Schetagne for their comments on an earlier version of the manuscript, and J.C. Auclair for his comments on statistical tests.

**REFERENCES**

- [1] Porcella DB. 1994. Mercury in the environment: Biogeochemistry. In Watras CJ, Huckabee JW, eds, *Mercury Pollution-Integration and Synthesis*. CRC, Boca Raton, FL, USA, pp 3-19.
- [2] Watras CJ, Bloom NS, Hudson RJM, Gherini S, Munson R, Claas SA, Morrison KA, Hurley J, Wiener JG, Fitzgerald WF, Mason RP, Vandal G, Powell D, Rada R, Rislov L, Winfrey M, Elder J, Krabbenhoft D, Andren A.W, Babiartz C, Porcella DB, Huckabee JW. 1994. Sources and fates of mercury and methylmercury in Wisconsin lakes. *Proceedings, 2<sup>nd</sup> International Conference on Mercury as an Environmental Pollutant*, (May 31-June 4, 1992), Lewis, Boca Raton, FL, USA, pp 153-180.
- [3] Ullrich SM, Tanton TW, Abdrashitova SA. 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Crit Rev Environ Sci Technol* 31:241-293.
- [4] Nuorteva P, Nuorteva SL. 1982. The fate of mercury in sarcosaprophagous flies and in insects eating them. *Ambio* 11:34-37.
- [5] Sarica J, Amyot M, Hare L, Doyon MR, Stanfield LW. 2004. Salmon-derived mercury and nutrients in a Lake Ontario spawning stream. *Limnol Oceanogr* 49(4): 891-899.
- [6] Sarica J, Amyot M, Hare L, Blanchfield P, Bodaly RA, Hintelmann H, Lucotte M. 2004. Mercury transfer from fish carcasses to scavengers in boreal lakes: the use of stable isotopes of mercury. *Environ Pollut* (in press).
- [7] Fairchild WL, Muir DCG, Curries RS, Yarechewski AL. 1992. Emerging insects as a biotic pathway for movement of 2,3,7,8-tetrahydrodibenzofuran from lake sediments. *Environ Toxicol Chem* 11(6):867-872.

- [8] Curries RS, Fairchild WL, Muir DCG. 1997. Remobilization and export of cadmium from lake sediments by emerging insects. *Environ Toxicol Chem* 16(11):2333-2338.
- [9] Croteau MN, Hare L, Tessier A. 2001. Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus*. *Can J Fish Aquat Sci* 58:1737-1746.
- [10] Bloom NS. 1989. Determination of picogram levels of methylmercury by aqueous phase ethylation, followed by cryogenic gas chromatography with cold vapour atomic fluorescence detection. *Can J Fish Aquat Sci* 46:1131-1140.
- [11] Bloom NS. 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissues. *Can J Fish Aquat Sci* 49:1010-1017.
- [12] Hare L. 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit Rev Toxicol* 22:327-369.
- [13] Aoki Y, Suzuki KT, Kubota K. 1984. Accumulation of cadmium and induction of its binding protein in the digestive tract of fleshfly (*Sarcophaga peregrine*) larvae. *Comp Biochem Physiol C* 77:279-282.
- [14] Postma JF, Nugteren PV, Buckert-De Jong MB. 1996. Increased cadmium excretion in metal-adapted populations of the midge *Chironomus riparius* (Diptera). *Environ Toxicol Chem* 15:332-339.
- [15] Kazimirova M, Ortel J. 2000. Metal accumulation by *Ceratitis capitata* (Diptera) and transfer to the parasitic wasp *Coptera occidentalis* (Hymenoptera). *Environ Toxicol Chem* 19:1822-1829.
- [16] Ortel J. 1995. Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpa turionellae*. *Entom Exp Appl* 77:89-97.

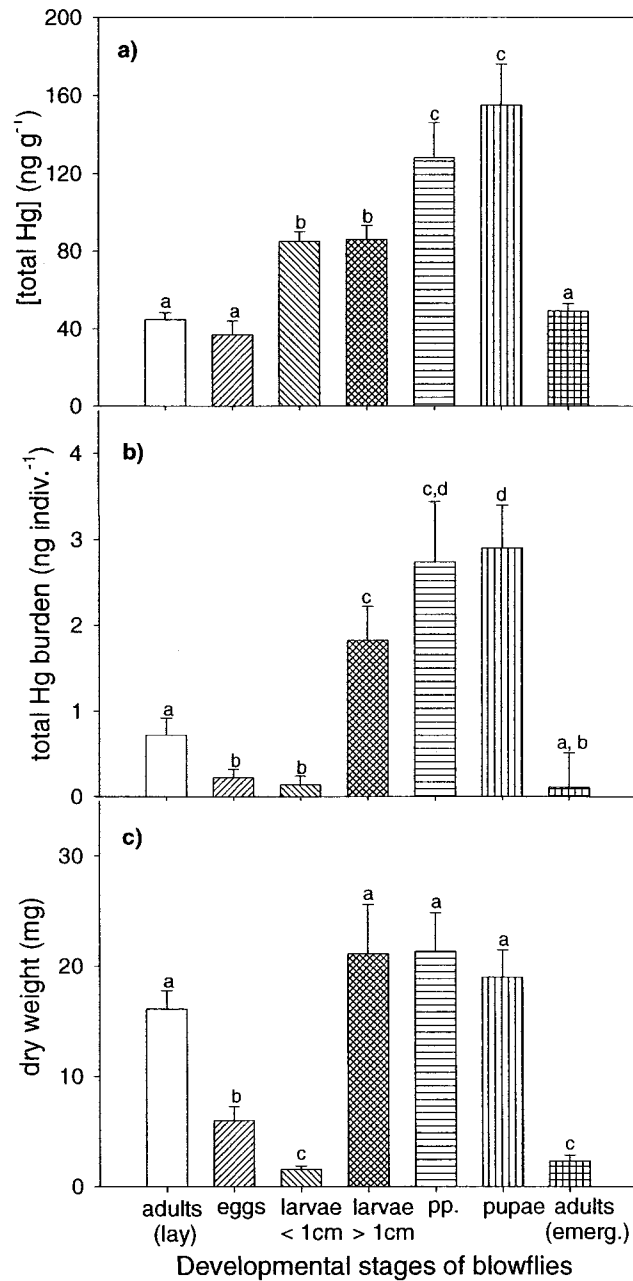
[17] Gintenreiter S, Ortel J, Nopp H. 1993. Bioaccumulation of cadmium, lead, copper and zinc in successive developmental stages of *Lymantria dispar* (Lymantriidae, Lepid.)- a life cycle study. *Arch Environ Contam Toxicol* 25:55-61.

[18] Introna F, Campobasso CP, Goff ML. 2001. Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* 120:42-47.

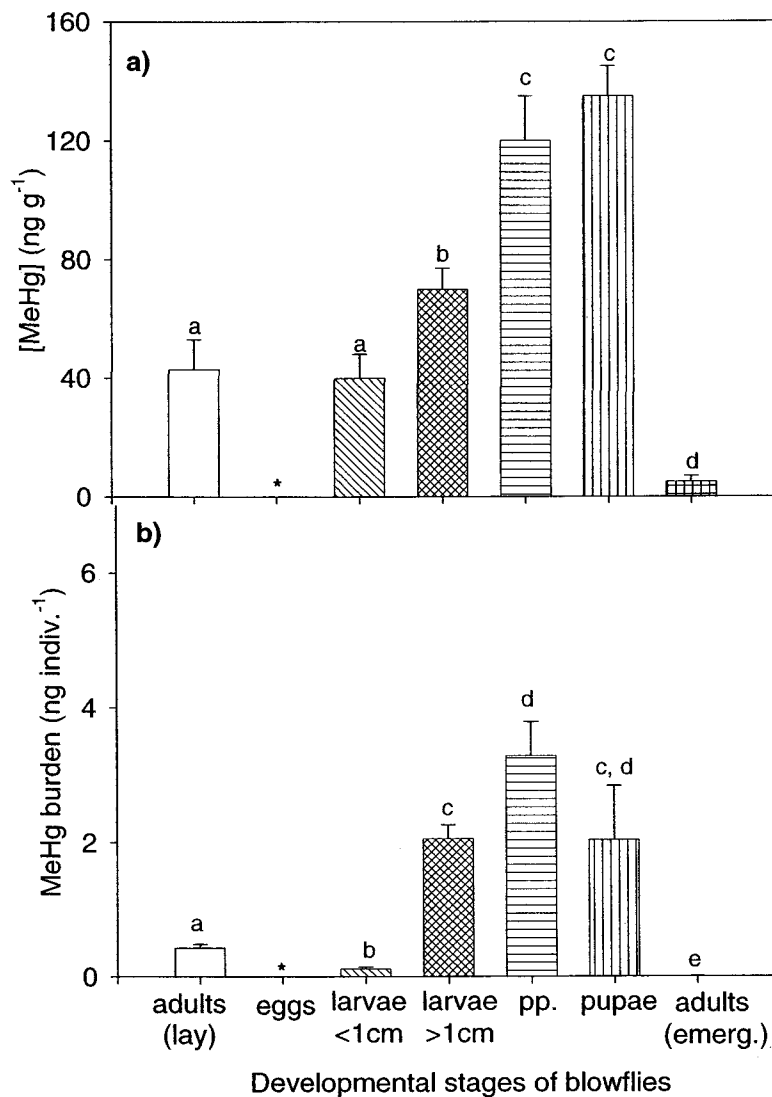
**Table 4.1** Mean ( $\pm$  standard deviation) concentrations of total Hg and MeHg ( $\text{ng g}^{-1}$ , dry weight) measured in fish tissues from four brook trout carcasses at day 0 (dorsal muscle) and day 12 (mixture of muscles and internal organs). ND means no data. A and b represent a significant difference in the Hg concentrations measured in fish carcasses between days 0 and 12 (*t* test,  $p < 0.05$ ).

Carcass number	1	2	3	4
[total Hg]				
Days 0	$121 \pm 5^a$	$118 \pm 10^a$	$145 \pm 30^a$	$123 \pm 7^a$
12	$100 \pm 5^b$	$96 \pm 8^b$	$102 \pm 4^b$	$94 \pm 4^b$
[MeHg]				
Days 0	$53 \pm 4^a$	ND	$70 \pm 5^a$	ND
12	$40 \pm 3^b$	ND	$50 \pm 6^b$	ND





**Figure 4.1.** **a)** Total Hg concentrations ( $\text{ng g}^{-1}$ , dry weight), **b)** total Hg burden ( $\text{ng individual}^{-1}$ ) and **c)** dry weight ( $\text{mg individual}^{-1}$ ) for the various developmental stages of blowflies: adults (lay), eggs, larvae smaller than 1cm, larvae longer than 1cm, prepupae “pp.”, pupae and adults (emerg.) collected from four brook trout carcasses. Different letters represent a significant difference between stages (multifactorial analyses of variance,  $p < 0.05$ ). The standard error is shown.



**Figure 4.2.** **a)** MeHg concentrations ( $\text{ng g}^{-1}$  dry weight), **b)** MeHg burden ( $\text{ng individual}^{-1}$ ) for the different developmental stages of blowflies: adults (lay), eggs, larvae smaller than 1cm, larvae longer than 1cm, prepupae “pp.,” pupae and adults (emerg.) collected from brook trout carcass number 3. Different letters represent a significant difference between stages (analyses of variance,  $p < 0.05$ ). The standard deviation is shown except for blowfly eggs for which the single value was below the detection limit (shown by \*).