

Université du Québec  
INRS-Eau

**LE BIOMONITEUR *CHAOBORUS*: INFLUENCE DE LA  
TEMPÉRATURE ET DES VARIABLES BIOLOGIQUES  
SUR LA BIOACCUMULATION DU CADMIUM**

Par  
Marie-Noëlle Croteau

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

Jury d'évaluation

Président du jury  
Examineur interne

Dr Norman D. Yan  
York University

Examineur externe

Dr Samuel N. Luoma  
U.S. Geological Survey

Examineur externe

Dr John R. Reinfelder  
Rutgers University

Directeur de recherche

Dr Landis Hare  
INRS-Eau

Codirecteur de recherche

Dr André Tessier  
INRS-Eau

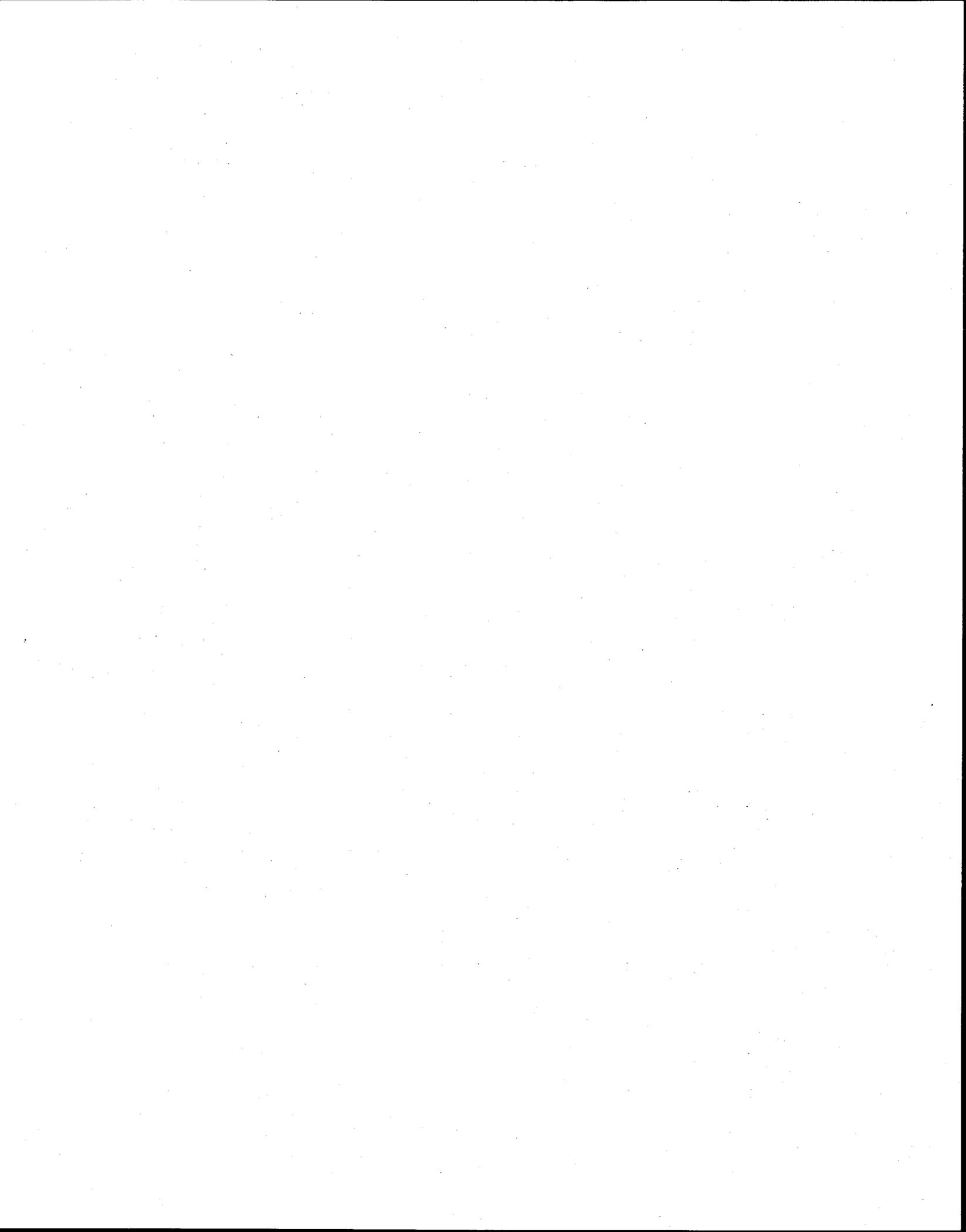
Mai 2002

*«Les grandes personnes aiment les chiffres. Quand vous leur parlez d'un nouvel ami, elles ne vous questionnent jamais sur l'essentiel. Elles ne vous disent jamais: «Quel est le son de sa voix? Quels sont les jeux qu'il préfère? Est-ce qu'il collectionne les papillons?» Elles vous demandent: «Quel âge a-t-il? Combien a-t-il de frères? Combien pèse-t-il? Combien gagne son père?» Alors seulement elles croient le connaître.»*

*Le Petit Prince, Saint-Exupéry*

*Aucune tête n'est assez dure pour briser un rêve...*

*À mes parents*



## AVANT-PROPOS

Cette thèse «par articles» comporte d'abord une synthèse qui fait état de la problématique et de la pertinence de mon sujet de recherche tout comme elle décrit les principaux résultats obtenus et discute de leurs implications. Cinq articles soumis dans des revues avec comité de lecture (dont quatre sont pour l'instant acceptés) viennent ensuite appuyer la synthèse. Les résultats partiels d'une étude «indépendante à la thèse» (quoique réalisée au cours de mes études de doctorat) se trouvent en annexes puisqu'ils contribuent à l'avancement de nos connaissances sur le sujet abordé dans cette thèse soit, l'accumulation du Cd par les larves de l'insecte *Chaoborus*.

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

1. Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Relating Cd concentrations in the predatory insect *Chaoborus* to those of its prey in nature. *Limnol. Oceanogr.* (soumis)
2. Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2001). Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 1737-1746.
3. Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Influence of temperature on Cd accumulation by species of the biomonitor *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 505-514.
4. Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Increases in food web cadmium following reductions in atmospheric inputs to some lakes. *Environ. Sci. Technol.* (accepté)
5. Croteau, M.-N., Hare, L., Campbell, P.G.C. & Y. Couillard (2002). Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*; occurrence and relationship to ambient metal concentrations in lakes. *Environ. Toxicol. Chem.* **21**: 737-741.

**Marie-Noële Croteau:** Conception, réalisation des projets (échantillonnage, analyses, taxonomie, traitement des données) et rédactions des articles.

**Landis Hare:** Conception des projets, contribution aux traitements des données et rédaction finale des articles

- André Tessier:** Conception des projets, contribution aux traitements des données et à la rédaction des articles
- Peter G. Campbell:** Conception du projet et contribution aux traitements des données et à la rédaction de l'article
- Yves Couillard:** Conception du projet et contribution aux analyses biochimiques ainsi qu'à la rédaction de l'article

## REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, Landis Hare, pour toutes ces opportunités de travail, de recherche, de rencontres, de voyages et de discussions qui ont contribué à mon apprentissage, à ma formation. Landis, mon mentor, vous côtoyer pendant ces années m'a permis d'être aspergée de votre science et baignée de votre philosophie de vie empreinte d'humour, de tolérance, d'ouverture, de sagesse et d'humanité. Landis, mon ami, la confiance que tu m'as toujours accordée m'a nourrie et propulsée vers l'avant. Landis te fréquenter m'a donné le goût de me surpasser, de devenir meilleure, en sciences et comme être humain. Je ne pourrai jamais assez te remercier de cet enseignement.

J'aimerais également remercier mon codirecteur de recherche, André Tessier, pour sa grande disponibilité, sa science des équations et des modèles géochimiques de même que sa perspicacité, ses idées novatrices et son souci de justesse et de précision. Monsieur Tessier, merci pour votre enthousiasme à l'égard des projets que j'ai menés. Votre confiance en moi et vos encouragements ont été des moteurs dans la réalisation des nombreuses études de mon doctorat. Vous êtes pour moi un symbole d'intégrité scientifique et humaine, une qualité peu commune et fort louable qui représente un idéal vers lequel je souhaite tendre.

Je souhaiterais également remercier les membres de mon comité du jury, les Drs Samuel N. Luoma, John R. Reinfelder et Norman D. Yan pour avoir accepté de réviser ma thèse et de s'être déplacés pour la tenue de ma soutenance. Je ne saurais de plus passer sous silence l'intérêt et l'enthousiasme que vous avez manifestés à l'égard de mes travaux de recherche.

Des remerciement s'adressent également aux professeurs Campbell (INRS-Eau) et Amyot (INRS-Eau) pour leurs encouragements et leurs conseils lors de la réalisation de mes travaux dirigés. De plus, j'aimerais remercier particulièrement le Dr Samuel Luoma (USGS) et son équipe (Cindy, Dan, Michelle) pour les conseils, les encouragements, l'appui et le

traditionnel festin (toujours accompagné de rires et de bons vins) lors de nos rencontres annuelles à l'occasion du congrès *SETAC*.

Des remerciements s'adressent également à Nancy Simard, Suzanne Fournier, Pierre Marcoux, Raphaël Savard, Marie-Renée Doyon, Anne Gosselin et Louis Croisetière pour leur aide technique sur le terrain de même qu'aux techniciennes et techniciens du laboratoire de l'INRS-Eau pour leur aide et leurs conseils lors des analyses chimiques. Je pense ici tout particulièrement à Michèle G. Bordeleau, René Rodrigue, Sylvie St-Pierre et Pauline Fournier. Dans le même ordre d'idée, j'aimerais également remercier Lise Rancourt, Anik Giguère, Yves Couillard et Louis Croisetière pour leur aide et conseils lors d'analyses chimiques et biochimiques.

Je voudrais enfin remercier mes amis pour leur confiance et leur soutien quasi indéfectibles, leur complicité et leur écoute de même que pour leur implication à faire foisonner le rire durant ces années d'études intensives. Je pense notamment à Marie-Renée, Pierre, Sylvie, Catalina, José, Chantal, Anik, Marcel, Valérie, Marie-France et plus récemment, ma chère sœur Annie. Des remerciements bien spéciaux s'adressent également à Caroline et Françoise en raison de la place particulière qu'occupent ces femmes dans ma vie. Enfin, je ne saurais passer sous silence l'appui inconditionnel de mes parents qui ont su croire en moi, me soutenir et m'encourager dans cette longue et parfois périlleuse aventure...

Les divers projets de recherche ont été rendu possible grâce aux supports financiers du réseau MITE (*Metal In The Environment*), du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie du Canada, des Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, du Ministère de l'Éducation du Québec, du Ministère Fédéral des Ressources Humaines et de l'U.S. Environmental Protection Agency.

## RÉSUMÉ

Les activités industrielles ont contribué à disperser dans l'environnement lacustre d'importantes quantités de contaminants inorganiques comme le cuivre, le zinc, le plomb, le nickel et le cadmium. Ces métaux sont reconnus pour s'accumuler dans les organismes et provoquer des effets toxiques pouvant nuire tant à leur développement qu'à leur survie. La détermination du niveau de contamination en métaux des écosystèmes permet donc d'évaluer les risques qu'encourent les organismes exposés. Or, il s'avère possible d'estimer le niveau de contamination des systèmes lacustres en mesurant directement les concentrations de métal dans les organismes aquatiques. Dans le cas du Cd, l'accumulation de ce métal par les larves de l'insecte *Chaoborus punctipennis* peut être raisonnablement bien prédite par les concentrations de Cd libre dans le milieu en se basant sur le modèle théorique de l'ion libre et en prenant en considération la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites d'absorption biologique.

Afin de vérifier si les concentrations en Cd de ce biomoniteur reflétaient également les changements temporels survenus dans la qualité des eaux, nous avons mesuré les concentrations de ce métal sur un intervalle de 13 ans dans des lacs situés près de fonderies. Nos résultats ont montré que la réduction des concentrations en Cd dans l'eau de certains lacs s'était soldée par un accroissement des concentrations de Cd chez *Chaoborus*. Nous avons expliqué ces résultats contradictoires à la logique (i.e., l'amélioration de la qualité d'un milieu devrait se répercuter sur les organismes qui y vivent) par le fait que les diminutions marquées dans les concentrations de protons ont réduit la compétition entre les ions  $H^+$  et  $Cd^{2+}$  pour les sites d'absorption membranaire. Les organismes de ces lacs ont donc accumulé plus de Cd en dépit des concentrations relativement plus faibles de ce métal dans le milieu, ce qui suggère que les risques d'effets toxiques pourraient s'être accrus dans certains lacs se rétablissant de la contamination métallique.

Dans un second projet, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd chez ce biomoniteur devaient être directement reliées aux concentrations en Cd de ses proies (les organismes zooplanctoniques) puisque la nourriture constitue la voie d'entrée majeure du Cd chez les larves de cet insecte prédateur. La vérification de cette hypothèse a nécessité l'échantillonnage et le dosage du Cd dans *Chaoborus* et ses proies potentielles provenant d'une vaste série de lacs du Bouclier Canadien. Nos résultats ont montré que les concentrations de Cd mesurées dans ce prédateur n'étaient pas reliées aux concentrations

de Cd retrouvées dans des assemblages de proies fractionnées (ou non) en regard de la taille des organismes présents. Les concentrations de Cd chez *Chaoborus* étaient par ailleurs significativement corrélées aux concentrations de Cd mesurées chez deux groupes majeurs de proies, i.e., les cladocères et les copépodes. Conformément au modèle de l'ion libre, nous avons de plus démontré que les concentrations en Cd des proies de *Chaoborus* étaient significativement reliées aux concentrations en Cd libre du milieu. Nos résultats suggèrent qu'une fine résolution taxonomique des proies consommées par un prédateur, combinée à une connaissance approfondie des relations trophiques qui relient les organismes planctoniques entre eux, favoriseraient le développement de relations prédictives plus performantes. Il serait alors possible de relier efficacement les concentrations de métal retrouvées entre des organismes de niveaux trophiques divers et parvenir à les corrélérer aux concentrations de métal retrouvées dans le milieu aqueux.

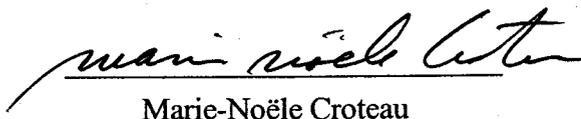
De plus, afin de faire la lumière sur les processus qui modulent l'accumulation de Cd chez les larves de cet insecte, nous avons exposé en laboratoire plusieurs espèces de *Chaoborus* à des quantités similaires de Cd contenues dans des proies naturellement contaminées. Au termes de ces expériences, nous avons mesuré des différences substantielles dans l'accumulation du Cd, i.e., les espèces de grande taille avaient en effet accumulé plus de Cd que les espèces de petite taille et ce, malgré un taux d'ingestion des proies similaires entre les quatre espèces. Afin de déterminer les causes de cette accumulation différentielle du Cd entre espèces, nous avons appliqué à nos données expérimentales un modèle de bioaccumulation théorique. Ce modèle a permis de comparer les espèces en regard de leurs constantes de taux de croissance et de perte de Cd, de leur efficacité d'assimilation du Cd et de leurs concentrations de Cd à l'état stationnaire. Les différences mesurées dans l'accumulation du Cd entre les espèces furent expliquées principalement par le fait que les espèces de petite taille assimilaient de leurs proies une proportion de Cd beaucoup plus faible ( $\approx 6\%$ ) que les espèces de grande taille (45% et 58%). En utilisant une procédure expérimentale similaire, nous avons réalisé de plus des expériences permettant de déterminer si les taux d'accumulation du Cd variaient selon la température d'exposition. Nos résultats ont montré que le taux d'accumulation du Cd augmentait en fonction de la température pour toutes les espèces puisque la température influençait la prise en charge du Cd mais non sa perte.

Ces résultats suggèrent que les différences observées en milieu naturel dans les concentrations de Cd entre espèces coexistantes seraient attribuables non seulement au fait que les espèces diffèrent entre elles dans leur efficacité d'assimilation du Cd mais

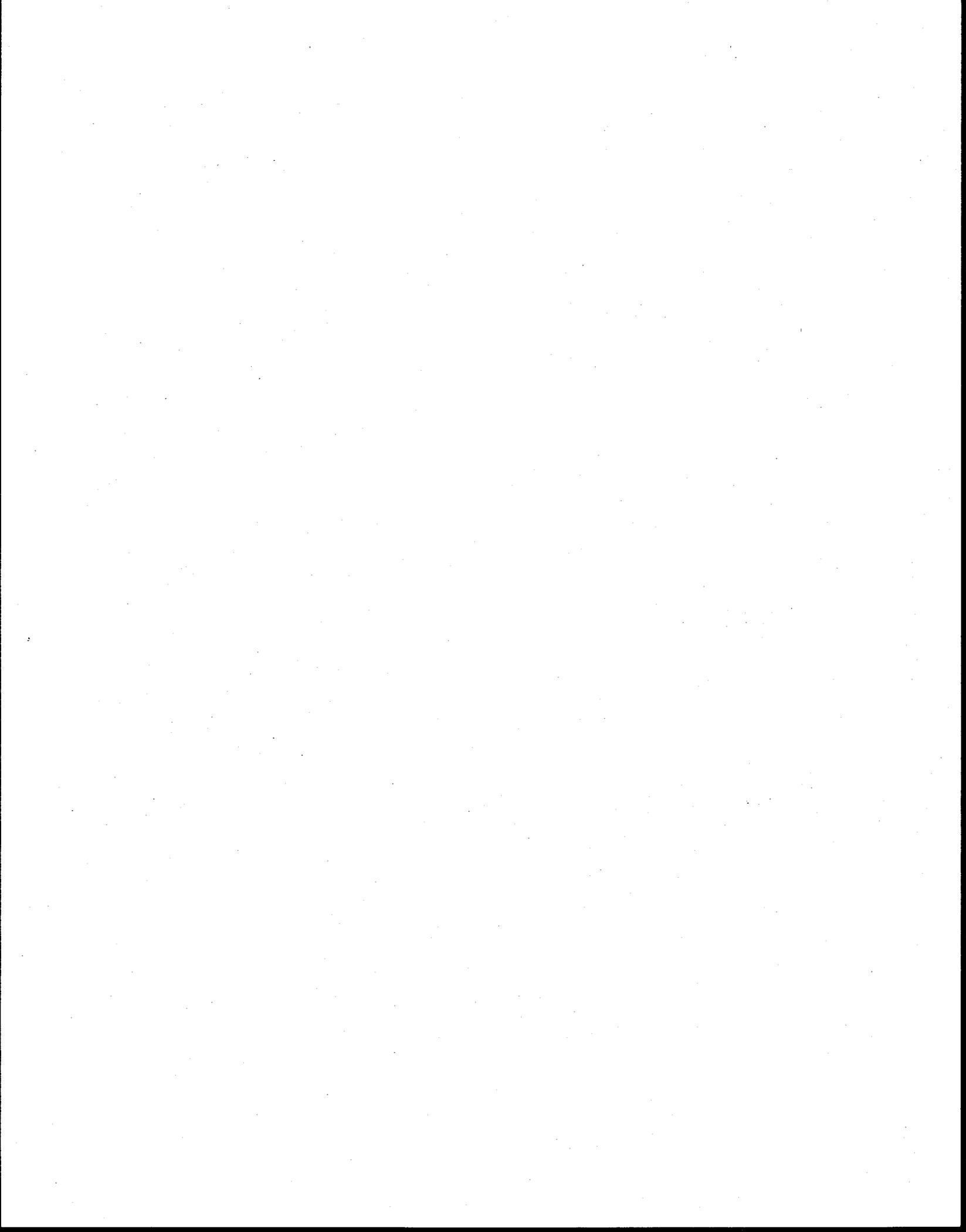
également dans leur régime alimentaire. De plus, la température d'exposition pourrait également être invoquée pour expliquer, du moins en partie, les variations dans les concentrations de Cd observées chez une même espèce de *Chaoborus* entre différents lacs, saisons, voire années. Nos résultats montrent en effet que des températures élevées stimuleraient l'ingestion des proies et augmenteraient l'assimilation du Cd chez la plupart des espèces, ce qui favoriserait ainsi sa bioaccumulation.

En intégrant toutes ces informations, il est possible de spéculer qu'une espèce non migratrice telle *C. americanus*, qui passe l'essentiel de son temps dans les eaux chaudes de l'épilimnion durant l'été, devrait accumuler davantage de Cd que les larves d'espèces migratrices telles *C. punctipennis* et *C. flavicans* qui se confinent dans les sédiments ou l'hypolimnion anoxique durant le jour et ne migrent dans les eaux chaudes de l'épilimnion pour s'alimenter qu'à la nuit tombée. De plus, puisque la température d'exposition tout comme le type et la densité des proies présents dans un lac varient dans le temps (i.e., selon les saisons, les années), l'influence de la température sur ces variables pourrait être de nouveau (mais cette fois, indirectement) mise en cause pour expliquer les changements temporels (i.e., saisonniers et annuels) dans les concentrations de Cd observés chez une même espèce.

Enfin, la récolte d'échantillons d'eau et de larves d'insecte provenant d'une dizaine de lacs situés le long d'un gradient de contamination en Cd et le dosage ultérieur du Cd et de la métallothionéine suggèrent que la présence de *Chaoborus* dans les lacs hautement contaminés en métaux traces pourrait être en partie attribuée à l'existence chez cet organisme d'un mécanisme de détoxification efficace impliquant des protéines apparentées à la métallothionéine (MT). Les niveaux de MT retrouvés chez *Chaoborus* se sont avérés en effet suffisants pour lier tout le Cd présent chez les larves de cet insecte de sorte que les risques de débordement cellulaire (*spill-over*), événement précurseur à l'apparition d'effets néfastes, apparaissent minimes chez les larves de cet insecte. Nous avons de plus montré que les niveaux de métallothionéine chez *Chaoborus* étaient directement reliés aux concentrations de Cd dans l'animal et dans l'eau. Ces résultats supportent donc l'utilisation de *Chaoborus* comme biomoniteur de la concentration en Cd des lacs.

  
Marie-Noëlle Croteau

  
Landis Hare, Directeur de recherche



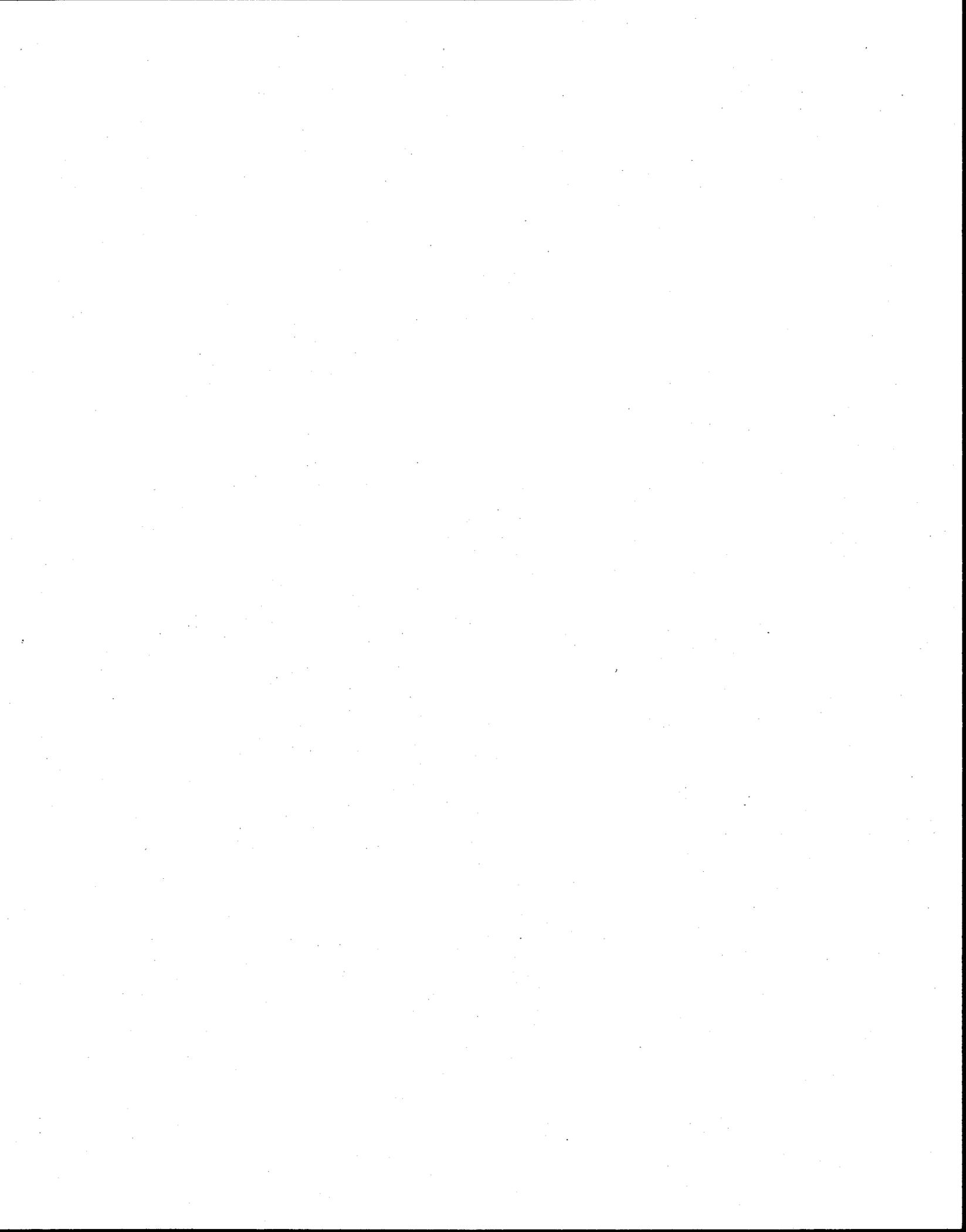
# TABLE DES MATIÈRES

	Page
AVANT-PROPOS .....	v
REMERCIEMENTS .....	vii
RÉSUMÉ .....	ix
TABLE DES MATIÈRES .....	xiii
LISTE DES TABLEAUX .....	xv
LISTE DES FIGURES .....	xvii
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Sources des métaux traces.....	1
1.2 Entrée des métaux chez les organismes aquatiques.....	2
1.2.1 Transport membranaire.....	3
1.3 Effets toxiques.....	4
1.4 Les invertébrés aquatiques: indicateurs du niveau de contamination.....	5
1.5 <i>Chaoborus punctipennis</i> : moniteur du niveau de contamination en Cd des lacs..	7
1.5.1 Le biomonitor <i>Chaoborus</i> : sujet d'étude en écotoxicologie.....	9
1.6 Modèles de prédiction.....	10
1.6.1 Importance de la nourriture comme source de Cd.....	12
2. PROBLÉMATIQUE.....	15
2.1 Le modèle de Hare & Tessier [1996]: variabilité à expliquer.....	15
2.2 Intégration des variables et paramètres du facteur de proportionnalité «F».....	17
3. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE.....	19
3.1 Relation entre les concentrations de Cd dans le prédateur <i>Chaoborus</i> et ses proies.....	19
3.2 Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre <i>Chaoborus</i> .....	20
3.3 Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomonitor <i>Chaoborus</i> .....	21
3.4 Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomonitor <i>Chaoborus</i> .....	22
3.5 La métallothionéine chez le biomonitor <i>Chaoborus</i> .....	22
3.6 Régime alimentaire de deux espèces de <i>Chaoborus</i> dans un lac hautement acide et contaminé en métaux traces: le lac Turcotte.....	23

4. MÉTHODES.....	25
4.1 Échantillonnage.....	25
4.2 Expériences de laboratoire.....	26
4.3 Analyses.....	27
4.3.1 Analyses biochimiques.....	27
4.3.2 Microscopie.....	27
4.4 Modélisation.....	28
5. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	29
5.1 Relation entre les concentrations de Cd dans le prédateur <i>Chaoborus</i> et ses proies.....	29
5.1.1 Relation entre les concentrations de Cd dans le zooplancton et celles de Cd <sup>2+</sup> .....	31
5.2 Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre <i>Chaoborus</i> .....	31
5.3 Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	32
5.4 Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	34
5.5 La métallothionéine chez le biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	36
5.6 Régime alimentaire de deux espèces de <i>Chaoborus</i> dans un lac hautement acide et contaminé en métaux traces: le lac Turcotte.....	37
5.7 Conclusions.....	38
5.7.1 <i>Chaoborus</i> : outil de surveillance environnementale.....	40
5.8 Perspectives de recherche.....	41
6. BIBLIOGRAPHIE.....	45
7. ARTICLE 1. Relation entre les concentrations de Cd dans le prédateur <i>Chaoborus</i> et ses proies.....	55
8. ARTICLE 2. Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre <i>Chaoborus</i> .....	77
9. ARTICLE 3. Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	107
10. ARTICLE 4. Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	139
11. ARTICLE 5. La métallothionéine chez le biomoniteur <i>Chaoborus</i> .....	157
ANNEXES.....	175

## LISTE DES TABLEAUX

	<b>Page</b>
TABLEAU 1. Concentrations de Cd mesurées chez <i>C. punctipennis</i> et conditions chimiques pour lesquelles les larves ont été retrouvées.....	8
TABLEAU 2. Travaux réalisés avec <i>Chaoborus</i> répartis en fonction de différentes disciplines (en excluant ceux présentés dans cette thèse).....	10



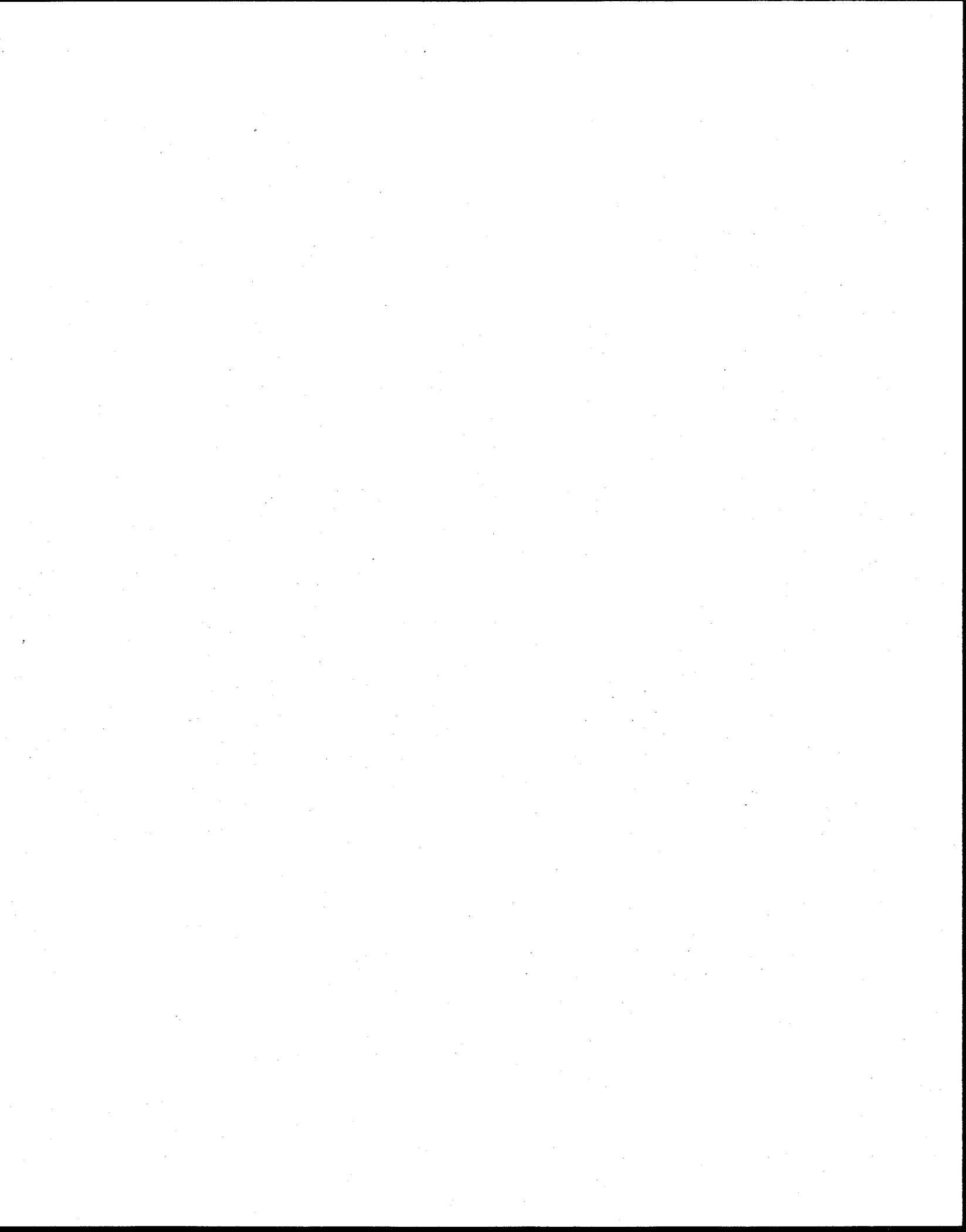
## LISTE DES FIGURES

	<b>Page</b>
FIGURE 1. Relation entre les concentrations moyennes de Cd chez <i>C. punctipennis</i> récoltés dans 23 lacs du Bouclier Canadien et l'expression de la compétition entre les ions hydrogène et Cd <sup>2+</sup> pour les sites d'absorption membranaire.....	11
FIGURE 2. Concentrations moyennes de Cd chez <i>C. punctipennis</i> récoltés dans 31 lacs du Bouclier Canadien en fonction des concentrations de Cd <sup>2+</sup> normalisées par l'expression de la compétition entre les ions hydrogène et Cd <sup>2+</sup> pour les sites d'absorption membranaire.....	16



**SECTION I**

**SYNTHÈSE**



# 1. INTRODUCTION

---

## 1.1 Sources des métaux traces

Les activités industrielles, notamment celles reliées au secteur des mines, ont contribué à rejeter dans l'environnement des quantités importantes de contaminants inorganiques comme le cuivre, le cadmium, le plomb, le zinc et le Ni [Pacyna et al. 1995; Winterhalder 1995]. Au début des années 1980, l'émission de ces métaux dans l'atmosphère se chiffrait à l'échelle mondiale (en tonnes par année) à 7 570 pour le Cd, à 35 370 pour le Cu, à 332 350 pour le Pb, à 131 880 pour le Zn et à 55 650 pour le nickel [Nriagu et Pacyna 1988]. Malley [1996] rapporte qu'au Canada, les activités anthropiques libéreraient par année 160 tonnes de Cd dans l'environnement et que près de 58% de ces émissions proviendraient de l'Ontario.

Transportés dans l'atmosphère, les métaux parviennent à contaminer des territoires et des plans d'eau situés à grande distance des centres industriels (e.g., fonderies) [Keller 1992; Keller et al. 1992; Winterhalder 1995]. Bowers et al. [1987] rapportent que le cadmium émis dans l'atmosphère peut être transporté sur des distances allant de 100 à 1 000 km avant de se déposer sous forme de précipitations sèches. Outre les dépôts atmosphériques directs, les déversements ponctuels et le ruissellement de surface constituent des sources de Cd pour les systèmes lacustres. Wright et Welbourn [1994] rapportent d'ailleurs que 30% des émissions atmosphérique de Cd se retrouverait dans les cours d'eau (i.e., par dépôt direct et ruissellement). Ainsi, dans les régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda, l'eau de certains lacs présente des concentrations en Cd, en Cu et en Zn cent et parfois même mille fois supérieures à celles retrouvées dans les lacs des régions peu contaminées [Conroy et al. 1975; Hare et Tessier 1998; Croteau et al. 1998; 2001]. À ces sources de contamination anthropique s'ajoutent les précipitations acides qui favorisent le relarguage et le transport de certains métaux (e.g., Al, Cd, Zn) du sol vers les écosystèmes aquatiques [Lazerte et al. 1989]. Dans le cas du mercure, l'inondation de territoires pour la création de réservoirs hydroélectriques contribue à libérer d'importantes quantités de ce métal reconnu pour être peu mobile dans le sol puisque fortement associé à la matière organique [Lucotte et al. 1999].

Selon Nriagu [1989], les processus naturels tels les feux de forêts, l'activité volcanique de même que l'altération du sol et de la roche mère libéreraient (à l'échelle mondiale) dans l'atmosphère environ 1 300 tonnes de Cd par année. Les activités anthropiques en mobiliseraient en revanche le triple voire 10 fois plus [Yeats et Bowers 1987]. Or, ces estimations soulèvent depuis quelques années la controverse au sein des communautés scientifiques. De récents travaux de recherche réalisés à l'intérieur du réseau Canadien MITE (*Metals In The Environment*) suggèrent en effet qu'une proportion plus importante des émissions pourrait être attribuée aux processus naturels. Ces travaux suscitent à l'évidence, l'intérêt des industriels qui doutent que les phénomènes naturels contribuent si peu à l'émission des métaux dans l'environnement. Les recherches se poursuivent avec l'appui financier des gouvernements et des industries qui portent depuis longtemps la «responsabilité» de la dégradation de l'environnement par les métaux traces.

## 1.2 Entrée des métaux chez les organismes aquatiques

Pour les organismes aquatiques exposés aux métaux, la prise en charge d'un métal peut s'effectuer à partir de sa forme dissoute (e.g., chez des algues [Campbell 1995]) ou de sa forme particulaire (e.g., la nourriture pour *Chaoborus* [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999]). Sans égard à la voie d'entrée empruntée (i.e., eau vs nourriture), la disponibilité du contaminant dans le milieu constitue un facteur déterminant à sa bioaccumulation. Di Toro et al. [2001] distinguent à ce propos les concepts de «disponibilité» et de «biodisponibilité». Selon ces auteurs, la «disponibilité» d'un métal fait référence à la fraction de métal total dans la colonne d'eau ou les sédiments qui se trouve «non liée» (i.e., non complexée) à des ligands organiques et inorganiques. Cette fraction de métal «libre» s'avère par conséquent disponible pour être prise en charge par un organisme. La «biodisponibilité» d'un métal réfère quant à elle à la fraction de métal total déjà prise en charge par un organisme et qui sera par la suite transportée vers un site récepteur. (Précisons à ce sujet qu'aucune définition de ces concepts ne semble faire l'unanimité dans la communauté scientifique).

Cette notion de métal «libre» constitue d'ailleurs l'élément «central» du modèle de l'ion libre (MIL, Morel [1983]). Ce modèle suggère que l'accumulation de métal par un

organisme aquatique ( $[M]_{\text{organisme}}$ ) peut être prédite par la concentration du métal libre ( $[M^{z+}]$ ) dans le milieu. En terme d'équation, ce modèle se formule par:

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

où F représente un facteur de proportionnalité pour la relation entre la concentration du métal libre dans l'eau et la concentration du métal accumulé par un organisme.

Selon le MIL, la spéciation du métal dans le milieu d'exposition (i.e., forme du métal: lié ou complexé à divers ligands organiques et inorganiques) influencera grandement l'interaction du métal avec les sites d'entrées d'un organisme qui sont localisés sur les membranes biologiques (e.g., dans le tractus digestif, sur les branchies). Les conditions chimiques favorisant la formation de complexes métalliques ou à l'inverse, leur décomplexation auront tour à tour pour conséquence de réduire ou d'accroître la prise en charge des métaux par les organismes. Ainsi, le pH [Borgmann 1983; Campbell et Stokes 1985; Yan et al. 1990; Hare et Tessier 1996; 1998], la matière organique dissoute [Winner et Gauss 1986; Playle et al. 1993; Tipping 1994], la présence d'autres métaux traces [Simkiss et Taylor 1989; 1995; Croteau et al. 1998] et les composantes responsables de la dureté [Wright 1977; Stephenson et Mackie 1989] et de la salinité de l'eau [Sunda et al. 1978] influencent la spéciation des métaux dans l'eau. Ces variables peuvent donc potentiellement accroître ou réduire l'accumulation de métal chez un organisme et ce, en dépit du fait que les concentrations totales de métal dans l'environnement peuvent demeurer constantes.

### 1.2.1 Transport membranaire

Selon le MIL, un métal doit avant tout interagir avec une membrane biologique (et la traverser dans la plupart des cas) afin d'initier une réponse biologique (e.g., prise en charge, croissance, mortalité) [Campbell 1995]. La spéciation du métal dans le milieu d'exposition de même que la structure biochimique de la membrane cellulaire (i.e., nombre, type et emplacement des sites récepteurs) moduleront la vitesse avec laquelle les atomes du métal traverseront la double couche lipidique [Simkiss et Taylor 1989].

Les métaux peuvent traverser les membranes cellulaires par l'intermédiaire de protéines de transport [Luoma 1983] ou de canaux protéiques [Simkiss et Taylor 1995]. Chez certaines cellules, le cadmium peut également diffuser vers le cytosol à travers des canaux destinés au transport du calcium [Hinkle et al. 1987; Craig et al. 1999]. La formation de vésicules intracellulaires (i.e., endocytose) lors de l'engouffrement de particules métalliques par la membrane constitue de plus, une voie d'entrée possible pour le fer [Simkiss et Taylor 1989] et le plomb [Schulz-Baldes 1977]. Certains métaux comme le cuivre, le zinc, le cadmium, le mercure et l'argent peuvent également former des complexes liposolubles dans des conditions chimiques particulières et traverser la bicouche lipidique par simple diffusion [Simkiss et Taylor 1995]. Ce mode transport par diffusion des complexes lipophiliques fait toutefois exception au MIL puisque la condition première (i.e., formation d'un complexe métal-site récepteur à la surface de la membrane) ne se trouve pas respectée [Campbell 1995].

### 1.3 Effets toxiques

Bien que certains métaux soient essentiels lors de réactions enzymatiques et de processus physiologiques particuliers (e.g., Cu, Zn, Fe, Mn), tous les métaux s'avèrent potentiellement toxiques lorsque présents à des concentrations élevées [Luoma 1983; Langston et Spence 1995]. La frontière qui délimite les métaux considérés «essentiels» des «non-essentiels» s'avère toutefois «perméable». De récents travaux ont en effet montré qu'au sein d'environnements carencés en nutriments et en métaux essentiels (e.g., océans), le Cd, un métal hautement toxique, pouvait se substituer au Zn et promouvoir la croissance algale [Price et Morel 1990].

Dans le cytosol des cellules, les métaux peuvent être soit liés à des protéines de détoxification (e.g., métallothionéines [Engel et Roesijadi 1987]) ou être séquestrés dans des granules [Hopkins 1989]. Ces derniers rendent possible l'entreposage et parfois l'excrétion des métaux accumulés. Les granules n'ont toutefois été clairement identifiés que chez des invertébrés [Mason et Jenkins 1995] et ce, au contraire des métallothionéines qui sont qualifiées de protéines ubiquistes dans le règne animal [Roesijadi 1992].

Le seuil de tolérance d'un organisme à survivre à un environnement contaminé dépendra de sa capacité à réduire sa prise en charge de contaminants et à en accroître l'élimination. De plus, la nature et l'amplitude des effets néfastes engendrés chez les êtres vivants exposés aux substances toxiques dépendront des caractéristiques «d'exposition» (i.e., nature et concentration du métal, durée d'exposition, voies d'entrée dans l'organisme). Les effets toxiques surviendront lorsque les quantités de polluant qui entreront dans l'organisme surpasseront ses capacités biochimiques à les métaboliser [Hare 1992].

Une fois bioaccumulés, les métaux pourront par exemple occasionner chez les invertébrés, des problèmes au niveau de la locomotion (Ephemeroptera [Gerhardt 1990]), du développement (Diptera (Chironomidae) [Anderson et al. 1980; Kosalwat et Knight 1987a]), de la morphologie (Diptera (Chironomidae) [Kosalwat et Knight 1987a; 1987b]) et de la reproduction (Diptera (Chironomidae) [Williams et al. 1987]). Dans le cas du Cd, un métal reconnu pour son potentiel carcinogène chez les vertébrés [Waalkes 2000], son exposition provoque des effets toxiques se caractérisant par des retards de croissance, l'altération du système immunologique et par des dommages biochimiques et histopathologiques aux reins, aux organes reproducteurs, au foie, aux poumons et aux intestins [Wong 1987; Wright et Welbourn 1994; Malley 1996]. La toxicité du cadmium surpasse d'ailleurs celles d'autres métaux tels le zinc, le cuivre et le plomb [Malley 1996], ce qui en fait un métal d'intérêt prioritaire.

## **1.4 Les invertébrés aquatiques: indicateurs du niveau de contamination**

La connaissance du niveau de contamination en métaux des écosystèmes aquatiques permet l'évaluation d'une partie des risques qu'encourent les organismes exposés. Cependant, déterminer précisément la concentration des métaux traces dans l'eau représente un défi technique de taille [Phillips et Rainbow 1993]. En fait, les faibles quantités de certains métaux présents dans les milieux aqueux peu contaminés, i.e.,  $Cd < 10^{-9}M$ ,  $Cu < 10^{-8}M$ ,  $Hg < 10^{-12}M$  et  $Zn < 10^{-7}M$ , peuvent parfois se situer en deçà des limites de détection des méthodes analytiques standards, ce qui compromet à la fois la fiabilité et la justesse des résultats. De plus, les

risques accrus de contamination tant lors de la récolte que lors de l'analyse des échantillons d'eau nécessitent souvent l'utilisation de techniques «ultra-propres». Enfin, mesurer la concentration totale d'un métal dans l'eau ne nous renseigne pas forcément sur la disponibilité du contaminant pour les êtres vivants (i.e., la proportion d'un contaminant présent dans l'environnement sous une(des) forme(s) qui peut(vent) être potentiellement assimilée(s) par un organisme, [Campbell 1995], cf., section 1.2).

Or, les sédiments des lacs contaminés constituent de véritables réservoirs de métaux traces [Hare et al. 1994]. Une proportion importante des métaux introduits dans l'environnement se retrouve en effet associée aux sédiments [Sigg 1994]. Ces métaux apparaissent cependant fortement liés aux divers ligands organiques et inorganiques des sédiments de sorte que leur disponibilité pour les organismes benthiques et planctoniques apparaît plutôt faible [Luoma et Bryan 1982]. De récents travaux de Warren et al. [1998] et de Hare et al. [2001] suggèrent d'ailleurs que les concentrations en Cd de la plupart des organismes benthiques seraient mieux prédites par les concentrations en Cd de la colonne d'eau que des sédiments. Précisons que dans ces études, le compartiment «colonne d'eau» faisait référence à l'eau oxique au-dessus des sédiments et aux particules de nourriture dont les concentrations en Cd étaient reliées à celles de l'eau interstitielle (principalement anoxique) alors que le compartiment «sédiment» désignait l'eau interstitielle et les particules de sédiments (toutes deux principalement anoxiques).

Il s'avère par ailleurs possible de surmonter ces contraintes et d'estimer efficacement le niveau de contamination en métaux des systèmes lacustres en mesurant directement les concentrations de métal dans les organismes (i.e., implique toutefois qu'une relation soit établie entre les concentrations de métaux dans les animaux et celles dans leur environnement). Les invertébrés sont en effet reconnus pour accumuler la plupart des métaux (i.e., les métaux non essentiels) de sorte que la concentration de ces polluants s'avère aisément mesurable à l'aide des méthodes analytiques standards [Phillips et Rainbow 1993]. Dans les milieux marin et estuarien, les algues, les bivalves, les gastropodes, les polychètes et les crustacés décapodes sont d'ailleurs reconnus pour «biomonitorer» efficacement les niveaux de contamination en métaux [Langston et Spence 1995]. Les concentrations (en

métaux non essentiels) de ces organismes «sentinelles» s'avèrent en effet proportionnelles à la disponibilité de ces contaminants dans leur environnement [Luoma et Bryan 1982; Tessier et al. 1993a].

En milieu lacustre toutefois, l'écotoxicologie constitue une discipline relativement récente. La recherche visant le développement d'organismes pouvant «monitorer» le niveau de la contamination métallique des lacs a par conséquent retenu peu l'attention des chercheurs. En fait, Tessier et al. [1993b] sont parmi les premiers à avoir démontré, en s'appuyant sur un modèle théorique (i.e., modèle de l'ion libre: section 1.2), que les concentrations en Cd du bivalve *Pyganodon grandis* (anciennement *Anodonta grandis*) pouvaient refléter efficacement le niveau de contamination en Cd de l'eau des lacs. Cependant, l'absence de cette espèce dans les lacs présentant de faibles teneurs en calcium (e.g., lacs acides) limite son utilisation.

### **1.5 *Chaoborus punctipennis*: moniteur du niveau de contamination en Cd des lacs**

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

De plus, la position stratégique qu'occupent les larves de l'insecte *Chaoborus* dans la chaîne alimentaire confère au genre un statut privilégié dans le cas d'études portant sur le transfert trophique des métaux. Les larves de *Chaoborus* font en effet l'objet d'une intense prédation de la part des poissons planctophages [Pope et al. 1973]. *Chaoborus* constitue quant à lui un

prédateur vorace du zooplancton herbivore. Les travaux de Moore [1988] et plus récemment, ceux de Moore et al. [1994] ont toutefois démontré que les larves de *C. punctipennis* de différents stades s'alimenteraient également de phytoflagellés mixotrophes, ce qui implique que l'espèce serait davantage omnivore que carnivore. Dans les systèmes lacustres, les larves de l'insecte *Chaoborus* occupent en fait une niche écologique qu'elles partagent à l'occasion avec les crustacés *Leptodora kindtii* (Classe: Branchiopoda), *Mysis relicta* (Classe: Malacostraca) et *Limnocalanus macrurus* (Classe: Copepoda), tous trois plus restreints que *Chaoborus* dans leur aire de distribution [Carter et al. 1980]. (Mentionnons au sujet de l'ordre des cladocères (Branchiopoda) que cette appellation devrait être abandonnée au profit de 4 nouveaux ordres, i.e., Ctenopoda, Anomopoda, Onychopoda et Haplopoda, [Smith 2001]. Tout au long de cette thèse, l'ancienne terminologie sera toutefois utilisée).

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

**Tableau 1.** Concentrations de Cd mesurées chez *C. punctipennis* et conditions chimiques pour lesquelles les larves de l'insecte ont été retrouvées; t.d., total dissous; a) [Hare et Tessier 1996]; b) [Croteau et al. 1998]; c) [Hare et Tessier 1998]

Variable	Valeurs mesurées
[Cd] <sub><i>C.punctipennis</i></sub> (µg poids sec g <sup>-1</sup> )	[0.24 - 13.3] <sup>a</sup>
pH	[4.3 - 7.3] <sup>a,b</sup>
Carbone organique dissous (mg L <sup>-1</sup> )	[1.3 - 14.6] <sup>a</sup>
[Cd] <sub>t.d.</sub> (nM)	[0.15 - 19.5] <sup>a,b</sup>
[Cu] <sub>t.d.</sub> (nM)	[5.5 - 1674] <sup>c</sup>
[Zn] <sub>t.d.</sub> (nM)	[8 - 4764] <sup>b,c</sup>
[Ca <sup>2+</sup> ] (µM)	[30 - 2254] <sup>b</sup>

Pour toutes les raisons énoncées précédemment, il s'avère en réalité fort avantageux de réaliser des travaux de recherche avec les larves de l'insecte *Chaoborus* d'autant plus que la littérature comporte de multiples études documentant de nombreux aspects écologiques et biologiques propres à ces larves de diptère (Tableau 2). Les travaux de Borkent [1981] et de Saether [1972] dominent en effet la littérature au niveau de la taxonomie alors que ceux de Giguère [1981; 1986] s'y illustrent en matière d'évaluation de certaines activités métaboliques. Les études réalisées par des chercheurs tels Carter, Fedorenko, Hare, Riessen et Yan documentent plus particulièrement la dimension écologique propre aux espèces du genre.

### 1.5.1 Le biomoniteur *Chaoborus*: Sujet d'étude en écotoxicologie

De nombreuses études à caractère écotoxicologique ont été réalisées au cours de la dernière décennie dans les systèmes lacustres. La «conscientisation environnementale» graduelle de la population a d'ailleurs initié chez nos gouvernements des politiques «vertes» impliquant l'octroi de subventions pour la poursuite de travaux de recherche sur les substances toxiques. Parmi les études effectuées en écotoxicologie dans les eaux douces, mentionnons notamment celles réalisées par van Hattum et al. [1991], Evans et Lasenby [1993], Hare et Tessier [1996; 1998] et par Croteau et al. [1998] qui ont permis de mieux discerner l'importance de la géochimie dans l'accumulation de métal par *Chaoborus*.

Du côté des processus qui modulent l'accumulation de métal par ces larves d'insectes aquatiques, l'essentiel des travaux réalisés à ce jour origine du groupe de recherche du Dr Landis Hare à l'INRS-Eau (i.e., groupe auquel j'appartiens). Les travaux de Munger [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999] ont en effet permis de quantifier, tant en laboratoire qu'en milieu naturel, l'importance relative des voies d'entrée du Cd (eau vs nourriture) chez *C. punctipennis*. Les variables impliquées dans la prise en charge et la perte du Cd par les larves de *C. punctipennis* ont de plus été étudiées par Munger et al. [1999] de même que Munger et Hare [2000].

**Tableau 2.** Travaux réalisés avec *Chaoborus* répartis en fonction de différentes disciplines (en excluant ceux présentés dans cette thèse)

Discipline	Étude(s)
<b>Biologie</b>	
Taxonomie	Borkent [1981]; Saether [1972]
Physiologie	Giguère [1981; 1986]; Swift [1976]
Écologie	
-Régime alimentaire	Fedorenko [1975]; Moore [1988]
-Distribution géographique	von Ende [1979; 1982]; Lamontagne et al. [1994]
-Comportement:	
·Compétition	Carter et Kwik [1977]; Hare et Carter [1987]; Sardella et Carter [1983]
·Migration	Dawidowicz et al. [1990]; Haney et al. [1990]
·Relations prédateur-proie	Pope et al. [1973]; Riessen et al. [1984; 1988]; Swift et Fedorenko [1975]; Yan et al. [1991]
<b>Ecotoxicologie</b>	
Voies d'entrée (eau vs nourriture)	Munger et Hare [1997]; Munger et al. [1999]
Surveillance biologique	Hare et Tessier [1996; 1998]; Croteau et al. [1998]
Bioaccumulation et cinétique	Groulx et Lasenby [1992]; Hare et Campbell [1992]; Visman et al. [1995]; Munger et al. [1999]; Munger et Hare [2000]
<b>Paléolimnologie</b>	
	Uutala [1990]

## 1.6 Modèles de prédiction

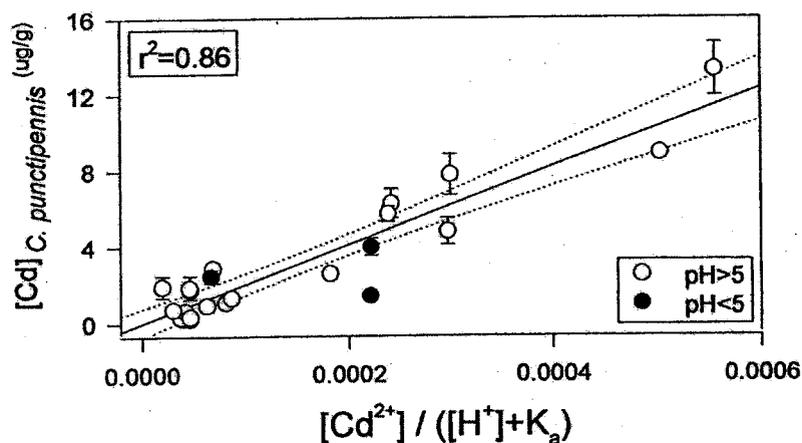
Les projets réalisés au cours de mon doctorat partagent comme base théorique, le modèle de l'ion libre (cf. section 1.2). C'est d'ailleurs en se basant sur ce modèle théorique que Hare et Tessier [1996] ont efficacement décrit (Figure 1,  $p < 0.001$ ) l'accumulation de Cd par les larves de l'insecte *Chaoborus punctipennis*, en tenant compte de la compétition entre les ions  $H^+$  et  $Cd^{2+}$  pour les sites d'accumulation biologiques (Éqn 2).

$$[Cd]_{C. punctipennis} = F_1 \cdot \frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] + K_a} \quad (2)$$

Dans cette équation qui permet d'expliquer l'accumulation réduite de métal par les organismes issus de milieux acides,  $F_1$  représente un facteur de proportionnalité et  $K_a$

constitue une constante apparente d'équilibre chimique pour la réaction entre les ions  $H^+$  et les sites d'absorption biologique (et/ou sites de transport). De récents travaux s'appliquant à décrire l'accumulation de Cd par le bivalve *Pyganodon grandis*, en prenant en considération l'effet compétiteur des protons, suggèrent toutefois que pour des lacs dont le pH avoisine la neutralité, la constante  $K_a$  (Éqn 2) agirait davantage comme un paramètre ajustable (Couillard et al., données non publiées). Ces résultats suggèrent par conséquent que cette constante ne présenterait pas de véritable signification chimique dans le cas de lacs neutres ou circumneutres (i.e., le pH des lacs échantillonnés par Couillard et al. avoisinait la neutralité).

Croteau et al. [1998] se sont également basés sur le modèle de l'ion libre (Éqn 1, section 1.2) pour décrire des équations permettant de prendre en considération la compétition du Cd avec d'autres métaux traces et avec des cations majeurs pour les sites d'absorption biologique chez *C. punctipennis*. Ces auteurs ont ainsi pu démontrer que l'accumulation du Cd par les larves de cet insecte était peu influencée par la présence de ces cations [Croteau et al. 1998].



### 1.6.1 Importance de la nourriture comme source de Cd

Puisque la «nourriture» constitue la voie d'entrée majeure du Cd pour les larves de l'insecte *C. punctipennis* [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999], la relation décrite par le modèle de prédiction de Hare et Tessier [1996] (Figure 1, Éqn 2) serait en réalité indirecte, i.e., les concentrations de Cd mesurées chez *Chaoborus* seraient fonction des concentrations en Cd de sa nourriture (les organismes zooplanctoniques) (Éqn 3),

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}} = F_2 \cdot [\text{Cd}]_{\text{zooplancton}} \quad (3)$$

qui pourraient quant à elles être fonction des concentrations en Cd de leurs proies (le phytoplancton) (Éqn 4),

$$[\text{Cd}]_{\text{zooplancton}} = F_3 \cdot [\text{Cd}]_{\text{phytoplancton}} \quad (4)$$

Les concentrations en Cd du phytoplancton pourraient à leur tour répondre au modèle de l'ion libre (cf. Éqn 1, section 1.2) et être par conséquent prédites par les concentrations en ion libre de Cd dans le milieu (Éqn 5),

$$[\text{Cd}]_{\text{phytoplancton}} = F_4 \cdot [\text{Cd}^{2+}] \quad (5)$$

ou par l'expression permettant de tenir compte de l'effet inhibant des protons sur la bioaccumulation du Cd [Hare et Tessier 1996; 1998] (Éqn 6),

$$[\text{Cd}]_{\text{phytoplancton}} = F_5 \cdot \frac{[\text{Cd}^{2+}]}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (6)$$

Si on accepte le scénario impliquant les équations 3, 4 et 6, on obtient en les combinant:

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}} = F_2 F_3 F_5 \cdot \frac{[\text{Cd}^{2+}]}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (7)$$

En comparant l'équation 7 au modèle de prédiction de Hare et Tessier [1996] (Éqn 2), on constate que les facteurs de proportionnalité  $F_1$  et  $F_2 F_3 F_5$  seraient égaux, i.e.,

$$F_1 = F_2 F_3 F_5 \quad (8)$$

Ces facteurs de proportionnalité seraient de plus spécifiques à un organisme particulier (e.g., *Chaoborus*, Éqn 3) et à sa source de Cd (e.g., le zooplancton, Éqn 3). Dans le cas précis d'organismes carnivores (e.g., *Chaoborus*) et de brouteurs (e.g., *Daphnia*), F pourrait se définir en terme de variables et de paramètres reliés tant au type de nourriture consommée (e.g., efficacité d'assimilation du Cd, taux d'ingestion de proies) qu'au prédateur (e.g., taux de croissance, taux perte en Cd) [Fisher et Reinfelder 1995], i.e.,

$$F = \frac{AE \cdot IR}{k_g + k_e} \quad (9)$$

Dans cette équation, AE représente l'efficacité d'assimilation du métal, IR le taux d'ingestion des proies et les paramètres  $k_e$  et  $k_g$  constituent quant à eux des constantes représentant respectivement le taux de perte en Cd et le taux de croissance de l'animal. Dans le cas du phytoplancton (Éqns 5-6), le facteur de proportionnalité F serait quant à lui fonction du nombre de sites de transport à la surface des cellules algales (pas de tous les sites d'adsorption), de la vitesse de transport à travers la membrane de même que de l'affinité de ces transporteurs pour le métal (cf. section 1.2.1) et pour les protons (i.e., compétition entre les ions  $H^+$  et  $M^{z+}$ ).

En connaissant la valeur des variables et paramètres de l'équation 9 pour chacun des niveaux trophiques allant de *Chaoborus* au phytoplancton, il serait théoriquement possible d'arriver à obtenir la valeur de F fournie par Hare et Tessier [1996] (i.e.,  $20\ 500\ \mu\text{g g}^{-1}$ ) dans la formulation de leur équation qui permet de relier les concentrations de Cd chez *Chaoborus* aux concentrations en ions libres de Cd dans le milieu (i.e., en tenant compte de la compétition entre les ions  $H^+$  et  $Cd^{2+}$  pour les sites d'accumulation biologiques, Éqn 2). Le cas échéant, l'équation 8 se détaillerait comme suit:

$$F_1 = \left( \frac{AE \cdot IR}{k_g + k_e} \right)_{\text{Chaoborus}} \cdot \left( \frac{AE \cdot IR}{k_g + k_e} \right)_{\text{zooplancton}} \cdot F_{5(\text{phytoplancton})} \quad (10)$$

Or, les valeurs de ces variables et paramètres ne sont connues que partiellement pour *Chaoborus punctipennis* [Munger et al. 1999] alors qu'elles sont pratiquement inexistantes pour la plupart des organismes des échelons trophiques inférieurs à *Chaoborus*, i.e., les organismes zooplanctoniques et le phytoplancton.

## 2. PROBLÉMATIQUE

---

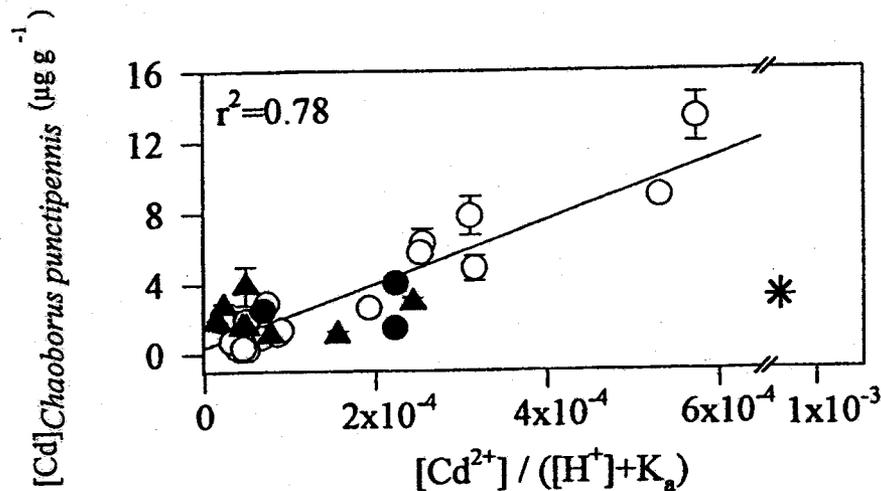
Le besoin grandissant et pressant des agences environnementales d'évaluer les risques et de prédire les possibles effets toxiques pour les êtres vivants qu'engendre l'exposition aux contaminants a mis de l'avant une nouvelle discipline, «l'évaluation de risque environnemental» (*environmental risk assessment*). Tel que le souligne Pace [2001], de telles évaluations et prédictions doivent cependant reposer sur la connaissance des systèmes et la compréhension des mécanismes impliqués. Or, ces informations s'avèrent souvent manquantes, incomplètes ou de qualité scientifique douteuse et ce, tant pour les écosystèmes d'eau douce que terrestres.

Les travaux poursuivis dans le cadre de mon doctorat s'inscrivent dans cette perspective de «quête de connaissances fondamentales». Mon doctorat se compose en effet de plusieurs volets de recherche qui partagent un objectif commun: la compréhension des processus qui modulent l'accumulation du Cd par les larves de l'insecte *Chaoborus*. Mes projets s'attardent par conséquent à cibler dans un premier temps, les variables et les paramètres (Éqn 9) qui modulent la prise en charge et la perte de Cd chez différentes espèces de *Chaoborus* et à quantifier dans un second temps, leur influence relative. Ces connaissances devraient être utiles tant pour évaluer le bien-fondé du modèle de prédiction de Hare et Tessier [1996; 1998] que pour l'améliorer, i.e., rendre le modèle davantage représentatif des processus impliqués dans la prise en charge et la perte du Cd chez *Chaoborus*. Précisons toutefois que le but ultime des travaux réalisés dans le cadre de ce doctorat ne consiste pas à accroître le pouvoir prédictif du modèle de prédiction de Hare et Tessier [1996; 1998] (Éqn 2, section 1.6). Il s'avère cependant probable que les connaissances acquises au cours des divers projets de recherche pourraient concrétiser cette éventualité.

### 2.1 Le modèle de Hare & Tessier [1996]: Variabilité à expliquer

La plus récente formulation de ce modèle [Croteau et al. 1998] permet d'expliquer 78% des variations dans les concentrations de Cd mesurées chez les larves de l'insecte *C. punctipennis* provenant d'une vaste série de lacs (Figure 2, lac Turcotte exclu) par les

concentrations de Cd libre dans le milieu en prenant en considération la compétition entre les protons et les ions libres de Cd pour les sites d'absorption biologique. Toutefois, non pas 22% (lac Turcotte exclus, Figure 2) mais bien 42% (lac Turcotte inclus, Figure non présentée) de la variabilité demeure toujours à expliquer dans cette relation entre les concentrations de Cd chez *C. punctipennis* et l'expression mathématique de la compétition entre les protons et les ions  $\text{Cd}^{2+}$  pour les sites d'absorption membranaire.



**Figure 2.** Concentrations moyennes de Cd ( $\pm$ S.D.) chez *C. punctipennis* récoltés dans 31 lacs du Bouclier canadien en fonction des concentrations de  $\text{Cd}^{2+}$  normalisées par l'expression de la compétition entre les ions  $\text{H}^+$  et  $\text{Cd}^{2+}$  pour les sites d'absorption membranaire (Éqn 2, Hare et Tessier [1996]). Tiré de Croteau et al. [1998]; astérisque = lac Turcotte.

Dans l'optique d'utiliser les larves de *Chaoborus* comme outil de *biomonitoring*, pareille variabilité demande à être expliquée. En excluant le lac Turcotte de leur ensemble de données, Croteau et al. [1998] ne nous ont pas renseignés sur les véritables causes pouvant expliquer le caractère atypique de ce lac. Parmi les explications possibles, mentionnons un faible taux d'ingestion des larves, une efficacité d'assimilation réduite, une communauté planctonique dominée par des rotifères, des mécanismes de détoxification performants et l'effet de la température. Il est de notre avis que les variables biologiques et les paramètres contenus dans la formulation du facteur de proportionnalité  $F_1$  (Éqns 2 et 9) au même titre que certaines composantes biochimiques (e.g., présence ou absence de protéines de

détoxification) voire limnologiques (e.g., température, composition et structure des communautés planctoniques) constituent des éléments «clés» dans l'explication des phénomènes observés dans le lac Turcotte et éventuellement, dans d'autres lacs «déviants» des prédictions du modèle.

## 2.2 Intégration des variables et paramètres du facteur de proportionnalité «F»

En considérant la nourriture comme seule voie d'entrée du Cd chez *Chaoborus*, il est possible de décrire la vitesse d'accumulation de Cd par *Chaoborus* par un modèle à un compartiment [Spacie et Hamelink 1985] qui exprimerait le taux de changement dans les concentrations de Cd chez *Chaoborus* ( $d[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}/dt$ ) en fonction des entrées et sorties du métal dans l'organisme. Cette formulation tiendrait également compte de la dilution des concentrations due à la croissance de l'animal (Éqn 11), i.e.,

$$\frac{d[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}}{dt} = (\text{AE} \cdot \text{IR} \cdot [\text{Cd}]_{\text{F}}) - (k_e [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}) - (k_g [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}) \quad (11)$$

Dans cette équation, AE représente l'efficacité d'assimilation du métal, IR le taux d'ingestion des proies,  $[\text{Cd}]_{\text{F}}$  et  $[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}$  sont respectivement les concentrations de Cd dans la nourriture et dans *Chaoborus*. Les paramètres  $k_e$  et  $k_g$  constituent quant à eux des constantes représentant respectivement le taux de perte en Cd et le taux de croissance de l'animal.

En appliquant l'hypothèse de l'état stationnaire (i.e., quand  $d[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}/dt$  est égal à zéro), l'équation 11 devient:

$$[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}]_{\text{ss}} = \frac{\text{AE} \cdot \text{IR} \cdot [\text{Cd}]_{\text{F}}}{k_e + k_g} \quad (12)$$

Ce modèle (Éqn 12) ignore toutefois la prise en charge cutanée du Cd, une possibilité qui nous apparaît toutefois peu probable à la lumière des résultats obtenus par Munger et Hare [1997] lors d'expériences de prise en charge menées en laboratoire.

Dans une perspective de surveillance biologique (*biomonitoring*), l'utilisation par les gestionnaires du secteur de l'environnement de *Chaoborus* comme outil pour évaluer le niveau de contamination en Cd des lacs requiert toutefois un modèle simple et efficace, contenant peu de variables et paramètres ajustables (Éqn 2). Tel que démontré à la section section 1.6.1 (Éqns 3-7), il s'avère toujours adéquat de relier les concentrations de Cd chez *Chaoborus* aux concentrations de métal retrouvées dans la phase aqueuse et ce, bien que la nourriture puisse constituer la voie d'entrée majeure du Cd chez les larves de cet insecte [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999]. Or, le modèle décrit à l'équation 12, bien qu'il présente de façon plus détaillée les processus modulant l'accumulation de Cd par *Chaoborus*, s'avère difficilement applicable dans une perspective de gestion à grande échelle en raison de sa formulation complexifiée.

Toutefois, les informations contenues dans cette nouvelle formulation (Éqn 12) pourraient potentiellement accroître l'efficacité de *Chaoborus* comme outil de monitoring puisqu'il serait possible d'interpréter les données plutôt «atypiques» (e.g., cas de lacs qui ne répondent pas au modèle de prédiction). Une meilleure compréhension des variables et paramètres inhérents au paramètre  $F_1$  (Éqns 2 et 9) de même que des facteurs abiotiques (e.g., température) influençant la prise en charge du Cd devrait également permettre d'expliquer l'accumulation différentielle de Cd entre les espèces (Chapitres 8-9), entre les lacs (Chapitres 7-9) et dans le temps (Chapitre 10). De telles informations devraient en outre contribuer à élargir l'application du biomoniteur au genre *Chaoborus* plutôt que de se limiter à l'espèce *punctipennis*. Il serait également possible d'utiliser les larves de cet insecte aquatique comme témoins des changements temporels dans les concentrations en Cd des lacs, ce qui permettrait de statuer quant à l'état de leur rétablissement de la contamination métallique.

### **3. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE**

#### **3.1 Relations entre les concentrations de Cd dans le prédateur *Chaoborus* et ses proies**

Dans le cadre de ce projet, nous avons d'abord tenté de vérifier en milieu naturel, l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd chez les larves de *Chaoborus* devaient être reliées à celles de sa nourriture, les organismes planctoniques (Éqn. 3) (Chapitre 7). Cette première étude s'inscrivait comme suite logique aux expériences menées par C. Munger qui avait démontré, tant en laboratoire [Munger et Hare 1997] qu'en milieu naturel [Munger et al. 1999], que la nourriture constituait la voie d'entrée majeure du Cd chez les larves de cet insecte. La vérification de cette hypothèse a nécessité l'échantillonnage et le dosage du Cd dans ce prédateur et ses proies potentielles provenant de 24 lacs du Bouclier canadien (Tableau 1, Chapitre 7). Les proies furent catégorisées en fonction de leur taille (i.e., fractions 500-1000 µm, 300-500 µm et 64-300 µm) et de leur appartenance à l'un des 2 groupes majeurs de crustacés présents dans ces lacs, soit les copépodes et les cladocères.

Les données recueillies nous ont également permis de tester l'hypothèse selon laquelle le niveau trophique d'un organisme planctonique serait directement relié à sa taille [Chen et al. 2000; Chen et Folt 2000]. Selon cette logique, les concentrations de Cd devraient décroître à mesure que la taille des organismes planctoniques augmente puisque de nombreuses études menées en laboratoire ont démontré que les concentrations de Cd diminuaient le long des chaînes trophiques [Giesy et al. 1980, Hatakeyama et Yasuno 1987, van Hattum et al. 1989, Timmermans et al. 1992, Croteau et al. 2001] (Chapitre 8). Nous avons de plus vérifié l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd dans les proies de *Chaoborus* devaient répondre au modèle de l'ion libre (Éqns 4-6), i.e., leurs concentrations devaient être reliées aux concentrations de Cd libre dans l'eau (Chapitre 7). Cette vérification a nécessité l'échantillonnage d'eau dans les lacs visités et le dosage ultérieur du Cd, des cations et anions majeurs de même que du carbone organique et inorganique dissous.

En dernière partie de ce volet, nous avons utilisé nos mesures de Cd dans les proies potentielles de *Chaoborus* pour prédire ses concentrations de Cd à l'état stationnaire (*steady state*, Éqn

12). Pour ce faire, nous nous sommes basés sur les données rapportées par Croteau et al. [2001; 2002a] (Chapitres 8 et 9) pour fixer les valeurs des paramètres ( $k_g$ ,  $k_e$ ) et des variables (AE, IR) de l'équation 12.

### 3.2 Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre *Chaoborus*

Dans ce second volet, nous nous sommes intéressés aux variables et paramètres (Éqn 11) qui pouvaient être responsables de l'accumulation différentielle de Cd observée en milieu naturel chez des espèces coexistantes de *Chaoborus*. Au cours d'expériences menées en laboratoire, nous avons exposé des larves appartenant à quatre espèces de *Chaoborus* à des quantités similaires de Cd contenues dans des proies naturellement contaminées. Nous avons émis comme hypothèse de départ que si toutes les espèces consommaient les mêmes proies à un taux similaire, leurs concentrations de Cd devraient s'accroître de la même façon. Dans le cas contraire, nos hypothèses alternatives étaient qu'un taux d'ingestion accru (IR, Éqn 11), une efficacité d'assimilation du Cd supérieure (AE, Éqn 11) ou des pertes de Cd négligeables qu'elles soient nettes ( $k_e$ , Éqn 11) ou causées par la dilution des concentrations en raison de la croissance de l'animal ( $k_g$ , Éqn 11), devait de façon isolée ou de concert, expliquer les concentrations supérieures de Cd retrouvées chez certaines espèces. Ces hypothèses furent testées à l'aide du modèle de bioaccumulation décrit à l'équation 11 dont le développement et l'intégration sont présentés à la section *Modelling Cd bioaccumulation* du chapitre 8.

En dernière partie de ce volet (Chapitre 8), nous avons prédit les concentrations de Cd à l'état stationnaire (Éqn 12) chez les quatre espèces étudiées en utilisant nos mesures de taux d'ingestion (IR) et de concentrations de Cd dans les proies ( $[Cd]_F$ ) de même que nos estimations d'efficacité d'assimilation du Cd (AE) et de constantes de taux de perte et de croissance (respectivement,  $k_e$  et  $k_g$ ). Nous avons par la suite comparé nos prédictions aux concentrations de Cd mesurées chez des espèces récoltées dans 17 lacs du Bouclier canadien afin de valider notre modèle de bioaccumulation et les valeurs des paramètres déterminés lors de nos expériences.

### 3.3 Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomonitor *Chaoborus*

Dans ce volet (Chapitre 9), nous avons tenté de déterminer l'influence de la température sur l'accumulation et la perte de Cd chez 3 espèces du genre *Chaoborus*. Puisque l'élévation des températures conduit généralement à un accroissement des activités métaboliques chez les organismes [Robinson et al. 1983, Ratte 1985], nous avons émis l'hypothèse que l'augmentation des températures d'exposition devrait se répercuter en une bioaccumulation accrue du Cd chez toutes les espèces exposées et ce, bien que la prise en charge et la perte de Cd pourraient toutes les deux être positivement influencées par l'augmentation des températures. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des expériences de laboratoires similaires à celles décrites dans le volet précédent en utilisant trois températures d'exposition (i.e., 5, 14 et 22 °C), ces dernières reflétant la gamme des températures retrouvées en milieu naturel. À l'aide d'un modèle de bioaccumulation présenté à la section «Résultats» du Chapitre 9 (*Cadmium bioaccumulation model*), nous avons pu déterminer l'influence de la température sur les variables et les paramètres impliqués dans les processus de prise en charge et de perte du Cd chez 3 espèces du genre *Chaoborus*. Les résultats de ces expériences nous ont alors permis de tester l'hypothèse selon laquelle la température devait influencer de façon similaire l'accumulation et la perte de Cd chez trois espèces du genre *Chaoborus*.

Dans la dernière partie de ce projet, nous avons prédit en milieu naturel, la gamme possible des concentrations de Cd retrouvées chez *Chaoborus punctipennis* en utilisant nos estimations de AE,  $k_e$  et  $k_g$  (Tableaux 4-5, Chapitre 9) de même que nos mesures de IR (Tableau 4, Chapitre 9) et de concentrations en Cd chez des copépodes provenant de 8 lacs (Tableau 3, Chapitre 9). L'intégration des informations tirées de ces expériences devrait accroître notre compréhension des mécanismes et facteurs impliqués dans la bioaccumulation du Cd chez *Chaoborus*, ce qui permettrait d'expliquer les variations observées dans les concentrations de Cd entre les espèces et les lacs. L'impact des changements climatiques saisonniers et du réchauffement global sur les concentrations de Cd retrouvées chez *Chaoborus* devraient être ainsi mieux cernés.

### 3.4 Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomonitor *Chaoborus*

Dans le cadre de ce projet (Chapitre 10), nous avons mesuré les concentrations de Cd dans l'eau et chez les larves de l'insecte *Chaoborus* dans un dizaine de lacs situés dans les régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda (Tableau 1, Chapitre 10) entre 1996 et 2000. Ces résultats ont été combinés aux données de Hare et Tessier [1996; 1998], ces derniers ayant échantillonné ces mêmes lacs à la fin des années 80 et au début des années 90. Nous avons émis l'hypothèse que la qualité des eaux des lacs (i.e., exprimée par les variables «degré d'acidité» et «teneur en métaux traces») autrefois hautement contaminés par les émissions atmosphériques de SO<sub>2</sub> et de métaux traces devait s'être améliorée à la suite de l'action concertée des gouvernements et des industries, notamment le secteur des mines.

Les données recueillies lors de ce projet nous ont également permis de vérifier l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd mesurées chez *Chaoborus* devaient refléter les changements temporels dans la qualité des eaux de ces lacs (e.g., pH, concentrations de métaux) (Chapitre 10). Nous avons par la suite utilisé le modèle décrit par Hare et Tessier [1996; 1998] pour vérifier si nos observations s'accordaient avec les prédictions du modèle et pour expliquer les changements observés dans les concentrations de Cd dans *Chaoborus* au cours de cet intervalle de temps.

### 3.5 La métallothionéine chez le biomonitor *Chaoborus*

Contrairement aux volets précédents de mon doctorat qui s'intéressaient davantage aux mécanismes impliqués dans la bioaccumulation du Cd chez des individus entiers de *Chaoborus* (Chapitres 7-10), ce projet de nature plus «biochimique» (Chapitre 11) avait pour objectif premier de déterminer si les larves de cet insecte possédaient une protéine de détoxification apparentée à la métallothionéine (*metallothionein-like protein*). Nous avons émis l'hypothèse que *Chaoborus* bénéficierait d'un tel mécanisme de détoxification de sorte que les quantités de Cd accumulées par l'organisme seraient séquestrées par cette protéine. La capacité de *Chaoborus* à synthétiser la métallothionéine expliquerait d'ailleurs

en partie sa présence dans les lacs hautement contaminés en métaux traces. Une étude menée par Aoki et al. [1989] a d'ailleurs montré que parmi les trois espèces de l'éphémère *Baetis* habituellement retrouvées dans les rivières Japonaises, seule l'espèce possédant de la métallothionéine habitait les cours d'eau contaminés en métaux.

Nous avons également tenté de vérifier au cours de ce projet la tendance selon laquelle les concentrations de Cd dans *Chaoborus* seraient corrélées à leurs niveaux de métallothionéine, ces derniers devant à leur tour refléter l'état de contamination en Cd du milieu. La vérification de ces hypothèses a nécessité la récolte d'eau et de larves d'insecte provenant d'une dizaine de lacs situés le long d'un gradient de contamination en Cd. L'échantillonnage de même que le dosage des métaux et de la métallothionéine dans plusieurs espèces du genre nous a de plus permis de vérifier l'hypothèse selon laquelle des concentrations réduites voire l'absence de métallothionéine chez certaines espèces pourraient expliquer les variations observées dans les concentrations de Cd entre les espèces de *Chaoborus* [Croteau et al. 1998; 2002b] (Chapitres 8-9).

### **3.6 Régime alimentaire de deux espèces de *Chaoborus* dans un lac hautement acide et contaminé en métaux traces: le lac Turcotte**

Il faut d'abord préciser que ce volet ne fait pas véritablement partie de ma thèse, i.e., il constitue en soi, une étude indépendante entreprise par le Dr Hare et moi au cours de mon doctorat. Une partie seulement des résultats est disponible (pour l'instant) et ces derniers figurent en annexes. Nous avons en effet convenu d'intégrer à ma thèse la problématique, les objectifs et les hypothèses de même que les principaux résultats de cette étude puisqu'ils s'avèrent prometteurs et permettent d'améliorer notre connaissance des processus impliqués dans l'accumulation du Cd par *Chaoborus*.

Ainsi, dans ce volet dominé par l'aspect écologique, nous avons caractérisé le régime alimentaire des 2 espèces de *Chaoborus* (*C. punctipennis* et *C. americanus*) présentes dans le lac Turcotte, un lac hautement acide et contaminé en métaux traces qui dévie des prédictions du modèle [Croteau et al. 1998]. Les deux espèces de *Chaoborus* étudiées

diffèrent tant par leur taxonomie [Saether 1972], leur comportement migratoire [Fedorenko et Swift 1972; Haney et al. 1990] que par leur contenu en Cd [Croteau et al. 1998; 2001] (Chapitre 8) et vraisemblablement par leur cycle de vie [Carter et Kwik 1977]. Nous avons émis l'hypothèse que le régime alimentaire de ces 2 espèces devait différer tant aux niveaux de leur taux d'ingestion, de la périodicité de l'alimentation que dans le type de proies consommées. Nous soupçonnons que la coexistence de ces espèces implique qu'elles occupent différentes strates à l'intérieur de la colonne d'eau et ce, afin de réduire entre ces espèces tant la compétition pour le partage des ressources que la prédation.

Ces hypothèses ont pu être vérifiées en échantillonnant intensivement (i.e., à toutes les 4 heures durant 2 périodes de 24 heures) *Chaoborus* et ses proies potentielles (le zooplancton) le long de la colonne d'eau du lac Turcotte. En parallèle à l'inventaire des organismes planctoniques présents dans ces échantillons, nous avons analysé les contenus stomacaux des larves de *Chaoborus* récoltés aux mêmes profondeurs afin de dresser le portrait du régime alimentaire de ces espèces et de leurs possibles préférences pour certaines proies. Ces informations devraient apporter de nouveaux éléments de réponse aux faibles concentrations de Cd rapportées chez les larves de *Chaoborus* de ce lac hautement contaminé en métaux traces qui dévie des prédictions du modèle [Croteau et al. 1998].

## 4. MÉTHODES

---

La vérification des hypothèses de recherche présentées au chapitre 3 a nécessité de nombreuses campagnes d'échantillonnage menées principalement dans les régions minières de Sudbury et Rouyn-Noranda. Des expériences portant sur la cinétique de l'accumulation et de la perte du Cd chez *Chaoborus* ont également été réalisées, pour la plupart dans le secteur de Rouyn-Noranda. La position géographique des sites d'études se trouve dans les tableaux des chapitres 7 à 9.

### 4.1 Échantillonnage

Les larves de l'insecte *Chaoborus* ont été récoltées (hormis quelques exceptions) après la tombée de la nuit à l'aide de tirs horizontaux de filet à plancton (maillage de 250 µm). Les organismes furent identifiés à l'espèce selon des critères morphologiques [Saether 1972]. Afin de réduire la variabilité occasionnée par des différences dans le stade de développement des organismes [Hare et Campbell 1992], les échantillons de *Chaoborus* se composaient dans tout les projets, uniquement d'individus appartenant au quatrième stade larvaire (i.e., le dernier stade avant la pupaison). Selon l'étude, les larves pouvaient être dépurées de leur contenu stomacal avant d'être déposées de façon individuelle ou en groupe de 10 à 15 sur une pièce de Téflon préalablement nettoyée à l'acide nitrique 15% et pré-pesée. La pièce de Téflon était par la suite insérée dans un tube à centrifugation (nettoyé à l'acide nitrique 15%) et l'échantillon était alors conservé à -4 °C jusqu'au moment des analyses.

Le zooplancton fut récolté durant le jour à l'aide de tirs horizontaux de filet à plancton (maillage de 64 µm). Certains échantillons furent fractionnés en regard de leur taille (Chapitre 7) ou triés selon l'appartenance des organismes aux groupes taxonomiques majeurs (Chapitres 7-9, 12). Pour chacune de ces techniques de séparation, des échantillons d'organismes furent déposés sur une pièce de Téflon et conservés à -4 °C jusqu'au moment des analyses. Dans le cas du projet sur le régime alimentaire de *Chaoborus* (Chapitre 12), l'échantillonnage des larves de cet insecte et de ses proies fut

réalisé à l'aide d'une trappe à plancton Schindler-Patalas munie d'un filet dont la grandeur des mailles se chiffrait à 64  $\mu\text{m}$ .

Tous les échantillons d'eau furent récoltés au moyen de dialyseurs disposés pendant une période minimale de 3 jours à un mètre du fond dans l'épilimnion des lacs. Le pH des lacs fut mesuré à deux reprises (i.e., à l'installation et lors de la récupération des dialyseurs) dans un échantillon d'eau prélevé à la profondeur des dialyseurs à l'aide d'un pH-mètre portatif. Une description détaillée des manipulations effectuées tant lors de la récolte des échantillons d'eau que des organismes est présentée dans les sections *Methods* de chacun des chapitres propres aux projets de ce doctorat.

## 4.2 Expériences de laboratoire

Dans le cadre des projets dont l'objectif principal consistait à l'étude des variables biologiques (Chapitres 8 et 9) et abiotique (i.e., température, Chapitre 9) qui influençaient la bioaccumulation du Cd chez *Chaoborus*, des expériences de prise en charge et de perte de Cd ont été réalisées afin de cerner l'effet de chacune de ces variables. Lors de ces expériences, des larves de chacune des espèces étudiées étaient confinées individuellement dans des contenants de 30 mL remplis d'eau de lac filtrée (64  $\mu\text{m}$ ) pour une période pouvant aller jusqu'à 14 jours. Les larves étaient maintenues à la température désirée (i.e., 5, 14 ou 22 °C) et à l'obscurité. Dans le cas des expériences de prise en charge, des larves peu contaminées en Cd étaient exposées à de l'eau et des proies (copépodes) naturellement contaminés. A l'inverse, lors des expériences de perte, des larves de *Chaoborus* hautement contaminées en Cd étaient exposées à de l'eau et des proies (zooplancton brut) d'un lac peu contaminé. Les concentrations de Cd dans *Chaoborus* et ses proies étaient mesurées régulièrement au cours de ces expériences qui sont par ailleurs décrites en détails dans la section «*Methods*» des chapitres 8 et 9.

## 4.3 Analyses

De façon à minimiser les risques de contamination, tout le matériel utilisé en laboratoire fut préalablement nettoyé à l'acide nitrique 15%, rincé à plusieurs reprises avec de l'eau ultra-pure et séché sous une hotte à flux laminaire.

Les échantillons d'invertébrés furent lyophilisés avant leur digestion dans de l'acide nitrique concentré. L'analyse des métaux s'est effectuée par spectrophotométrie d'absorption atomique (AAS). Lors de chaque séquence analytique des échantillons de référence furent analysés comme contrôle de qualité. Les détails des analyses chimiques se retrouvent notamment à la section «Analyses» du Chapitre 9. Le logiciel WHAM 1.0 [Tipping 1994] (*Windermere Humic Aqueous Model*) fut utilisé pour déterminer la spéciation des métaux; les hypothèses concernant l'entrée de la matière organique naturelle dans WHAM sont données dans Croteau et al. [1998].

### 4.3.1 Analyses biochimiques

Une technique de saturation au mercure [Couillard et al. 1993] fut utilisée lors du dosage de la métallothionéine chez *Chaoborus* (Chapitre 11). Les échantillons analysés étaient composés de 300 à 1000 individus (appartenant tous au quatrième stade larvaire) d'une même espèce. Ces échantillons avaient d'abord été congelés dans de l'azote liquide et conservés ultérieurement sous atmosphère d'azote à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment des analyses.

### 4.3.2 Microscopie

Les larves de *Chaoborus* furent identifiées à l'espèce à l'aide d'une loupe binoculaire selon les critères morphologiques de Saether [1972]. Les échantillons de zooplancton furent quant à eux identifiés dans la mesure du possible à l'espèce dans le cadre des chapitres 8 et 9 ou selon leur appartenance à un groupe taxonomique majeur pour les chapitres 7 et 12. Le stade larvaire de *Chaoborus* fut déterminé en mesurant la taille de la capsule céphalique et en la comparant aux valeurs fournies dans la littérature pour chacune des espèces (i.e., *C. punctipennis*: Larow et Marzolf [1970]; *C. flavicans*: Parma [1971]; *C. americanus*: Fedorenko et Swift [1972]). Les dissections de *Chaoborus* furent réalisés conformément à

Fedorenko et Swift [1973] et les contenus stomacaux furent identifiés en microscopie (Chapitre 12). La biomasse des proies ingérées par *Chaoborus* lors de ce projet (Chapitre 12) fut calculée en se basant sur les valeurs de poids secs données par Yan et Struss [1980] dans le cas des crustacés et par Malley et al. [1989] pour les rotifères.

#### 4.4 Modélisation

Les valeurs d'efficacité d'assimilation (AE, Éqn 9) et de constantes de taux de perte ( $k_e$ , Éqn 9) et de croissance ( $k_g$ , Éqn 9) furent déterminées par régression non-linéaire à l'aide du programme statistique SYSTAT 10. Le poids et les concentrations en Cd mesurées chez *Chaoborus*, le contenu en Cd des proies consommées de même que nos mesures de taux d'ingestion furent utilisées pour l'estimation de ces paramètres ajustables. Les hypothèses utilisées pour intégrer l'équation 11 ainsi que les détails entourant les modélisations se trouvent respectivement dans les sections *Modelling Cd bioaccumulation* et *Cd bioaccumulation model* des Chapitres 8 et 9.

## 5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

---

### 5.1 Relations entre les concentrations de Cd dans le prédateur *Chaoborus* et ses proies

Puisque la nourriture constitue la voie d'entrée majeure du Cd chez *Chaoborus* [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999], nous avons d'abord tenté de relier les concentrations de Cd chez ce prédateur à partir des niveaux de Cd mesurés en milieu naturel chez ses proies potentielles, les organismes planctoniques (Éqn 3). Nos résultats ont montré que les concentrations de Cd de *Chaoborus* n'étaient pas corrélées aux concentrations de Cd mesurées dans des assemblages de proies potentielles (i.e., *bulk plankton*) fractionnés (Figure 1B-D, Chapitre 7)<sup>1</sup> ou non (Figure 1A, Chapitre 7) en regard de la taille des organismes présents. Cette catégorisation des proies en regard de leur taille découlait du fait que *Chaoborus* est restreint à consommer des organismes dont la taille est inférieure au diamètre de sa bouche [Hare et Carter 1987]. Précisons également que dans la majorité des lacs échantillonnés (i.e., 67%), les crustacés (i.e., copépodes et cladocères) dominaient en terme de nombre les échantillons de plancton dont la taille se situait entre 300 et 500 µm alors que les rotifères dominaient numériquement les échantillons de plancton de tailles inférieures, i.e., entre 64 et 300 µm

Nos résultats suggèrent également que les métaux contenus dans des assemblages d'organismes planctoniques tant herbivores, omnivores que carnivores s'avèrent peu utiles pour prédire les niveaux en métaux chez des organismes prédateurs comme *Chaoborus* (Figure 1, Chapitre 7). De plus, le fractionnement en regard de la taille de tels assemblages ne constitue pas une méthode de détermination des niveaux trophiques, i.e., chaque échantillon généré se compose d'organismes de même taille mais appartenant à plusieurs niveaux trophiques (e.g., *Daphnia*, un cladocère brouteur vs *Mesocyclops edax* et

---

<sup>1</sup> Les concentrations de Cd chez *C. punctipennis* sont toutefois significativement reliées ( $r^2=0.62$ ,  $p<0.01$ ) aux concentrations de Cd mesurées dans les proies de taille se situant entre 64 et 300 µm si on exclut les lacs de pH < 5.5. Cette accumulation réduite de Cd chez les larves de *C. punctipennis* provenant des lacs acides pourrait s'expliquer par i) un phénomène de compétition entre les ions H<sup>+</sup> et Cd<sup>2+</sup> pour les sites d'absorption membranaire dans le tractus de *Chaoborus*, ii) un taux d'ingestion de biomasse de proies réduit puisque les communautés zooplanctoniques dans ces lacs hautement acides sont composées majoritairement de rotifères (Croteau *et al.* en préparation); ou iii) par une valeur différente de facteur de proportionnalité (i.e., F dans l'équation 3), puisque les rotifères dominent numériquement dans ces lacs.

*Epischura lacustris*, des copépodes omnivores). À défaut de mesures adéquates de la position trophique moyenne de tels échantillons (e.g., à l'aide des isotopes stable de l'azote, France et al. [1996]), les spéculations sur le mouvement des métaux le long des chaînes trophiques basées sur l'utilisation d'assemblages de proies s'avèrent douteuses et peu pertinentes.

De nombreuses études suggèrent que *Chaoborus* serait un prédateur sélectif [Deonier 1943; Swüste et al. 1973; Lewis 1977] qui s'alimenterait préférentiellement de certains types de proies. Nous avons donc trié les proies potentielles de *Chaoborus* en regard de leur taxonomie avant de tenter de relier de nouveau les concentrations de ce prédateur aux niveaux de Cd mesurés chez des proies triées avec une résolution taxonomique plus fine. Nos résultats montrent que la qualité prédictive des relations (i.e., valeur du  $r^2$  des relations) entre les concentrations de Cd chez *Chaoborus* et ses proies grimpe de près de 50 voire 60%, selon que ces dernières appartiennent respectivement au groupe des cladocères ou des copépodes (Figure 2A-B, Chapitre 7). Ce «raffinement taxonomique» de triage couplé à la connaissance des proies véritablement consommées par *Chaoborus* devrait contribuer à améliorer la qualité des relations entre les concentrations de Cd chez *Chaoborus* et celles de ces proies (Éqn 3).

D'ailleurs, dans la perspective d'accroître le pouvoir prédictif des relations entre les concentrations de Cd chez *Chaoborus* et celles de ses proies (Éqn 3), nous avons intégré à l'équation 3 des variables biologiques telles l'efficacité d'assimilation du Cd, le taux d'ingestion et les constantes de taux de croissance et de perte de Cd par l'organisme (Éqn 9) (Chapitres 8-9). En combinant aux mesures de concentrations de Cd chez des copépodes et des cladocères (Tableau 3, Chapitre 7), les valeurs obtenues par Croteau et al. (Chapitre 9) pour les variables et paramètres du modèle de bioaccumulation décrivant les concentrations de Cd chez *Chaoborus* à l'état stationnaire (Éqn 12), nous avons prédit avec succès la gamme des concentrations en Cd rencontrées chez deux espèces de ce prédateur dans la majorité des lacs (Figure 4, Chapitre 7). Ces résultats suggèrent que ce modèle (Éqn 12) pourrait être utilisé comme outil pour prédire les concentrations de Cd dans ce prédateur à partir de celles de ses proies.

### 5.1.1 Relation entre les concentrations de Cd dans le zooplancton et celles de Cd<sup>2+</sup>

Les données recueillies au cours de ce projet nous ont également permis de vérifier l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd contenues dans les proies de *Chaoborus* devraient répondre au modèle de l'ion libre (i.e., en combinant les équations 4 à 6). Or, les concentrations de Cd dans les assemblages de taille du zooplancton n'étaient en aucun temps reliées aux concentrations en ion libre de Cd du milieu et ce, malgré le fait que la compétition entre les ions H<sup>+</sup> et Cd<sup>2+</sup> ait été considérée (i.e., en combinant les équations 4 à 6). En revanche, les concentrations de Cd retrouvées dans les copépodes et les cladocères étaient significativement reliées aux concentrations de Cd<sup>2+</sup> (Figure 2C-D, Chapitre 7). Ces résultats appuient de nouveau notre «retenue» quant à l'utilisation des assemblages de proies comme variable dans des modèles prédictifs. Il est de notre avis qu'une «résolution taxonomique» adéquate combinée à la connaissance du régime alimentaire et de la position trophique des organismes en nature devraient accroître les capacités prédictives des modèles.

### 5.2 Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre *Chaoborus*

Lors des expériences de prise en charge de Cd réalisées au cours de ce projet, nous avons mesuré des différences substantielles dans l'accumulation du Cd chez quatre espèces de *Chaoborus* (Figure 5, Chapitre 8). Au terme de ces expériences au cours desquelles les larves de *Chaoborus* avaient été exposées à des quantités similaires de Cd contenues dans des proies naturellement contaminées, les deux espèces de grande taille avaient accumulé plus de Cd (i.e., tant en termes de quantité que de concentration) que les espèces de petite taille et ce, malgré un taux d'ingestion des proies similaire pour les quatre espèces (Figure 5, Chapitre 8). Nous avons déterminé les causes de cette accumulation différentielle du Cd entre les espèces en appliquant à nos données le modèle de bioaccumulation théorique (Éqn 1) décrit à la section *Modelling Cd bioaccumulation* du Chapitre 8, ce qui a permis de comparer les espèces en regard de leur efficacité d'assimilation du Cd (i.e., AE) et de leurs constantes de taux de croissance (i.e., k<sub>g</sub>) et de perte (i.e., k<sub>e</sub>). Ainsi, les différences mesurées en laboratoire entre les espèces dans l'accumulation du Cd seraient expliquées

principalement par le fait que les espèces de petite taille assimileraient de leurs proies une proportion de Cd beaucoup plus faible ( $\approx 6\%$ ) que les espèces de grande taille (45 et 58%) (Tableau 3, Chapitre 8). Parmi les causes pouvant être invoquées pour expliquer ces différences d'efficacité d'assimilation du Cd entre les espèces, mentionnons les modes d'ingestion des proies (e.g., écrasement des proies, aspiration des liquides), de digestion (e.g., nature et efficacité des enzymes digestives, pH du tractus) et d'assimilation (e.g., nombre et nature des sites d'absorption du Cd dans le tractus). Nos résultats suggèrent également que l'efficacité d'assimilation du Cd serait significativement reliées aux changements de masse corporelle mesurés lors des expériences de prise en charge (Figure 6, Chapitre 8), ce qui corrobore d'ailleurs la corrélation retrouvée par Wang et Fisher [1996] entre l'assimilation du carbone et celle du Cd chez des larves d'un bivalve.

En utilisant nos mesures de taux d'ingestion, de concentrations de Cd dans les proies de même que nos estimations d'efficacité d'assimilation et de constantes de taux de perte et de croissance, nous avons calculé les concentrations de Cd à l'état stationnaire chez les quatre espèces (Éqn 12). Nos prédictions suggèrent qu'en milieu naturel, ces concentrations iraient en décroissant de *C. flavicans* ( $10.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) à *C. americanus* ( $4.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ) à *C. punctipennis* ( $1.9 \mu\text{g g}^{-1}$ ) et à *C. albatius* ( $1.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ), en supposant que ces espèces consomment les mêmes types de proies à un taux similaire. En comparant ces prédictions aux concentrations de Cd mesurées chez des espèces récoltées dans 17 lacs du Bouclier canadien (Tableau 2, Chapitre 8), nos résultats suggèrent que les différences observées en milieu naturel dans les concentrations de Cd entre les espèces coexistantes (Tableau 2, Chapitre 8) seraient attribuables non seulement au fait que les espèces diffèrent entre elles dans leur efficacité d'assimilation du Cd mais également dans leur régime alimentaire.

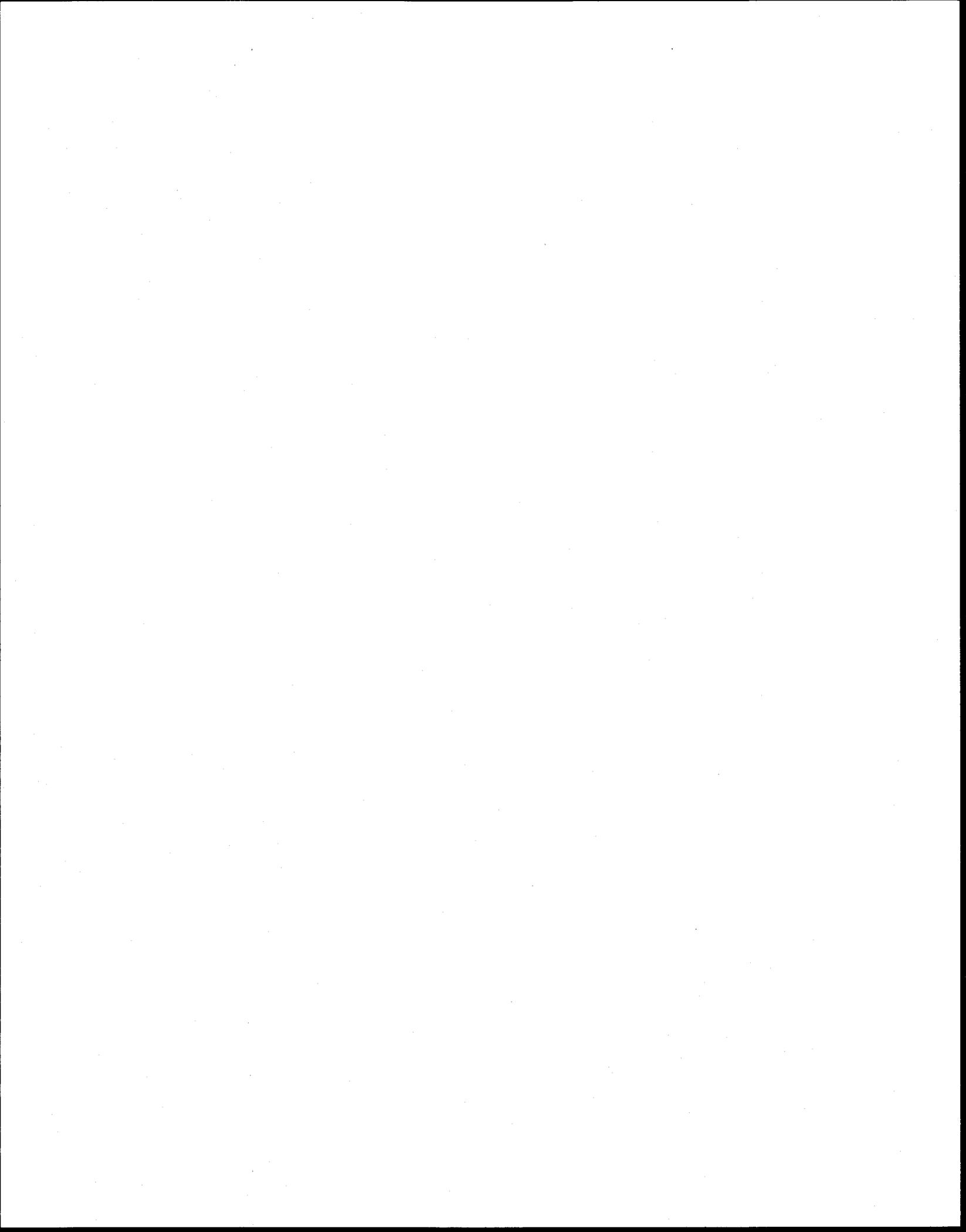
### **5.3 Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomoniteur *Chaoborus***

Les expériences réalisées au cours de ce projet ont montré que la température influençait la prise en charge du Cd (mais non sa perte) chez trois espèces de *Chaoborus* (Tableau 6, Chapitre 9). En exposant des larves appartenant aux espèces *americanus*, *flavicans* et *punctipennis* à des quantités similaires de Cd contenues dans des proies naturellement

contaminées et ce, à des températures reflétant la gamme des températures retrouvées en milieux naturels (i.e., 5, 14 et 22 °C), nous avons mesuré chez toutes les espèces un accroissement du taux d'accumulation du Cd en fonction de l'augmentation des températures (Figure 3, Chapitre 9). Les variables biologiques responsables de cette accumulation accrue du Cd à des températures élevées ont été identifiées en appliquant à nos données, le modèle de bioaccumulation théorique décrit à la section précédente (*Modelling Cd bioaccumulation*, Chapitre 8). Ainsi, les températures élevées stimuleraient l'ingestion de proies (Figure 4, Chapitre 9) et augmenteraient l'assimilation du Cd (Tableau 4, Chapitre 9) chez la plupart des espèces, ce qui favoriserait la bioaccumulation du Cd (Figure 1D-F, Chapitre 8).

En intégrant à l'équation 12, nos estimations d'efficacité d'assimilation (EA), de constantes de taux de croissance ( $k_g$ ) et de perte de Cd ( $k_e$ ) de même que nos mesures de taux d'ingestion (IR) et de concentration de Cd retrouvées chez des copépodes ( $[Cd]_F$ ) échantillonnés dans 8 lacs du Bouclier canadien, nous avons par la suite prédit avec succès, dans la majorité des lacs, la gamme des concentrations de Cd susceptible d'être rencontrée chez *C. punctipennis* à l'état stationnaire (Éqn 12) en milieu naturel (Figure 5, Chapitre 9). Ces résultats suggèrent que notre modèle de bioaccumulation (Éqn 11) fait adéquatement l'intégration des multiples processus impliqués dans la prise en charge et la perte du Cd en milieu naturel chez les larves de cet insecte aquatique.

Les résultats issus de ce projet (Chapitre 9), combinés à ceux du volet précédent (Chapitre 8), nous permettent d'invoquer l'influence de la température d'exposition pour expliquer, du moins en partie, les variations dans les concentrations de Cd observées chez une même espèce de *Chaoborus* entre différents lacs (Tableau 2, Chapitre 8). À l'impact de ce facteur abiotique sur la bioaccumulation du Cd s'ajoute l'influence du type de proie consommée qui aura une incidence directe sur le contenu en Cd de la nourriture (Tableau 3, Chapitre 7) et modèlera tant l'efficacité d'assimilation du métal [Wang et Fisher 1996] que le taux d'ingestion du prédateur [Munger et Hare 2000]. Dans le même ordre d'idée, une espèce non migratrice telle *C. americanus* qui passe l'essentiel de son temps dans les eaux chaudes de l'épilimnion durant l'été devrait accumuler davantage de Cd que les larves



d'espèces migratrices telles *C. punctipennis* et *C. flavicans*. Ces dernières se confinent en effet dans les sédiments ou l'hypolimnion anoxique durant le jour et ne migrent dans les eaux chaudes de l'épilimnion pour s'alimenter qu'à la nuit tombée. Il s'avérerait d'ailleurs intéressant de discerner l'importance de la température lors de la digestion des proies par les espèces migratrices puisque nos hypothèses impliquent que ces espèces digèrent lentement leurs proies durant le jour (i.e., dans les sédiments ou l'hypolimnion). La présence d'organismes zooplanctoniques dans les tractus de larves de *C. punctipennis* durant le jour (alors qu'elles se trouvent dans les sédiments) semblent d'ailleurs confirmer cette hypothèse (Croteau et Hare, données non-publiées). Enfin, puisque la température d'exposition tout comme le type et la densité des proies présents dans un lac varient dans le temps (i.e., selon les saisons et les années), l'influence de ces variables pourrait également être mise en cause pour expliquer les changements temporels (i.e., saisonniers et annuels) dans les concentrations de Cd observés chez une même espèce (e.g., *C. punctipennis*: Hare et Campbell 1992)

## 5.4 Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomonitor *Chaoborus*

Au cours des dernières décennies, la prise de conscience des effets néfastes qu'engendraient les rejets de l'industrie minière sur l'environnement a initié de nombreuses mesures restrictives et préventives qui se sont soldées par des réductions marquées dans les quantités de dioxyde de soufre et de métaux traces émises par les fonderies (Figure 1, Chapitre 10). Certains lacs qui étaient autrefois très acides et fortement contaminés en métaux présentent de nos jours des pH près de la neutralité et des teneurs en métaux traces de 2 à 5 fois moindres qu'il y a une dizaine d'années (Hare et Tessier 1996; 1998; Croteau et al. 1998; 2001; M.-N. Croteau, données non publiées; Tableau 1, Chapitre 9).

Les résultats obtenus lors de ce projet montrent également que les concentrations de Cd mesurées chez les larves de l'insecte biomonitor *C. punctipennis* témoignent des changements survenus dans la qualité des eaux (i.e., exprimée par les variables «degré d'acidité» et «teneur en métaux traces») des lacs des régions minières. Ainsi, dans le cas

des lacs dont le pH avoisinait la neutralité pour la période allant de la fin des années 1980 jusqu'au début des années 1990 (pH > 6.4, Tableau 2, Chapitre 10), les concentrations de Cd dans *Chaoborus* ont suivi les fluctuations dans des concentrations de Cd du milieu (Figures 2A-C, Chapitre 10). Cette tendance se retrouve également dans le cas de lacs «légèrement» acides, i.e., ceux dont le pH s'élevait autrefois à 5.8 (i.e., Lacs Crowley et Tilton, Tableau 2 et Figure 2C, Chapitre 10). Toutefois, dans le cas des lacs autrefois «fortement» acides ( $4.5 < \text{pH} < 4.8$ , Tableau 2, Chapitre 10), les réductions drastiques dans les concentrations de Cd et d'ions hydrogène se sont soldées non pas par une réduction des concentrations en Cd chez *Chaoborus* mais plutôt, par un accroissement (Tableau 2 et Figure 1, Chapitre 10). Cette apparente contradiction à la logique voulant que l'amélioration de la qualité d'un milieu se répercute par une accumulation réduite des métaux par les organismes qui y vivent, peut être expliquée à l'aide du modèle de prédiction décrit par Hare et Tessier [1996] (Éqn 2, section 1.6). En intégrant nos résultats à ce modèle, ce dernier prédit en effet que la réduction marquée des concentrations en ions  $\text{H}^+$  observée dans ces lacs autrefois excessivement acides entraînera une diminution importante de la compétition entre les ions  $\text{H}^+$  et  $\text{Cd}^{2+}$  pour les sites d'absorption membranaire. Les organismes accumuleront donc davantage de Cd et ce, malgré de plus faibles concentrations de métal dans le milieu.

Outre l'utilisation de *Chaoborus* comme organisme «sentinelle» du niveau de contamination en Cd des lacs (puisqu'il intègre les changements temporels survenus dans les conditions chimiques du milieu, e.g., pH, métaux), nos résultats suggèrent que les larves de cet insecte pourraient également être utilisées comme outil de dépistage de lacs pour lesquels le rétablissement des taxa sensibles aux métaux (e.g., les cladocères [Lawrence et Holoka 1987]) risquerait d'être lent voire inexistant à court terme et ce, malgré l'amélioration de la qualité des eaux (e.g., élévation du pH dans les lacs acides bénéfique pour le rétablissement des communautés, réduction des concentrations de métaux). Notre étude fournit également un mécanisme de toxicité plausible par lequel la vitesse de rétablissement des communautés pourrait être atténuée voire inhibée en dépit de réductions marquées dans les concentrations en métaux et en protons dans le milieu.

## 5.5 La métallothionéine chez le biomoniteur *Chaoborus*

Le dosage de protéines s'apparentant à la métallothionéine (MT) par leur propriétés chimiques et biochimiques (e.g., affinités pour former des complexes avec le Hg, stabilité thermique, résistance à l'acide) a révélé que toutes les espèces de *Chaoborus* échantillonnées lors de ce projet présentaient des niveaux détectables de MT. L'accumulation différentielle du Cd observée entre les espèces du genre (Chapitres 8 et 9) ne peut donc être expliquée par l'absence de cette protéine de détoxification chez certaines espèces (Tableau 2, Chapitre 11). Les concentrations de MT mesurées chez *Chaoborus* variaient de 100 à 270 nmoles de sites de liaison  $g^{-1}$  (Tableau 2, Chapitre 11), ce qui s'avère comparable aux gammes de concentrations rapportées en eaux douces pour le bivalve *Pyganodon grandis* (163-414 nmoles de sites de liaison  $g^{-1}$ , Couillard et al. 1993) et pour les larves de l'éphémère *Hexagenia limbata* (18-106 nmoles de sites de liaison  $g^{-1}$ , Couillard et al. données non-publiées).

Les niveaux de MT retrouvés chez *Chaoborus* s'avèrent de plus suffisants pour lier tout le Cd présent chez les larves de cet insecte (Tableau 2, Chapitre 11). Ainsi, les risques de débordement cellulaire (*spill-over*) dû au Cd (i.e., événement précurseur à l'apparition d'effets néfastes), apparaissent donc minimes chez les larves de cet insecte. La présence de *Chaoborus* dans les lacs hautement contaminés en métaux traces (e.g. Cd) pourrait donc être en partie attribuée à l'existence chez cet organisme d'un mécanisme de détoxification efficace impliquant des protéines apparentées à la métallothionéine.

Nos résultats montrent également que les niveaux de MT mesurés chez *Chaoborus* étaient fortement corrélés aux concentrations de Cd et de Cu dans l'animal (Figure 1, Chapitre 11) mais non à celles de Zn, ce qui confirme l'incapacité «reconnue» de ce métal à induire la synthèse de métallothionéine. Par ailleurs, il est de notre avis que la corrélation significative retrouvée entre les concentrations MT et de Cu chez *Chaoborus* (Figure 1A, Chapitre 11) serait une conséquence de l'affinité de cette protéine de détoxification à se lier à une grande variété de métaux (dont le Cu). Ainsi, en séquestrant d'une partie du Cu biodisponible pour les cellules, la métallothionéine «forcerait» en quelque sorte les cellules

à compenser leurs faibles teneurs en ce micro-nutrient essentiel, par une entrée accrue de cuivre, d'où la corrélation entre les niveaux de MT et de Cu chez *Chaoborus*.

Enfin, la forte corrélation retrouvée entre les teneurs en métallothionéine chez *Chaoborus* et les concentrations de Cd dans l'eau (Figure 2B, Chapitre 11) suggère que cette protéine de détoxification pourrait être utilisée pour monitorer les concentrations de Cd «bioréactif», i.e., les teneurs en Cd chez *Chaoborus* en mesure d'initier une réponse biochimique.

## **5.6 Régime alimentaire de deux espèces de *Chaoborus* dans un lac hautement acide et contaminé en métaux traces: le lac Turcotte**

*Au moment de soumettre cette version, seuls les échantillons de la première journée de récolte au Lac Turcotte avaient été analysés de façon préliminaire. Comme ces résultats ne font pas véritablement partie de ma thèse (cf. section 3.6), les résultats relatifs à cette première journée d'échantillonnage sont donc rapportés en annexes.*

Précisons d'abord que cette étude décrit pour la première fois, le régime alimentaire de 2 espèces de *Chaoborus* habitant un lac acide (pH 5.2), extrêmement contaminé par les métaux traces [Croteau et al. 1998] et qui abrite une communauté zooplanctonique dominée en terme de biomasse par des rotifères (Annexe 1A-C)

L'échantillonnage des larves de l'insecte *Chaoborus* et de ses proies potentielles effectué à toutes les quatre heures le long de la colonne d'eau du lac Turcotte (à 2 stations) a révélé que les larves de *C. americanus* ne semblaient pas véritablement migrer et ce, au contraire de *C. punctipennis* (Annexe 2). Ces résultats confirment la réputation de «non-migrante» de l'espèce *americanus* et suggère que l'échantillonnage et le dénombrement des larves s'est correctement déroulé puisque nos résultats mettent clairement en évidence la migration reconnue des larves de *C. punctipennis* [Moore 1988].

Par ailleurs, la proportion des larves avec de la nourriture dans le tractus (Annexe 3) laisse supposer que *C. americanus* s'alimenterait à toute heure du jour puisque ses proies occupent continuellement la colonne d'eau (principalement des rotifères, Annexe 1A). À l'inverse, *C. punctipennis* s'alimenterait essentiellement la nuit (et non pas le jour dans les sédiments). Nos résultats suggèrent également que les larves des deux espèces s'alimenteraient préférentiellement de crustacés (e.g., copépodes, cladocères, Annexe 4) et ce, malgré la faible abondance de ce type de proies dans la communauté planctonique (Annexes 1B-C). Des algues ont également été retrouvées dans le tractus des deux espèces, ce qui supporte les résultats de Moore et al. [1994] affirmant que les larves de *C. punctipennis* seraient davantage omnivores que carnivores.

Nos résultats montrent de plus, que les larves de l'espèce de grande taille (*C. americanus*) consommeraient en moyenne plus de proies en terme de biomasse que l'espèce de petite taille (*C. punctipennis*) (Annexe 5) et ce, malgré le fait que cette dernière puisse parfois ingérer un nombre de proies plus grand (Annexe 5). Cette consommation accrue de proies par *C. americanus* traduirait sans doute un taux métabolique élevé en raison de leur présence constante dans les eaux chaudes de l'épilimnion durant l'été.

## 5.7 Conclusions

Les travaux réalisés au cours de ce doctorat confirment avant tout, le potentiel de *Chaoborus* comme outil de surveillance environnementale. Sa vaste distribution, son identification relativement aisée, sa facilité d'échantillonnage, sa position trophique stratégique dans la chaîne alimentaire de même que sa capacité à accumuler et à tolérer les métaux (cf. section 1.5) en font un organisme difficile à déclasser. De plus, la base théorique solide (i.e., modèle de l'ion libre, sections 1.2 et 1.6) du modèle de prédiction élaboré par Hare et Tessier [1996] proposant la candidature de *Chaoborus* comme biomoniteur de la contamination en Cd des lacs s'avère difficilement critiquable.

Les résultats issus de ce doctorat montrent d'ailleurs que les niveaux de contamination en Cd retrouvés chez *Chaoborus* intègrent les changements temporels dans les conditions

chimiques du milieu (e.g., pH, métaux) (Chapitre 10). Outre cette utilisation de *Chaoborus* comme outil de monitoring, les résultats de l'étude sur les changements temporels (Chapitre 10) suggèrent que les larves de cet insecte pourraient éventuellement être utilisées comme outil de dépistage de lacs pour lesquels le rétablissement des taxa sensibles aux métaux (e.g., les cladocères) risquerait d'être lent voire inexistant à court terme et ce, malgré l'amélioration de la qualité des eaux (i.e., élévation du pH dans les lacs acides, réduction des concentrations de métaux).

Toutefois, la majorité des connaissances générées lors des travaux de ce doctorat permettent avant tout, de mieux comprendre les processus qui modulent l'accumulation du Cd chez les larves de cet insecte. Ainsi, les différences observées en milieu naturel dans les concentrations de Cd entre espèces coexistantes (Chapitre 8) sembleraient attribuables non seulement au fait que les espèces diffèrent entre elles dans leur efficacité d'assimilation du Cd mais également dans leur régime alimentaire. La température d'exposition pourrait également être invoquée pour expliquer, du moins en partie, les variations dans les concentrations de Cd observées chez une même espèce de *Chaoborus* entre différents lacs (Chapitre 8), saisons, voire années. Nos résultats ont en effet montré que des températures élevées stimulaient l'ingestion des proies (Chapitre 9) et augmentaient l'assimilation du Cd (Chapitre 9) chez la plupart des espèces, ce qui favorisait en bout de ligne la bioaccumulation du Cd (Chapitre 8). A l'impact de ce facteur abiotique s'ajoute l'influence du type de proie consommée par *Chaoborus* qui semble avoir une incidence directe sur le contenu en Cd de sa nourriture (Chapitre 7), cette dernière étant reconnue pour moduler tant l'efficacité d'assimilation du métal [Wang et Fisher 1996] que le taux d'ingestion du prédateur [Munger et Hare 2000].

En intégrant toutes ces informations, il devient alors possible de supposer qu'une espèce non migratrice telle *C. americanus*, qui passe l'essentiel de son temps dans les eaux chaudes de l'épilimnion durant l'été, devrait accumuler davantage de Cd que les larves d'espèces migratrices telles *C. punctipennis* et *C. flavicans* qui se confinent dans les sédiments ou l'hypolimnion anoxique durant le jour et ne migrent dans les eaux chaudes de l'épilimnion pour s'alimenter qu'à la nuit tombée. De plus, puisque la température

d'exposition tout comme le type et la densité des proies présents dans un lac varient dans le temps (i.e., selon les saisons, les années), l'influence de la température sur ces variables pourrait être de nouveau (mais cette fois, indirectement) mise en cause pour expliquer les changements temporels (i.e., saisonniers et annuels) dans les concentrations de Cd observés chez une même espèce. Précisons également que la bioaccumulation accrue du Cd observée (et prédite) chez les larves de *Chaoborus* de grande taille a des implications pour la modélisation du transfert de ce métal chez les populations piscicoles qui s'alimentent de *Chaoborus*. Ainsi, dans un lac abritant 2 populations de *Chaoborus* qui différeraient notamment par leur taille (e.g., *C. punctipennis* et *C. flavicans*), les poissons s'alimentant préférentiellement des larves de l'espèce de grande taille devraient être plus exposés au Cd que ceux s'alimentant des larves de *Chaoborus* de petite taille. Pareil constat pourrait également être établi pour des lacs supportant une population plus importante de larves de grande que de petite taille.

Enfin, nos résultats suggèrent que la présence de *Chaoborus* dans les lacs hautement contaminés en métaux traces pourrait être en partie attribuée à l'existence chez cet organisme d'un mécanisme de détoxification efficace impliquant des protéines apparentées à la métallothionéine. Les niveaux de MT retrouvés chez *Chaoborus* s'avèrent en effet suffisants pour lier tout le Cd présent chez les larves de cet insecte (Chapitre 11) de sorte que les risques de débordement cellulaire (*spill-over*) dû au Cd, événement précurseur à l'apparition d'effets néfastes, apparaissent donc minimes chez les larves de cet insecte.

### **5.7.1 *Chaoborus*: outil de surveillance environnementale**

La conséquence pratique importante des nombreux travaux réalisés au cours de ce doctorat réside dans le fait que les gestionnaires du secteur de l'environnement peuvent désormais utiliser *Chaoborus* comme organisme moniteur du niveau de contamination en Cd des lacs. Le gestionnaire intéressé à connaître rapidement le niveau de contamination en Cd d'une série de lacs devra, sur le terrain, mesurer le pH du lac et récolter une dizaine de larves qu'il identifiera à l'espèce pour plus de précision en s'assurant qu'il s'agit d'organismes appartenant au 4<sup>e</sup> stade larvaire. Au laboratoire, ces échantillons devront être déshydratés,

digérés et analysés pour connaître la concentration en Cd des larves (cf. méthodes dans Croteau et al. [1998; 2001]).

Une fois cette concentration déterminée, le gestionnaire pourra alors calculer la valeur de la concentration de l'ion libre du Cd du lac (i.e.,  $[Cd^{2+}]$ ) en utilisant l'équation 2 [Hare et Tessier 1996] et en y intégrant sa valeur de pH de même que les valeurs des constantes  $K_a$  et  $F$  pour l'espèce retrouvée dans le lac [Hare et Tessier 1996; 1998; Croteau et al. 1998]. En se basant sur les données de toxicité tirées de la littérature de même que sur les critères établis pour la qualité des eaux, il sera alors en mesure de statuer sur l'état de contamination en Cd des plans d'eau étudiés. En les classant selon les estimations de  $[Cd^{2+}]$  obtenues, le gestionnaire pourra cibler les lacs pour lesquels des risques d'effets toxiques sont envisageables. *Chaoborus* étant relativement insensible aux métaux (Chapitre 11), le gestionnaire devra rechercher des manifestations d'effets toxiques chez des organismes davantage sensibles aux métaux (i.e., cladocères [Lawrence et Holoka 1987]). Il importe toutefois de mentionner que cette détermination implique que soit ignoré le possible effet protecteur des ions  $H^+$  sur l'accumulation du Cd par ces organismes aquatiques (i.e., cet effet protecteur tendrait à déduire les concentrations de Cd chez les organismes exposés).

## 5.8 Perspectives de recherche

Puisque la nourriture constitue la principale voie d'entrée du Cd chez *Chaoborus* [Munger et Hare 1997; Munger et al. 1999], il apparaît donc peu probable que le phénomène de compétition entre le Cd et les protons ait lieu à l'échelle de ce prédateur mais plutôt, à un (ou des) échelon(s) trophique(s) inférieur(s) (cf. section 1.6). L'acquisition de connaissances relatives aux voies d'entrée majeures des métaux chez les proies de *Chaoborus* (i.e., les organismes zooplanctoniques tels les copépodes et les cladocères) permettrait de localiser précisément le(s) site(s) biologique(s) où s'effectue la compétition entre les protons et les ions  $Cd^{2+}$ . Ces informations reliées davantage à la science dite «fondamentale» contribueraient à améliorer notre compréhension des processus de prise en charge des métaux par les organismes situés dans les premiers maillons des chaînes trophiques des lacs. De telles connaissances, vitales aux analyses de risque

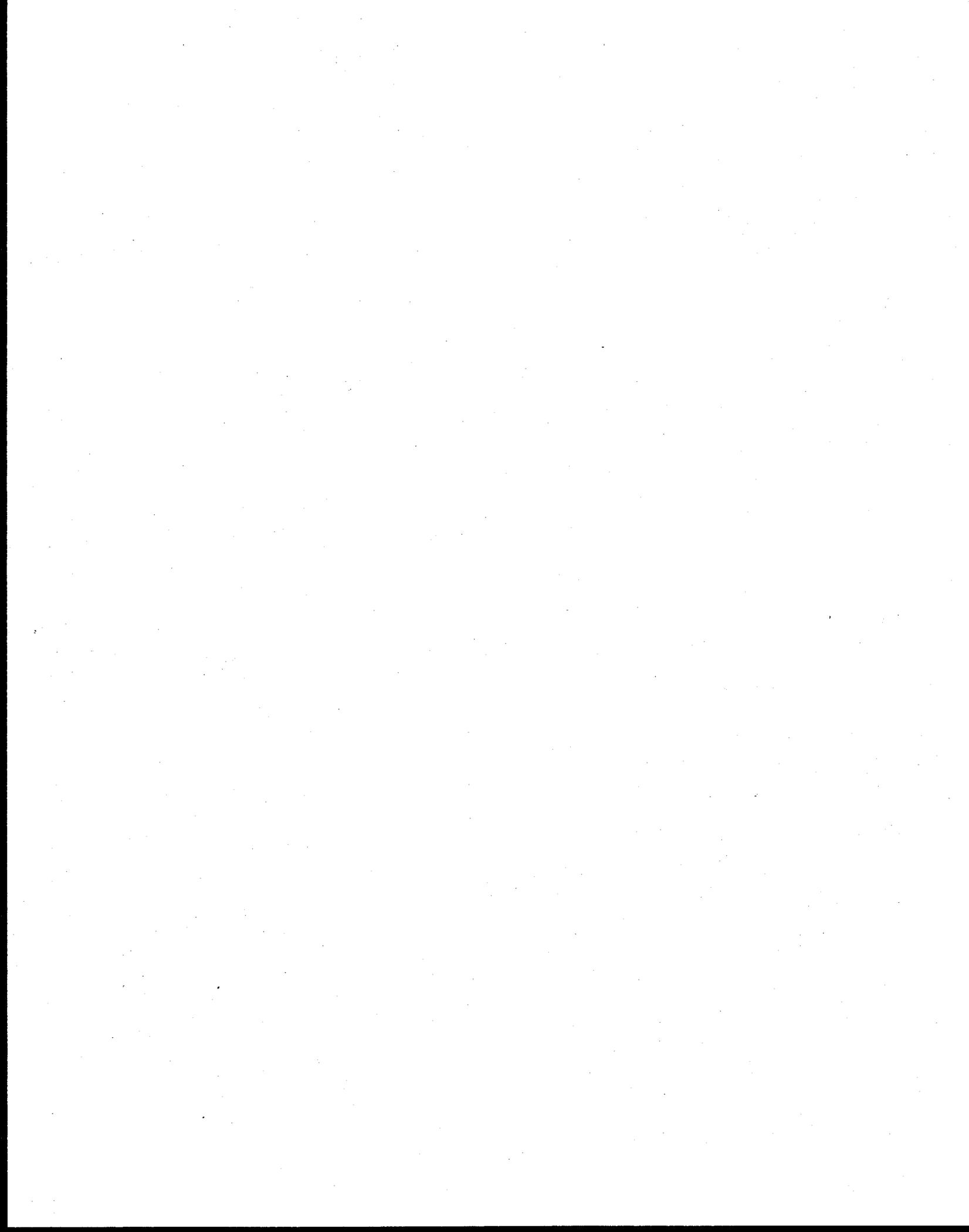
environnemental, pourraient contribuer à accroître le pouvoir prédictif des modèles (e.g., celui proposé par Hare et Tessier [1996], Éqn 2).

Dans le même ordre d'idées, l'étude des facteurs influençant les mécanismes de prise en charge du Cd chez *Chaoborus* mériterait d'être poursuivie et approfondie davantage. Des informations telles, les types de proies consommées par *Chaoborus* dans les lacs, la concentration de métaux dans ces proies, ces dernières identifiées avec une fine résolution taxonomique (i.e., à l'espèce), tout comme des mesures précises d'efficacité d'assimilation (en utilisant des radio-traceurs) et de taux d'ingestion par *Chaoborus* (relatif à ces proies) permettraient d'expliquer encore davantage les différences observées en milieu naturel entre les différentes espèces de *Chaoborus*, les stades larvaires, les lacs et les saisons. Sachant que les communautés planctoniques varient dans l'espace (e.g., lac) et dans le temps (e.g., saisons, années) et que les concentrations en métaux dans les différents taxa ingérés par *Chaoborus* peuvent différer grandement, il apparaît donc important d'acquérir des informations sur le régime alimentaire des différentes espèces de *Chaoborus* et ce, de façon spatiale et temporelle.

Notre étude portant sur l'influence de la température dans l'accumulation du Cd chez *Chaoborus* (Chapitre 9) a levé le voile sur des impacts écotoxicologiques potentiels du réchauffement global planétaire. Cette avenue de recherche mériterait d'être approfondie davantage en étudiant notamment l'influence de la température sur la bioaccumulation des métaux au cours des stades de développement, ce qui pourrait permettre de discerner son effet dans «l'historique» d'accumulation des métaux par les organismes.

De plus, la détermination des niveaux trophiques (à l'aide des isotopes stables de l'azote [France et al. 1996]) des différentes espèces de *Chaoborus* et de ses proies potentielles procurerait sans doute de nouveaux éléments d'explication tant aux niveaux des différences observées entre les espèces dans leur concentration en Cd que sur la position trophique des espèces coexistantes. La connaissance de la position trophique exacte des organismes en milieu naturel contribuerait également à accroître notre compréhension des mouvements des métaux le long des chaînes trophiques.

Enfin, puisque les larves de l'insecte *Chaoborus* régulent leurs concentrations en cuivre et en zinc [Croteau et al. 1998], il importe de poursuivre des recherches visant l'identification d'organismes en mesure de «monitorer» efficacement les niveaux de contamination en Cu et en Zn dans les systèmes lacustres. Le développement d'organismes capables de refléter correctement les teneurs en métaux des sédiments constitue également une avenue de recherche qui mériterait d'être approfondie.



## 6. BIBLIOGRAPHIE

---

- Anderson, R.L., C.T. Walbridge & J.T. Fiandt (1980). Survival et growth of *Tanytarsus dissimilis* (Chironomidae) exposed to copper, cadmium, zinc et lead. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 9: 329-335.
- Aoki, Y., S. Hatakeyama, N. Kobayashi, Y. Sumi, T. Suzuki & K.T. Suzuki (1989). Comparison of cadmium-binding protein induction among mayfly larvae of heavy metal resistant (*Baetis thermicus*) et susceptible species (*B. yoshinensis* et *B. sahoensis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 93C: 345-347.
- Bewers, J.M., P.J. Barry & D.J. MacGregor (1987). Distribution et cycling of cadmium in the environment. In *Cadmium in the aquatic environment*. J.O. Nriagu & J.B. Sprague [Eds.], Wiley, New York, pp 1-18.
- Borgmann, U. (1983). Metal speciation et toxicity of free metal ions to aquatic biota. In *Aquatic Toxicology*. J.O. Nriagu [Ed.], Wiley, New York, pp 47-72.
- Borkent, A. (1981). The distribution et habitat preferences of the Chaoboridae (Culicomorpha: Diptera) of the Holarctic region. *Can. J. Zool.*, 59: 122-133.
- Campbell, P.G.C. (1995). Interactions between trace metals et aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In *Metal Speciation et Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 45-102.
- Campbell, P.G.C. & P.M. Stokes (1985). Acidification et toxicity of metals to aquatic biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 2034-2049.
- Carter, J.C.H., & J.K. Kwik (1977). Instar succession, vertical distribution, et interspecific competition among four species of *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 34: 113-118.
- Carter, J.C.H., M.J. Dadswell, J.C. Roff & W.G. Sprules (1980). Distribution et zoogeography of planktonic crustaceans et dipterans in glaciated eastern North America. *Can. J. Zool.*, 58: 1355-1387.
- Chen, C.Y. & C.L. Folt (2000). Bioaccumulation et diminution of As et Pb in a freshwater food web. *Environ. Sci. Technol.* 34: 3878-3884.
- Chen, C.Y., R.S. Stemberger, B. Klaue, J.D. Blum, P.C. Pickhardt, & C.L. Folt (2000). Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnol. Oceanogr.* 45: 1525-1536.
- Conroy, N., K. Hawley, W. Keller & C. Lafrance (1975). Influences of the atmosphere on lakes in the Sudbury area. Proc. First Spec. Symp. Atmos. Contrib. Chem. Lake Waters. *J. Int. Assoc. Great Lakes Res.*, 2: 146-165.
- Couillard, Y., P.G.C., Campbell & A. Tessier (1993). Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 299-313.
- Craig, A., L. Hare, & A. Tessier (1999). Experimental evidence for cadmium uptake via calcium channels in the aquatic insect *Chironomus staegeri*. *Aquat. Toxicol.*, 44: 255-262.

- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier (1998). Testing et refining a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 1348-1353.
- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier (2001). Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 58: 1737-1746.
- Croteau, M.-N., L. Hare & A. Tessier (2002a). Influence of temperature on Cd accumulation by species of the biomonitor *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* 47: 505-514.
- Croteau, M.-N., L. Hare, P.G.C. Campbell & Y. Couillard (2002b). Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*; Occurrence et relationship to ambient metal concentrations in lakes. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 737-741.
- Dawidowicz, P., J. Pijanowska & K. Ciechomski (1990). Vertical migration of *Chaoborus* larvae is induced by the presence of fish. *Limnol. Oceanogr.*, 35: 1631-1637.
- Deonier, C.C. (1943) Biology of the immature stages of the clear lake gnat. *Annals Entomol. Soc. Amer.*, 36: 383-388.
- Di Toro, D.M., C.D. Kavvas, R. Mathew, P.R. Paquin & R.P. Winfield (2001). The persistence et availability of metals in aquatic environments. *International Council on Metals et the Environment*, Ottawa, 67pp.
- Engel, D.W. & G. Roesijadi (1987). Metallothioneins: a monitoring tool. In *Pollution physiology of estuarine organisms*. Vernberg, W.B., Calabrese, A., Thurberg, F.P. & F.J. Vernberg [Eds], Univ. South Carolina Press. Belle W. Baruch Libr. Mar. Sci. No.17: 421-438.
- Evans, R.D. & D.C. Lasenby (1993). Bioconcentration of cadmium in aquatic invertebrates: Geochemical, physiological et behavioural influences. *Water Poll. Res. J. Canada.* 28: 237-251
- Fedorenko, A.Y. (1975). Feeding characteristics et predation impact of *Chaoborus* (Diptera, Chaoboridae) larvae in a small lake. *Limnol. Oceanogr.*, 20: 250-258.
- Fedorenko, A.Y. & M. C. Swift (1972). Comparative biology of *Chaoborus americanus* et *Chaoborus trivittatus* in Eunice lake, British Columbia. *Limnol. Oceanogr.*, 17: 721-730.
- Fedorenko, A.Y. & M. C. Swift (1973). A rapid method for the analysis of the crop contents of *Chaoborus* larvae. *Limnol. Oceanogr.*, 18: 795-798.
- Fisher, N.S. & J.R. Reinfelder (1995). The trophic transfer of metals in marine systems. In *Metal Speciation et Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 363-406.
- France, R., K. Westcott, P. delGiorgio, G. Klein & J. Kalff (1996). Vertical foodweb structure of freshwater zooplankton assemblages estimated by stable nitrogen isotopes. *Res. Popul. Ecol.*, 38: 283-287.
- Gerhardt, A. (1990). Effects of subacute doses of cadmium on pH-stressed *Leptophlebia marginata* (L.) et *Baetis rhodani* Pictet (Insecta: Ephemeroptera). *Environ. Pollut.*, 67: 29-42.

- Giesy, J.P., J.W. Bowling & H. J. Kania (1980). Cadmium et zinc accumulation in freshwater crayfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9: 683-697.
- Giguère, L.A. (1981). Food assimilation efficiency as a function of temperature et meal size in larvae of *Chaoborus trivittatus* (Diptera: Chaoboridae). *J. Animal Ecol.*, 50: 103-109.
- Giguère, L.A. (1986). The estimation of crop evacuation rates in *Chaoborus* larvae (Diptera: Chaoboridae) using natural prey. *Fresh. Biol.*, 16: 557-560.
- Groulx, G.R. & D.C. Lasenby (1992). Temporal et spatial variation in the amount of cadmium in the phantom midge larvae (*Chaoborus* spp.). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 23: 370-374.
- Haney, J.F., A. Craggy, K. Kimball & F. Weeks (1990). Light control of evening vertical migration by *Chaoborus punctipennis* larvae. *Limnol. Oceanogr.* 35: 1068-1078
- Hare, L. (1992). Aquatic insects et trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, et toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 22: 327-369.
- Hare, L. & J.C.H. Carter (1987). Zooplankton populations et the diets of three *Chaoborus* species (Diptera, Chaoboridae) in a tropical lake. *Fresh. Biol.*, 17: 275-290.
- Hare, L. & P.G.C. Campbell. (1992). Temporal variations of trace metals in aquatic insects. *Fresh. Biol.*, 27: 13-27.
- Hare, L., Carignan, R. & M.A. Huerta-Diaz (1994). A field study of metal toxicity et accumulation by benthic invertebrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1653-1668.
- Hare, L. & A. Tessier (1996). Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature*, 380: 430-432.
- Hare, L. & A. Tessier (1998). Predicting trace metal concentrations in an aquatic insect with the free-ion activity model. *Limnol. Oceanogr.*, 43: 1850-1859.
- Hare, L. A. Tessier & L. Warren (2001). Cadmium accumulation by invertebrates living at the sediment-water interface. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 880-889.
- Hatakeyama, S. & M. Yasuno (1987). Chronic effects of Cd on the reproduction of the guppy (*Poecilia reticulata*) through Cd-accumulated midge larvae (*Chironomus yoshimatsui*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 14: 191-207.
- Hinkle, P.M., P.A. Kinsella & K.C. Osterhoudt (1987). Cadmium uptake et toxicity via voltage-sensitive calcium channels. *J. Biol. Chem.*, 262: 16333-16337.
- Hopkins, S.P. (1989). Metals in terrestrial invertebrates at the cellular level. In *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Science, London, pp. 217-280.
- Keller, W. (1992). Introduction et overview to aquatic acidification studies in the Sudbury Ontario, Canada, area. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49 (Suppl. 1): 3-7.
- Keller, W., J.R. Pitblado & J. Carbone (1992). Chemical responses of acidic lakes in the Sudbury, Ontario, area to reduced smelter emissions, 1981-89. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49(Suppl. 1): 25-32.

- Kosalwat, P. & A.W. Knight (1987a). Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge *Chironomus decorus*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 16: 283-290.
- Kosalwat, P. & A.W. Knight (1987b). Acute toxicity of aqueous et substrate-bound copper to the midge, *Chironomus decorus*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 16: 275-282.
- Lamontagne, S., Donald, D.B. & D.W. Schindler (1994). The distribution of four *Chaoborus* species (Diptera:Chaoboridae) along an elevation gradient in Canadian Rocky Mountain lakes. *Can. J. Zool.*, 72: 1531-1537.
- Langston, W.J. & S.K. Spence (1995). Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In *Metal Speciation et Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 407-478.
- LaRow, E.J. & G.R. Marzolf (1970). Behavioral differences between 3rd et 4th instars of *Chaoborus punctipennis* Say. *Amer. Midland Naturalist.*, 84: 428-436.
- Lawrence, S.G. & M.H. Holoka (1987). Effects of low concentrations of cadmium on the crustacean zooplankton community of an artificially acidified lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:163-172.
- Lazerte, B., D. Evans & P. Grauds (1989). Deposition et transport of trace metals in an acidified catchment of central Ontario. *Sci. Total Environ.*, 87/88: 209-221.
- Lewis, W.M. (1977). Feeding selectivity of a tropical *Chaoborus* population. *Fresh. Biol.*, 7: 311-325.
- Lucotte, M., Schetagne, R., Thérien, N., Langlois, C. & A. Tremblay (1999). *Mercury in the biogeochemicle cycle*. Springer, Berlin, 334p.
- Luoma, S.N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms: a review. *Sci. Total Environ.*, 28: 1-22.
- Luoma, S.N. & G.W. Bryan (1982). A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* et the polychaete *Nereis diversicolor*. *Estuarine, Coastal et Shelf Sci.*, 15: 95-108.
- Malley, D.F. (1996). Cadmium whole-lake experiment at the Experimental Lakes Area: an anachronism? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1862-1870.
- Malley, D.F., S.G. Lawrence, M.A. MacIver & W.J. Findlay (1989). Range of variation in estimates of dry weight for planktonic Crustacean et Rotifera from temperate North American lakes. *Can. Techn. Report Fish. Aquat. Sci.* 1666: 49p.
- Mason, A.Z. & K.D. Jenkins (1995). Metal detoxification in aquatic organisms. In *Metal Speciation et Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 479-608.
- Moore, M.V. (1988). Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. *Fresh. Biol.*, 19: 249-268. .
- Moore, M.V., Yan, N.D. & T. Pawson (1994). Omnivory of the larval phantom midge (*Chaoborus* spp.) et its potential significance for freshwater planktonic food webs. *Can. J. Zool.*, 72: 2055-2065.
- Morel, F.M.M. (1983). *Principles of aquatic chemistry*. John Wiley & Sons. New York, 446p.

- Munger, C. & L. Hare (1997). Relative importance of water et food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): implications for predicting cadmium bioaccumulation in nature. *Environ. Sci. Technol.*, 31(3): 891-895.
- Munger, C., L. Hare & A. Tessier (1999). Cadmium sources et exchange rates for *Chaoborus* larvae in nature. *Limnol. Oceanogr.* 44: 1763-1771.
- Munger, C. & L. Hare (2000). Influence of ingestion rate et food types on cadmium accumulation by the aquatic insect *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 57: 327-332.
- Nriagu, J.O. (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature*, 338: 47-49.
- Nriagu, J.O. & J.M. Pacyna (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water et soils by trace metals. *Nature*, 333: 134-139.
- Pace, M.L. (2001). Prediction et the aquatic sciences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 58: 63-72.
- Pacyna, J.M., M.T. Scholtz & Y.-F. Li (1995). Global budget of trace metal sources. *Environ. Rev.*, 3: 145-159.
- Parma, S. (1971). The morphology of the larval instars of *Chaoborus flavicans* (Meigen, 1818) (Diptera, Chaoboridae). *Zool. Museum Univ. Amsterdam*. 18: 173-181.
- Phillips, D.J.H. & P.S. Rainbow (1993). The early use of biomonitors. In *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*. J. Cairns & R.M. Harrison [Eds.], Elsevier Applied Science, London, pp 65-78.
- Playle, R.C., D.G. Dixon & K. Burnison (1993). Copper et cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon et synthetic ligands. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 2667-2677.
- Pope, G.F., J.C.H. Carter & G. Power (1973). The influence of fish on the distribution of *Chaoborus* spp. (Diptera) et density of larvae in the Matamek River system, Québec. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 102(4): 707-714.
- Price, N.M. & F.M.M. Morel (1990). Cadmium et cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature*, 344: 658-660.
- Ratte, H.T. (1985). Temperature et insect development. In *Environmental Physiology et Biochemistry of Insects*. Hoffmann, K.H. [Ed.], Springer-Verlag, Berlin, pp. 33-66.
- Riessen, H.P., O'Brien, W.J. & B. Loveless (1984). An analysis of the components of *Chaoborus* predation on zooplankton et the calculation of relative prey vulnerabilities. *Ecology*. 65: 514-522.
- Riessen, H.P., Sommerville, J.W., Chiappari, C. & D. Gustafson (1988). *Chaoborus* predation, prey vulnerability, et their effect in zooplankton communities. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1912-1920.
- Robinson, W.R., R.H. Peters & J. Zimmermann (1983). The effects of body size et temperature on metabolic rate of organisms. *Can. J. Zool.*, 61: 281-288.
- Roesijadi, G. (1992). Metallothioneins in metal regulation et toxicity in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 22: 81-114.

- Sardella, L.C. & J.C.H. Carter (1983). Factors contributing to coexistence of *Chaoborus flavicans* et *C. punctipennis* (Diptera, Chaoboridae) in a small meromictic lake. *Hydrobiologia*, 107: 155-164.
- Schulz-Baldes, M. (1977). Lead transport in the common mussel *Mytilus edulis*. *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environ.* NRCC, pp.211-218.
- Saether, O.A. (1972). In *Das Zooplankton der Binnengewässer*; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung: Stuttgart, Germany, pp 257-304.
- Sigg, L. (1994). Regulation of trace element in lakes: the role of sedimentation. In *Chemical et biological regulation of aquatic ecosystems*. Buffle, J. & R.R. DeVitre [Eds], Lewis, Chelsea, pp 175-195.
- Simkiss, K. & M.G. Taylor (1989). Metal fluxes across the membranes of aquatic organisms. *Crit. Rev. Aquat. Sci.*, 1: 173-188.
- Simkiss, K. & M.G. Taylor (1995). Transport of metals across membranes. In *Metal Speciation et Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New York, pp 1-44.
- Smith, D.G. (2001). *Pennak's freshwater invertebrates of the United States: porifera to crustacea*. 4<sup>th</sup> edition, Wiley, New York, 638p.
- Spacie, A. & J.L. Hamelink (1985). Bioaccumulation. In *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Rand, G.M. & S.R. Petrocelli [Eds.], Hemisphere Publ. Corp., New York, pp. 495-525.
- Stephenson M. & G.L. Mackie (1989). A laboratory study of the effects of waterborne cadmium, calcium, et carbonate cocentrations on cadmium concentrations in *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda). *Aquat. Toxicol.*, 15: 53-62.
- Sunda, W.G., D.W. Engel & R.M. Thuotte (1978). Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: Importance of free cadmium ion. *Environ. Sci. Technol.*, 12: 409-413.
- Swift, M.C. (1976). Energetics of vertical migration in *Chaoborus trivittatus* larvae. *Ecology*, 57: 900-914.
- Swift, M.C. & A.Y. Fedorenko (1975). Some aspects of prey capture by *Chaoborus* larvae. *Limnol. Oceanogr.*, 20: 418-425.
- Swuste, H.F.J., R. Cremer, & S. Parma (1973). Selective predation by larvae of *Chaoborus flavicans* (Diptera, Chaoboridae). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 18: 1559-1563.
- Tessier, A., J. Buffle & P.G.C. Campbell (1993a). Uptake of trace metals by aquatic organisms. In *Chemical et Biological Regulation of Aquatic Systems*. Buffle, J. & R.R. DeVitre [Eds.], Lewis, Chelsea, pp. 199-232.
- Tessier, A., Y. Couillard, P.G.C. Campbell & J.C. Auclair (1993b). Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments et Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 1-17.

- Timmermans, K.R., E. Spijkerman, M. Tonkes, & H. Govers (1992). Cadmium et zinc uptake by two species of aquatic invertebrate predators from dietary et aqueous sources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 655-662.
- Tipping, E. (1994). WHAM-A chemical equilibrium model et computer code for waters, sediments et soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Comp. Geosci.*, 20: 973-1023.
- Uutala, A.J. (1990). *Chaoborus* (Diptera: Chaoboridae) mandibles - paleolimnological indicators of the historical status of fish populations in acid-sensitive lakes. *J. Paleolimnol.*, 4: 139-151.
- van Hattum, B., P. de Voogt, L. Bosch, N.M. van Straalen & E.N.G. Joosse (1989). Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous et dietary sources. *Environ. Pollut.*, 62: 129-151.
- van Hattum, B., K.R. Timmermans & H.A. Govers (1991). Abiotic et biotic factors influencing in situ trace metal levels in macroinvertebrates in freshwater ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10: 275-292.
- Visman, V., Mierle, G. & D J. McQueen (1995). Uptake of aqueous methylmercury by larval *Chaoborus americanus*. *Wat. Air Soil Pollut.*, 80: 1007-1010.
- von Ende, C.N. (1979). Fish predation, interspecific predation, et the distribution of two *Chaoborus* species. *Ecology*, 60(1): 119-128.
- von Ende, C.N. (1982). Phenology of four *Chaoborus* species. *Environ. Entomol.* 11: 9-16.
- Waalkes, M.P. (2000). Cadmium carcinogenesis in review. *J. Inorg. Biochem.*, 79: 241-244.
- Wang, W.-X. & N.S. Fisher (1996). Assimilation of trace elements et carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition. *Limnol. Oceanogr.*, 41: 197-207.
- Warren, L.A., A. Tessier & L. Hare (1998). Modelling cadmium accumulation by benthic invertebrates in situ: The relative contributions of sediment et overlying water reservoirs to organism cadmium concentrations. *Limnol. Oceanogr.* 43: 1442-1454.
- Williams, K.A., D.W.J. Green, D. Pascoe & D.E. Gower (1987). Effect of cadmium on oviposition et egg viability in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38: 86-90.
- Winner, R.W. & J.D. Gauss (1986). Relationship between chronic toxicity et bioaccumulation of copper, cadmium et zinc as affected by water hardness et humic acid. *Aquat. Toxicol.*, 8: 149-161.
- Winterhalder, K. (1995). Early history of human activities in the Sudbury area et ecological damage to the landscape. In *Restoration et Recovery of an Industrial Region*. J.M. Gunn [Ed.], Springer-Verlag, New York, pp 17-31.
- Wong, P.T.S. (1987). Toxicity of cadmium to freshwater microorganisms, phytoplankton, et invertebrates. In *Cadmium in the aquatic environment*. J.O. Nriagu & J.B. Sprague [Eds.], Wiley, New York, pp 117-138.

- Wright, D.A. (1977). The effect of calcium on cadmium uptake by the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.*, 67: 163-173.
- Wright, D.A. & P.M. Welbourn (1994). Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological, et toxicological effects on biota. *Environ. Rev.*, 2: 187-214.
- Yan, N.D. & R. Struss (1980). Crustacean zooplankton communities of acidic, metal-contaminated lakes near Sudbury, Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 2282-2293.
- Yan, N.D., G.L. Mackie & P.J. Dillon (1990). Cadmium concentrations of crustacean zooplankton of acidified et nonacidified Canadian shield lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 1367-1372.
- Yan, N. D., W. Keller, H.J. MacIsaac & L.J. Mceachern (1991). Regulation of zooplankton community structure of an acidified lake by *Chaoborus*. *Ecol. Appl.*, 1: 52-65.
- Yeats, P.A. & J.M. Bowers (1987). Evidence for anthropogenic modification of global transport of cadmium. In *Cadmium in the aquatic environment*. Nriagu, J.O. & J.B. Sprague [Eds.], Adv. Environ. Sci. Technol., Wiley, New York, pp. 19-34.

## SECTION II

### ARTICLES SCIENTIFIQUES

#### **Chapitre 7. Relations entre les concentrations de Cd dans le prédateur *Chaoborus* et ses proies**

Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Relating Cd concentrations in the predatory insect *Chaoborus* to those of its prey in nature. *Limnol. Oceanogr.* (soumis)

#### **Chapitre 8. Différences dans l'accumulation de Cd entre les espèces du genre *Chaoborus***

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

#### **Chapitre 9. Influence de la température sur l'accumulation de Cd chez les espèces du biomoniteur *Chaoborus***

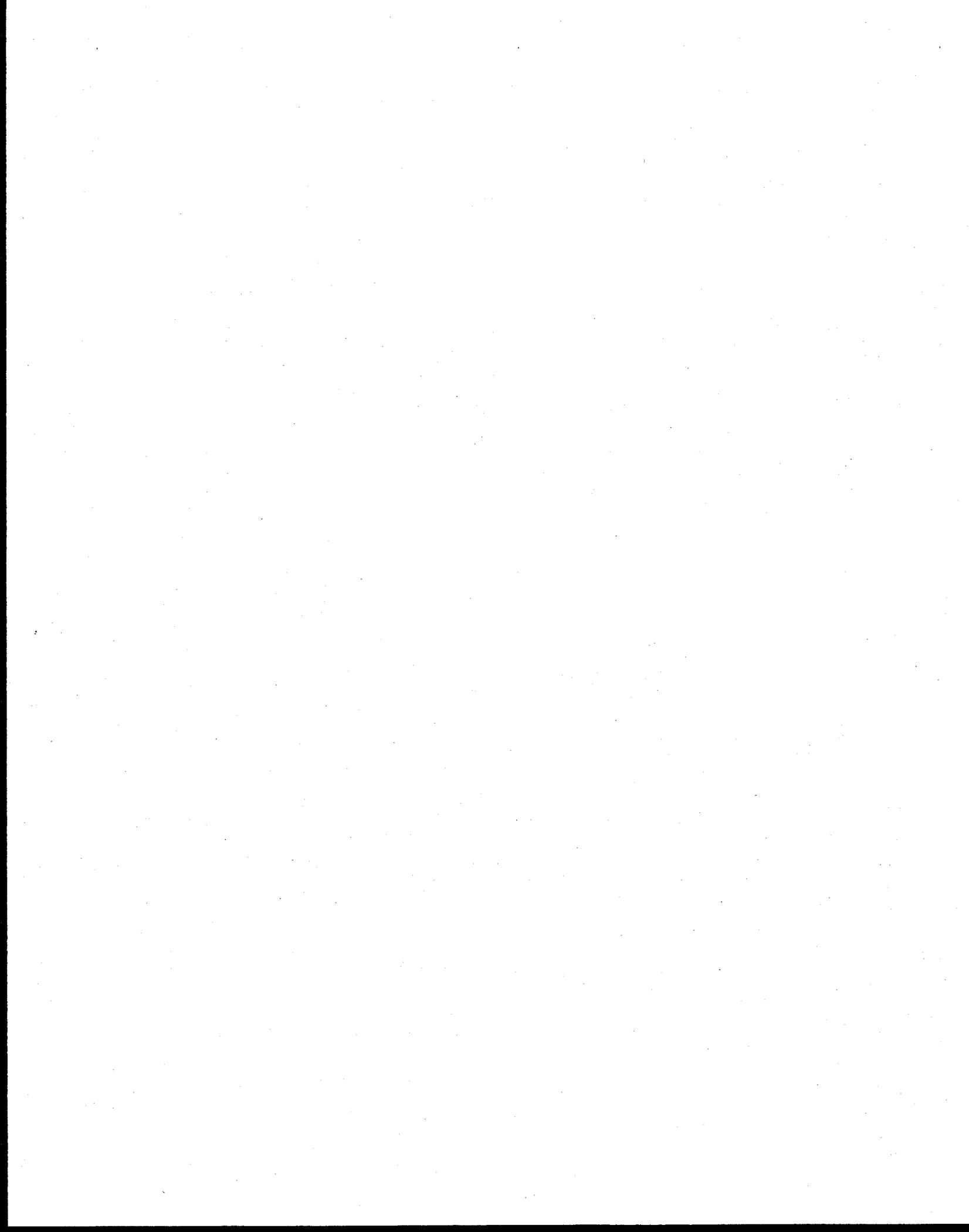
Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Influence of temperature on Cd accumulation by species of the biomonitor *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 505-514.

#### **Chapitre 10. Changements temporels dans les concentrations de Cd chez le biomoniteur *Chaoborus***

Croteau, M.-N., Hare, L. & A. Tessier (2002). Increases in food web cadmium following reductions in atmospheric inputs to some lakes. *Environ. Sci. Technol.* (accepté)

#### **Chapitre 11. La métallothionéine chez le biomoniteur *Chaoborus***

Croteau, M.-N., Hare, L., Campbell, P.G.C. & Y. Couillard (2002). Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*; occurrence et relationship to ambient metal concentrations in lakes. *Environ. Toxicol. Chem.* **21**: 737-741.



## CHAPITRE 7.

---

### **Relating Cd concentrations in the predatory insect *Chaoborus* to those of its prey in nature**

*Marie-Noële Croteau, Landis Hare<sup>\*</sup>, and André Tessier*

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

Submitted to Limnology and Oceanography as an article

---

\* To whom correspondence should be addressed; fax: (418) 654-2600; e-mail:  
landis@inrs-eau.quebec.ca

## Résumé

Puisque la nourriture constitue la voie d'entrée majeure du Cd chez les larves de l'insecte prédateur *Chaoborus*, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les concentrations de Cd chez ce biomoniteur devaient être directement reliées aux concentrations en Cd de ses proies, les organismes zooplanctoniques. La vérification de cette hypothèse a nécessité l'échantillonnage et le dosage du Cd dans *Chaoborus* et ses proies potentielles provenant d'une vaste série de lacs du Bouclier Canadien. Nos résultats ont montré que les concentrations de Cd mesurées dans ce prédateur n'étaient pas reliées aux concentrations de Cd retrouvées dans des assemblages de proies fractionnées ou non en regard de la taille des organismes présents. Les concentrations de Cd dans *Chaoborus* étaient par ailleurs significativement corrélées aux concentrations de Cd mesurées chez deux groupes majeurs de proies, i.e., les cladocères et les copépodes. En intégrant à un modèle de bioaccumulation théorique nos mesures de Cd dans les taxa dominant de la diète de *Chaoborus*, nous avons prédit avec succès la gamme des concentrations en Cd retrouvée chez ce prédateur en milieu naturel. Conformément au modèle de l'ion libre, nous avons de plus démontré que les concentrations en Cd des proies de *Chaoborus* étaient significativement reliées aux concentrations en ions libre de Cd du milieu. Nos résultats suggèrent qu'une fine résolution taxonomique des proies consommées par un prédateur, combinée à une connaissance approfondie des relations trophiques qui relient les organismes planctoniques entre eux, favoriseraient le développement de relations prédictives plus performantes. Il serait alors possible de relier efficacement les concentrations de métal retrouvées chez des organismes de niveaux trophiques divers et parvenir à les corréler aux concentrations de métal retrouvées dans le milieu aqueux.

## Abstract

Because the predatory insect *Chaoborus* takes up most of its Cd from prey, we tested the hypothesis that Cd concentrations in this widespread biomonitor are directly related to those in its planktonic prey. To achieve this goal, we measured Cd in various species of *Chaoborus* and in plankton collected from a large number of lakes in eastern Canada situated along a metal and pH gradient. Cadmium concentrations in the predator were not related to those in either whole bulk or size fractionated plankton samples. However, they were significantly related to those in two of its major prey groups, cladocerans and copepods. Using a mechanistic Cd bioaccumulation model, along with measurements of Cd in these major prey groups, we accurately predicted Cd concentrations in this predator in nature. We also show that Cd concentrations in copepods and cladocerans can be related to those in lakewater using the free ion activity model. Overall, our data suggest that better taxonomic resolution, along with improved understanding of trophic relationships, would contribute to developing stronger predictive relationships between metal concentrations in planktonic organisms at adjacent trophic levels as well as between metal concentrations in these animals and those in water.

## Introduction

Industrial activities have increased the entry of trace metals into aquatic environments (Pacyna et al. 1995). To improve our ability to predict the biological impact of these pollutants and to conduct meaningful ecological risk assessments for aquatic communities, we need to better understand the accumulation of metals by organisms (Pace 2001). In aquatic systems, metals are accumulated by primary producers (Phillips 1977; St.-Cyr and Campbell 1994; Luoma et al. 1998; Wang and Dei 1999) then transferred in part to animals at higher trophic levels (Fisher and Reinfelder 1995). There is a growing acknowledgement that the diet, as opposed to uptake from water, is an important route of metal accumulation for animals (Schlekat et al. 2001). Because of this fact, risk assessments that do not consider dietary metal exposure can underestimate tissue concentrations and resulting effects on target species in nature (Chapman and Wang 2000). A consequence of dietary metal uptake is that metal concentrations show trends along food chains. Thus concentrations of organo-metals such as Hg and Se are reported to increase with increasing trophic level (Rasmussen et al. 1990; Luoma et al. 1992; Cabana et al. 1994; Chen and Folt 2000), whereas the results of several laboratory studies suggest that concentrations of the inorganic forms of metals such as Cd tend to decrease along freshwater food chains (Giesy et al. 1980; Hatakeyama and Yasuno 1987; van Hattum et al. 1989; Timmermans et al. 1992; Croteau et al. 2001). In the field, trends in trace metal concentrations along planktonic food chains are difficult to discern because feeding relationships between organisms at various trophic levels are usually not known (Hare 1992) and because of the difficulty in obtaining sufficient biomass for measuring metals in small-sized organisms such as copepods and cladocerans. Because of this latter limitation, most investigators measure metals in bulk plankton samples (Chen and Folt 2000; Chen et al. 2000). However, bulk plankton includes a wide range of animal types, sizes and trophic levels that could obscure trends in metal concentrations along food chains (Watras and Bloom 1992).

We set out to determine if Cd concentrations in the predator *Chaoborus* are related to those in zooplankton, the major source of Cd for this insect (Munger and Hare 1997; Munger et al. 1999). To our knowledge, there have been no previous field studies that have attempted to relate Cd concentrations in a planktonic predator to those in its prey. We began our

investigations at a gross level by comparing Cd concentrations in bulk plankton and *Chaoborus* larvae that we collected from a large number of lakes situated along an environmental Cd gradient. We then refined our comparison by fractionating plankton samples to obtain size fractions of zooplankton that this gape-limited predator (Hare and Carter 1987) is able to ingest. Lastly, we measured Cd in two taxonomic groups known to be eaten by *Chaoborus* (cladocerans and copepods, Moore 1988) for comparison with predator Cd concentrations. In addition to this empirical approach, we also used a mechanistic Cd accumulation model (Croteau et al. 2001; 2002) to determine if it could successfully predict Cd concentrations in the predator from those measured in zooplankton. We also tested a theoretically based model, the free ion activity model (FIAM, Morel and Hering 1993), to determine if it was able to relate Cd concentrations in zooplankton to those in water.

## Methods

*Collection of field samples* — We collected invertebrates and water between 1996 and 1998 from a series of lakes located on the Canadian Shield in the mining areas of Sudbury (Ontario) and Rouyn-Noranda (Québec) (Table 1). Samples were collected only in the spring (May-June) to minimize confounding seasonal changes in *Chaoborus* Cd concentrations among sites (Hare and Campbell 1992).

*Chaoborus* larvae were collected after sunset by hauling a 250- $\mu$ m plankton net horizontally in the water column of each lake. We transported live animals to the laboratory in plastic bags filled with lakewater. *Chaoborus* larvae were identified to species using the keys in Saether (1972) and final (fourth) instar larvae were selected on the basis of head capsule lengths as given in Larow and Marzolf (1970, *C. punctipennis*), Fedorenko and Swift (1978, *C. americanus*) and Parma (1971, *C. flavicans*). We held larvae in their lakewater of origin for 12-24 h to eliminate their gut contents. Where numbers permitted, we placed five replicate samples of 3-15 *Chaoborus* larvae (single individuals from Lake Hélène) on pieces of pre-weighed acid-washed Teflon sheeting that were frozen until Cd analysis.

We collected other planktonic organisms just before sunset by hauling a 64- $\mu$ m net horizontally in the water column near the centre of each lake (Tables 2 and 3). The path of the net covered the full height of the water column so as to provide a composite sample of plankton from all depths. Samples of this bulk plankton were placed in plastic bags with lakewater. Remaining bulk plankton was gently poured over a series of acid-washed nylon sieves of four sizes, that is, 1000, 500, 300 and 64  $\mu$ m mesh aperture; animals (mainly *Holopedium gibberum*) and debris retained by the 1000  $\mu$ m sieve were discarded. The contents of each sieve were gently rinsed with filtered (64  $\mu$ m) lake water into plastic bags for transport to the laboratory. We placed 2 to 6 sub-samples from both the whole bulk and the size-fractionated plankton samples (0.1 - 7 mg dry wet) on pieces of pre-weighed acid-washed Teflon sheeting that were frozen until Cd analysis. Remaining organisms were preserved in a 5% formalin solution for later identification and counting of crustacean zooplankters. For 9 of our study lakes (Table 3), we removed copepods and cladocerans under a microscope from a bulk plankton sample. Where numbers permitted, we placed 3 replicate samples of 100-150 organisms of each taxon on pre-weighed acid-washed Teflon sheeting that was frozen until Cd analysis.

We collected water samples in 2-3 diffusion samplers (Croteau et al. 1998) that were suspended for 3 d in the epilimnion of each lake. Samples for organic and inorganic carbon, major anions ( $\text{SO}_4$  and Cl) and cations (Ca, Mg, Na and K) as well as for Cd were removed following the procedure and materials described in Croteau et al. (1998). On installation and retrieval dates, we measured the pH (Hanna instruments, Microprocessor model HI9024/HI9025) in water samples collected with a van Dorn bottle at the depth of the diffusion samplers.

*Analyses* — To minimize inadvertent trace metal contamination, we soaked all labware and sampling materials in 15% nitric acid and rinsed them in ultrapure water prior to use.

We measured total dissolved Cd concentrations by flameless atomic absorption spectrophotometry (AAS) (THGA graphite tube atomiser, Perkin-Elmer model SIMAA 6000). Certified reference riverine water samples (National Research Council of Canada;

SLRS-4, 1643d) were analyzed during each analytical run and measured trace metal concentrations were within the certified range. We measured major cations by flame AAS (Varian model Spectra AA-20), major anions by ion chromatography (Dionex AutoIon, system DX300), dissolved inorganic carbon by gas chromatography (Hewlett-Packard GC 5890 Series 2) and dissolved organic carbon using a total organic carbon analyser (Shimadzu, TOC-5000A). Concentrations of the free Cd ion,  $[Cd^{2+}]$ , were estimated using the above measurements and the Windermere Humic Aqueous Model (WHAM; Tipping 1994) with the assumptions discussed in Croteau et al. (1998).

*Chaoborus* larvae and zooplankton samples were freeze-dried (FTS Systems<sup>TM</sup>), weighed on a micro-balance (Mettler ME30) and digested in concentrated nitric acid ( $100 \mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.; Aristar grade). For invertebrate samples collected in 1996 and 1997, we carried out digestions in thick-walled, screw-cap Teflon vials in an autoclave at  $120^\circ\text{C}$  for 3 h. Cooled digested samples were diluted to volume with ultrapure water. For samples collected in 1998, we conducted digestions at room temperature in 4-mL HDPE vials for 7 d. Hydrogen peroxide ( $40 \mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.) was added 24 h prior to final dilution with ultrapure water ( $760 \mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.). We submitted samples of similar weight of a certified reference material (lobster hepatopancreas, TORT-1, NRCC) to the same digestion procedure during each run. Cadmium concentrations in animals were analyzed by flameless AAS (Varian Spectra AA-30); Cd concentrations measured in TORT-1 were within the certified range and the recovery of Cd in spiked samples was within 10% of the amount added.

## Results and discussion

*Relating Cd measurements in Chaoborus to those in its prey* — *Chaoborus* larvae are reported to take up Cd mainly from the zooplankton that they consume as prey (Munger and Hare 1997; Munger et al. 1999). Thus we might expect that Cd concentrations in this predator,  $[Cd]_{\text{Chaoborus}}$ , would be directly related to those of its prey,  $[Cd]_{\text{zooplankton}}$ , that is,

$$[Cd]_{\text{Chaoborus}} = F_{\text{Chaob.-zoopl.}} [Cd]_{\text{zooplankton}} \quad (1)$$

where  $F_{\text{Chaob.-zoopl.}}$  is a proportionality constant.

We first tested equation 1 with our data set comprising measurements of Cd in *Chaoborus* larvae and in bulk plankton from 23 lakes (Table 2). There were no significant relationships ( $P > 0.05$ ) between Cd concentrations in bulk plankton and those in *Chaoborus* larvae, regardless of whether data for the predator were pooled at the generic level or treated on a species by species basis (Fig. 1A). The relationship remained non-significant even if we excluded from our data set the high Cd values for plankton from Lakes Marlon and Surimeau (Fig. 1A, Table 2). This lack of a relationship between Cd concentrations in the predator and in bulk samples of prey does not imply that equation 1 is invalid, but is more likely a consequence of the fact that the predator does not consume all sizes and types of prey in bulk plankton.

Because *Chaoborus* larvae are limited by the gape of their mouth to prey below a certain size (Hare and Carter 1987), we refined our investigation by fractionating bulk plankton samples into three size classes. The largest size fraction (500-1000  $\mu\text{m}$ ) would be unavailable to fourth instars of our small-sized study species, *C. punctipennis* and *C. albatrus* (mouth gapes  $\approx 450$   $\mu\text{m}$ , Moore 1988) and available only in part to the large-sized species *C. flavicans* (mouth gape  $\approx 630$   $\mu\text{m}$ , Stenson 1980) and *C. americanus* (mouth gape  $\approx 700$   $\mu\text{m}$ , Fedorenko 1975). Prey in the two smaller size fractions (300-500 and 64-300  $\mu\text{m}$ ) should be available to all of these *Chaoborus* species. Again, there were no significant relationships ( $P > 0.05$ ) between Cd concentrations in any of the plankton size fractions and those of *Chaoborus* at either the genus or the species level (Fig. 1B-D). Trends remained non-significant even when the high values for plankton from Lakes Marlon and Surimeau were excluded. These data suggest that measurements of metal concentrations in bulk plankton samples would be of limited use in predicting predator metal concentrations or in understanding metal trophic transfer within lake planktonic communities.

Because *Chaoborus* larvae eat prey individually, and thus could be elective as to the type of prey they consume (Deonier 1943; Swüste et al. 1973; Lewis 1977), we compared Cd concentrations in this predator to those in two of its major prey groups - cladocerans and copepods (Moore 1988). Cadmium concentrations in both of these prey types were directly related ( $P < 0.05$ ) to Cd concentrations in *Chaoborus* larvae (Fig. 2A-B). These

relationships depend on high values in animals from Lake Marlon (Fig. 2A-B, Table 3), which are in turn a consequence of the high Cd<sup>2+</sup> concentrations in this circum-neutral lake (Fig. 2C-D). Significant relationships between Cd concentrations in the predator and individual prey types, as opposed to the lack of relationships with bulk plankton samples, suggest that discriminating among prey types would facilitate the prediction of predator metal concentrations, as described in equation 1. These data also suggest that risks to consumers from dietary metal exposure should be evaluated on the basis of adequately identified food items. We do not suggest limiting taxonomic discrimination to large groupings such as "copepods"; finer identifications could be necessary. For example, data from one of our study lakes (Caron) show that Cd concentrations (means  $\pm$  95% CI in  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) can differ substantially between large-sized calanoid copepods such as *Limnocalanus macrurus* ( $2.9 \pm 0.1$ ) that are too large to be eaten by *Chaoborus* and small-sized calanoids such as *Diaptomus* ( $5.5 \pm 1.0$ ) that are known to be consumed by this predatory insect.

We also used our Cd data to test the supposition that plankton size fractions represent different trophic levels, with increasing animal size being equated to increasing trophic level (Chen and Folt 2000; Chen et al. 2000). If this were the case, then we would expect that Cd concentrations should decline with increasing animal size because concentrations of this metal decrease with increasing trophic level (Giesy et al. 1980; Hatakeyama and Yasuno 1987; van Hattum et al. 1989; Timmermans et al. 1992; Croteau et al. 2001). Our data do not support this idea because Cd concentrations in the smallest size fraction were significantly lower ( $P < 0.05$ ) than those in the two larger size fractions in 12 of 17 lakes from which we obtained all size fractions (Table 2). Knowledge of feeding habits would also argue against such a trend; the widespread micro-crustacean *Daphnia*, although mainly herbivorous, is larger than most omnivorous planktonic micro-crustaceans (Dodson and Frey 1992). To unambiguously demonstrate trophic trends in metal concentrations, we suggest using measurements of stable N-isotope ratios to compare the relative trophic heights of purported food chain links (France et al. 1996).

*Predicting Cd concentrations in Chaoborus from those in plankton using a bioaccumulation mode I*— We used our measurements of Cd in plankton to predict Cd in

*Chaoborus* larvae using a one compartment bioaccumulation model that takes into account Cd uptake from food, Cd efflux from larvae and Cd dilution due to insect growth (Croteau et al. 2001; 2002). According to the model, steady state Cd concentrations in the predator,  $[Cd_{Chaoborus}]_{ss}$ , can be predicted from Cd concentrations in its planktonic food,  $[Cd]_{Food}$ , given temperature-specific values for the efficiency with which the predator assimilates this metal (AE), the rate at which it ingests its prey (IR), as well as constants for the rate of Cd loss ( $k_e$ ) and larval growth ( $k_g$ ), that is,

$$[Cd_{Chaoborus}]_{ss} = \frac{AE \times IR \times [Cd_{Food}]}{k_e + k_g} \quad (2)$$

Using values of AE, IR,  $k_e$  and  $k_g$  estimated for *Chaoborus punctipennis* along with our values for Cd in potential prey from each lake (based on mean Cd concentrations for copepods and cladocerans weighted for their relative abundance in the size fraction available to the predator (64-300  $\mu m$ ) Table 3), we predicted Cd concentrations in this predator for the extremes of temperature that it is likely to encounter in nature (5 and 22 °C). We then compared these predictions with our measurements of predator Cd in each lake (Fig. 3). Because Cd concentrations in this predator are generally inferior to those of its prey (Croteau et al. 2001; 2002), we excluded data for two lakes (Bousquet and Joannès) in which predator Cd concentrations exceeded those measured in planktonic crustaceans (Table 3). Measured predator Cd values fell close to or within model predictions for most lakes (Fig. 3), suggesting that the model can be used as a gross tool to predict Cd concentrations in *C. punctipennis* from those in its crustacean prey.

*Relating Cd measurements in zooplankton to those in lakewater* — Several studies have shown that Cd concentrations in *Chaoborus* larvae can be directly related to those of the free Cd ion,  $[Cd^{2+}]$ , provided that competition between  $Cd^{2+}$  and  $H^+$  at biological uptake sites is taken into account (Croteau et al. 1998; Hare and Tessier 1996; 1998). Because *Chaoborus* larvae take up most of their Cd from food (Munger and Hare 1997; Munger et al. 1999), it is likely that Cd concentrations in zooplankton can be likewise related to those in water, that is,

$$[\text{Cd}_{\text{zooplankton}}] = \frac{F_{\text{zooplankton}} [\text{Cd}^{2+}]}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (3)$$

where  $F_{\text{zooplankton}}$  and  $K_a$  are fitted constants (Hare and Tessier 1996), assuming that  $\text{Cd}^{2+}$  -  $\text{H}^+$  competition takes place on plankton. Attempts to relate Cd measurements in both bulk and size fractionated plankton to those of  $\text{Cd}^{2+}$  in water using equation 3 were unsuccessful ( $P > 0.05$ ). We had greater success when we used our data for Cd concentrations in cladocerans and copepods (Fig. 2C-D, data for Lakes Bousquet and Joannès excluded as discussed above), which again supports the idea that greater taxonomic resolution, especially if it can be allied to knowledge of predator feeding habits, should lead to stronger predictive relationships. Further improvements in predictive abilities could come from knowing the biological level(s) at which competition occurs between Cd and H ions for Cd-uptake sites (e.g., zooplankton or phytoplankton).

Overall, our attempts to relate metal concentrations in a planktonic predator met with mixed success. Although we observed no relationship between Cd in *Chaoborus* and in poorly defined planktonic food fractions, significant relationships were observed when Cd concentrations in specific prey taxa were used. We obtained similar results when we compared Cd concentrations in various groupings of prey to those in water. Promising results were also obtained with a bioaccumulation model; model predictions of predator Cd from measurements of Cd in natural prey assemblages were surprisingly close to predator Cd concentrations measured in nature. Overall our results suggest that predictions of metal concentrations between adjacent links in food chains, as well as trends in metal concentrations along food chains, are most likely to be successful if they are based on knowledge of the trophic relationships that exist among well identified taxonomic units.

## Acknowledgements

Funding was provided by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Metals In The Environment Research Network, the Ontario Power Generation, the Mining Association of Canada, Human Resources Development Canada, and the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. Technical

assistance by M. G. Bordeleau, J. Bernier, M.-R. Doyon, P. Fournier, S. Fournier, P. Marcoux, R. Savard, N. Simard, S. St-Pierre and R. Rodrigue is acknowledged.

## References

- CABANA, G., A. TREMBLAY, J. KALFF, AND J. B. RASMUSSEN. 1994. Pelagic food chain structure in Ontario lakes - A determinant of mercury levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **51**: 381-389.
- CHAPMAN, P. M., AND F. WANG. 2000. Issues in ecological risk assessment of inorganic metals and metalloids. *Human Ecol. Risk Assess.* **6**: 965-988.
- CHEN, C. Y., R. S. STEMBERGER, F. KLAUNE, J. D. BLUM, P. C. PICKHARDT, AND C. L. FOLT. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1525-1536.
- CHEN, C.Y., AND C. L. FOLT. 2000. Bioaccumulation and diminution of As and Pb in a freshwater food web. *Environ. Sci. Technol.* **34**: 3878-3884.
- CROTEAU, M.-N., L. HARE, AND A. TESSIER. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* **32**: 1348-1353.
- 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.
- CROTEAU, M.-N., L. HARE, AND A. TESSIER. 2002. Influence of temperature on Cd accumulation by species of the biomonitor *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 505-514.
- DEONIER, C. C. 1943. Biology of the immature stages of the clear lake gnat. *Annals Entomol. Soc. Amer.* **36**: 383-388.
- DODSON, S. I., AND D. G. FREY. 1992. Cladocera and other Branchiopoda, p. 723-786. In J. H. Thorp and A. P. Covich [eds.], *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Academic Press.
- FEDORENKO, A. Y., AND M. C. SWIFT. 1972. Comparative biology of *Chaoborus americanus* and *Chaoborus trivittatus* in Eunice lake, British Columbia. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 721-730.
- FEDORENKO, A. Y. 1975. Instar and species-specific diets in two species of *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* **20**: 238-249.
- FISHER, N. S., AND J. R. REINFELDER. 1995. The trophic transfer of metals in marine systems, p. 363-406. In A. Tessier and D. R. Turner [eds.], *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, Wiley.

- FRANCE, R., K. WESTCOTT, P. DEL GIORGIO, G. KLEIN, AND J. KALFF. 1996. Vertical foodweb structure of freshwater zooplankton assemblages estimated by stable nitrogen isotopes. *Res. Popul. Ecol.* **38**: 283-287.
- GIESY, J. P., J. W. BOWLING, AND H. J. KANIA. 1980. Cadmium and zinc accumulation in freshwater crayfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **9**: 683-697.
- HARE, L., AND J. C. H. CARTER. 1987. Zooplankton populations and the diets of three *Chaoborus* species (Diptera, Chaoboridae) in a tropical lake. *Freshw. Biol.* **17**: 275-290.
- HARE, L. 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* **22**: 327-369.
- HARE, L., AND P. G. C. CAMPBELL. 1992. Temporal variations of trace metals in aquatic insects. *Freshwat. Biol.* **27**: 13-27.
- HARE, L., AND A. TESSIER. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* **380**: 430-432.
- HARE, L., AND A. TESSIER. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1850-1859.
- HATAKEYAMA, S., AND M. YASUNO. 1987. Chronic effects of Cd on the reproduction of the guppy (*Poecilia reticulata*) through Cd-accumulated midge larvae (*Chironomus yoshimatsui*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **14**: 191-207.
- LAROW, E. J., AND G. R. MARZOLF. 1970. Behavioral differences between 3rd and 4th instars of *Chaoborus punctipennis* Say. *Amer. Midland Naturalist* **84**: 428-436.
- LEWIS, W. M. 1977. Feeding selectivity of a tropical *Chaoborus* population. *Freshw. Biol.* **7**: 311-325.
- LUOMA, S. N., C. JOHNS, N. S. FISHER, N. A. STEINBERG, R. S. OREMLAND, AND J. R. REINFELDER. 1992. Determination of selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways. *Environ. Sci. Technol.* **26**: 485-491.
- LUOMA, S. N., A. VAN GEEN, B.-G. LEE, AND J. E. CLOERN. 1998. Metal uptake by phytoplankton during a bloom in South San Francisco Bay: Implications for metal cycling in estuaries. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1007-1016.
- MOORE, M. V. 1988. Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. *Freshwat. Biol.* **19**: 249-268.
- MOREL, F. M. M., AND J. G. HERING. 1993. Principles and Applications of Aquatic chemistry. Wiley.
- MUNGER, C., AND L. HARE. 1997. Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): Implications for predicting Cd bioaccumulation in the field. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 891-895.
- MUNGER, C., L. HARE, AND A. TESSIER. 1999. Cadmium sources and exchange rates for *Chaoborus* larvae in the field. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1763-1771.
- PACE, M. L. 2001. Prediction and the aquatic sciences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 63-72.

- PACZYNA, J. M., M. T. SCHOLTZ, AND Y.-F. LI. 1995. Global budget of trace metal sources. *Environ. Rev.* **3**: 145-159.
- PARMA, S. 1971. The morphology of the larval instars of *Chaoborus flavicans* (Meigen, 1818) (Diptera, Chaoboridae). *Zool. Museum Univ. Amsterdam.* **18**: 173-181.
- PHILLIPS, D. J. H. 1977. The use of biological indicator organisms to monitor metal pollution in marine and estuarine environments - a review. *Environ. Pollut.* **13**: 281-317.
- RASMUSSEN, J. B., D. J. ROWAN, D. R. S. LEAN, AND J. H. CAREY. 1990. Food chain structure in Ontario lakes determines PCB levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*) and other pelagic fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **47**: 2030-2038.
- SAETHER, O. A. 1972. Chaoboridae, p. 257-304. *In* H. J. Elster and W. Ohle [eds.], *Das Zooplankton der Binnengewässer*, part 1. E. Schweizerbart'sche.
- SCHLEKAT, C. E., B.-G. LEE, AND S. N. LUOMA. 2001. Dietary metals exposure and toxicity to aquatic organisms: Implications for ecological risk assessment, p. 261-314. *In* M. Newman [ed.], *Coastal and Estuarine Risk Assessment*. CRC Press.
- ST.-CYR, L., AND P. G. C. CAMPBELL. 1994. Trace metals in submerged plants of the St. Lawrence River. *Can. J. Botany.* **72**: 429-439.
- STENSON, J. A. 1980. Predation pressure from fish on two *Chaoborus* species as related to their visibility, p. 618-622. *In* W. C. Kerfoot [ed.], *Evolution and Ecology of Zooplankton Communities*. Univ. Press of New England.
- SWÜSTE, H. F. J., R. CREMER, AND S. PARMA. 1973. Selective predation by larvae of *Chaoborus flavicans* (Diptera, Chaoboridae). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **18**: 1559-1563.
- TIMMERMANS, K. R., E. SPIJKERMAN, M. TONKES, AND H. GOVERS. 1992. Cadmium and zinc uptake by two species of aquatic invertebrate predators from dietary and aqueous sources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 655-662.
- TIPPING, E. 1994. WHAM- A chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Comput. Geosci.* **20**: 973-1023.
- VAN HATTUM, B., P. DE VOGT, L. VAN DEN BOSCH, N. M. VAN STRAALLEN, AND E. N. G. JOOSSE. 1989. Bioaccumulation of cadmium by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.) from aqueous and dietary sources. *Environ. Pollut.* **62**: 129-151.
- WANG, W.-X., AND R. C. H. DEI. 1999. Kinetic measurements of metal accumulation in two marine macroalgae. *Mar. Biol.* **135**: 11-23.
- WATRAS, C. J., AND N. S. BLOOM. 1992. Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. *Limnol. Oceanogr.* **37**: 1313-1318.

**Table 1.** Locations of our study lakes with their pH and concentrations of total dissolved organic carbon ( $[C_{org}]$ ), Ca, and Cd.

Region and lake	Location	pH	$[C_{org}]$ mg C l <sup>-1</sup>	[Ca] μM	[Cd] nM
<b>Killarney, Ontario</b>					
Terry <sup>†</sup>	46°04'N,81°17'W	4.56	7.9	37	0.9
<b>Sudbury, Ontario</b>					
Chief <sup>†</sup>	46°22'N,81°01'W	4.47	5.3	40	2.7
Crooked	46°25'N,81°02'W	5.07	3.6	74	4.5
Crowley	46°23'N,80°59'W	6.85	2.8	59	1.2
Daisy <sup>†</sup>	46°27'N,80°53'W	5.36	4.3	59	2.5
Forest	46°23'N,81°00'W	6.23	2.5	65	1.4
Johnny	46°26'N,81°02'W	7.12	4.6	229	1.4
Hazen <sup>†</sup>	46°25'N,80°59'W	4.46	8.8	2237	3.3
Pine <sup>†</sup>	46°22'N,81°02'W	4.30	6.0	30	3.8
Tilton	46°22'N,81°04'W	6.61	2.4	119	1.3
<b>Rouyn-Noranda, Québec</b>					
Bousquet	48°14'N,78°34'W	6.35	12.1	97	0.85
Caron	47°56'N,78°58'W	7.01	11.3	288	0.89
Chevreuil <sup>†</sup>	47°54'N,79°00'W	4.50	5.2	29	2.5
d'Alembert	48°23'N,79°01'W	7.15	9.0	160	0.44
Desperiers <sup>†</sup>	48°11'N,79°09'W	5.16	5.6	42	3.2
Duprat	48°20'N,79°07'W	7.11	6.7	173	0.41
Flavrian	48°18'N,79°11'W	7.27	7.8	156	0.43
Hélène	48°13'N,79°10'W	8.05	8.9	420	0.07
Joannès	48°11'N,78°41'W	6.95	10.4	164	0.64
La Bruère	48°10'N,78°57'W	7.79	9.9	304	0.61
Marlon	48°16'N,79°04'W	7.35	8.6	138	1.18
Surimeau <sup>†</sup>	48°08'N,79°19'W	4.95	8.5	39	0.9
Turcotte <sup>†</sup>	48°18'N,79°04'W	4.83	5.4	105	19.5
Vaudray	48°07'N,78°42'W	6.65	7.8	81	0.57

<sup>†</sup> Data from Croteau et al. (1998)

Table 2. Mean Cd concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) ( $\pm$  S.D.) in bulk and size fractionated plankton samples as well as in various *Chaoborus* species from our study lakes. Sample numbers are given in brackets. INS, insufficient number of organisms; NP, not present.

Region and lake	Plankton Cd concentrations				<i>Chaoborus</i> Cd concentrations			
	Bulk	500-1000 $\mu$	300-500 $\mu$	64-300 $\mu$	<i>punctipennis</i>	<i>albatus</i>	<i>flavicans</i>	<i>americanus</i>
<b>Killarney, Ontario</b>								
Terry	0.72 $\pm$ 0.02 (n=3)	0.64 $\pm$ 0.06 (n=3)	0.50 $\pm$ 0.03 (n=3)	1.0 $\pm$ 0.1 (n=3)	1.9 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>†</sup>	NP	NP	NP
<b>Sudbury, Ontario</b>								
Chief	1.2 $\pm$ 0.3 (n=3)	INS	2.7 $\pm$ 0.2 (n=3)	0.45 $\pm$ 0.02 (n=3)	1.5 $\pm$ 0.1 (n=4) <sup>†</sup>	NP	NP	NP
Crooked	1.4 $\pm$ 0.3 (n=3)	3.9 $\pm$ 3 (n=2)	1.1 $\pm$ 0.2 (n=2)	0.46 $\pm$ 0.01 (n=3)	3.2 $\pm$ 0.3 (n=5) <sup>‡</sup>	3.8 (n=1) <sup>§</sup>	4.0 $\pm$ 0.4 (n=2) <sup>§</sup>	4.0 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>§</sup>
Crowley	4.1 $\pm$ 0.5 (n=4)	3.8 $\pm$ 0.5 (n=3)	1.5 $\pm$ 0.2 (n=4)	2.2 $\pm$ 0.3 (n=3)	10.9 $\pm$ 0.3 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	8.6 $\pm$ 0.5 (n=5) <sup>§</sup>	NP
Daisy	2.8 $\pm$ 0.4 (n=3)	INS	2.1 $\pm$ 0.01 (n=3)	3.4 $\pm$ 0.01 (n=3)	2.8 $\pm$ 0.3 (n=5) <sup>†</sup>	NP	NP	NP
Forest	2.5 $\pm$ 0.7 (n=4)	6.2 $\pm$ 0.4 (n=4)	3.4 $\pm$ 0.1 (n=4)	1.2 $\pm$ 0.1 (n=4)	8.3 $\pm$ 0.4 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	4.9 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>§</sup>	NP
Johny	3.4 $\pm$ 0.5 (n=3)	1.5 $\pm$ 0.3 (n=2)	1.0 $\pm$ 0.4 (n=2)	4.0 $\pm$ 0.3 (n=3)	11.9 $\pm$ 0.8 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	4.8 (n=1) <sup>§</sup>	13.6 $\pm$ 0.9 (n=5) <sup>§</sup>
Hazen	2.2 $\pm$ 0.1 (n=3)	INS	3.4 $\pm$ 0.9 (n=3)	2.0 $\pm$ 0.1 (n=3)	1.1 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>†</sup>	NP	1.6 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>†</sup>	2.6 $\pm$ 0.4 (n=5) <sup>†</sup>
Pine	2.1 $\pm$ 0.1 (n=3)	INS	1.3 $\pm$ 0.1 (n=3)	2.3 $\pm$ 0.1 (n=3)	3.9 $\pm$ 1.1 (n=3) <sup>†</sup>	3.4 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>†</sup>	NP	NP
Tilton	3.7 $\pm$ 0.3 (n=4)	0.81 $\pm$ 0.1 (n=3)	0.46 $\pm$ 0.04 (n=3)	1.5 $\pm$ 0.3 (n=4)	7.6 $\pm$ 1.0 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	6.6 $\pm$ 0.6 (n=5) <sup>‡</sup>	NP
<b>Rouyn-Noranda, Québec</b>								
Bousquet	2.0 $\pm$ 0.1 (n=4)	0.95 $\pm$ 0.03 (n=4)	0.72 $\pm$ 0.4 (n=4)	0.34 $\pm$ 0.03 (n=4)	2.0 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	3.0 $\pm$ 0.4 (n=5) <sup>‡</sup>	NP
Caron	3.9 $\pm$ 0.5 (n=4)	1.0 $\pm$ 0.1 (n=4)	0.36 $\pm$ 0.1 (n=4)	0.24 $\pm$ 0.06 (n=4)	5.6 (n=1)	NP	4.8 $\pm$ 0.4 (n=5)	NP
Chevreuil	2.1 $\pm$ 0.2 (n=3)	INS	0.43 $\pm$ 0.06 (n=3)	0.37 $\pm$ 0.05 (n=3)	1.5 (n=1) <sup>†</sup>	NP	NP	3.0 $\pm$ 0.5 (n=5) <sup>†</sup>
d'Alembert	8.1 $\pm$ 1.1 (n=4)	4.3 $\pm$ 0.4 (n=4)	2.7 $\pm$ 0.1 (n=4)	1.1 $\pm$ 0.04 (n=4)	2.3 (n=1)	NP	1.7 $\pm$ 0.1 (n=5)	NP
Desperiers	3.9 $\pm$ 0.3 (n=5)	5.3 $\pm$ 0.5 (n=5)	2.3 $\pm$ 0.03 (n=5)	1.4 $\pm$ 0.1 (n=5)	1.1 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>†</sup>	NP	2.8 $\pm$ 0.4 (n=5) <sup>†</sup>	NP
Duprat	2.2 $\pm$ 0.1 (n=4)	1.7 $\pm$ 0.2 (n=4)	0.96 $\pm$ 0.04 (n=4)	0.36 $\pm$ 0.01 (n=4)	1.4 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>‡</sup>	NP	1.3 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>‡</sup>	NP
Flavrian	3.6 $\pm$ 0.2 (n=3)	7.0 $\pm$ 0.1 (n=4)	1.8 $\pm$ 0.2 (n=3)	1.5 $\pm$ 0.1 (n=4)	NP	1.3 $\pm$ 0.1 (n=5)	NP	NP
Joannès	5.0 $\pm$ 0.1 (n=4)	3.4 $\pm$ 0.3 (n=4)	3.1 $\pm$ 0.2 (n=4)	0.69 $\pm$ 0.02 (n=4)	NP	NP	3.6 $\pm$ 0.2 (n=5)	NP
La Bruère	3.2 $\pm$ 0.3 (n=4)	2.5 $\pm$ 0.1 (n=4)	2.5 $\pm$ 0.1 (n=4)	0.44 $\pm$ 0.04 (n=4)	1.7 $\pm$ 0.1 (n=5)	NP	NP	NP
Marlon	43 $\pm$ 14 (n=4)	41 $\pm$ 3 (n=4)	28 $\pm$ 2 (n=4)	1.8 $\pm$ 0.2 (n=4)	5.6 $\pm$ 0.6 (n=4) <sup>‡</sup>	4.9 $\pm$ 0.5 (n=4) <sup>‡</sup>	NP	NP
Surimeau	33 $\pm$ 2 (n=5)	8.5 $\pm$ 1.8 (n=6)	2.3 $\pm$ 0.3 (n=5)	29 $\pm$ 3 (n=5)	2.7 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>†</sup>	NP	1.3 $\pm$ 0.1 (n=3) <sup>†</sup>	NP
Turcotte	2.7 $\pm$ 0.2 (n=3)	INS	2.0 $\pm$ 0.1 (n=2)	4.1 $\pm$ 1.2 (n=3)	3.1 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>†</sup>	NP	NP	9.9 $\pm$ 0.8 (n=5) <sup>†</sup>
Vaudray	3.0 $\pm$ 0.5 (n=4)	4.2 $\pm$ 0.3 (n=4)	3.3 $\pm$ 0.3 (n=4)	0.39 $\pm$ 0.05 (n=4)	2.9 $\pm$ 0.1 (n=2) <sup>‡</sup>	NP	4.5 $\pm$ 0.3 (n=5) <sup>‡</sup>	NP

<sup>†</sup> Data from Croteau et al. (1998); <sup>‡</sup> Data from Croteau et al. (2001)

**Table 3.** Mean Cd concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $\pm\text{S.D.}$ ) in copepods, cladocerans and various *Chaoborus* species from lakes in the region of Rouyn-Noranda as well as the ratio of abundance of copepods and cladocerans in the 64-300  $\mu\text{m}$  bulk plankton fraction. NP, not present; ND, not determined.

Lake	[Cd] copepods	[Cd] cladocerans	Abundance Copepods: Cladocerans	[Cd] <sub>Chaoborus</sub>		
				<i>punctipennis</i>	<i>albatus</i>	<i>flavicans</i>
Bousquet	0.99 $\pm$ 0.1 (n=3) <sup>§</sup>	0.89 (n=1)	0.71	2.0 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>§</sup>	NP	3.0 $\pm$ 0.4 (n=5)
d'Alembert	3.1 $\pm$ 0.4 (n=3) <sup>§</sup>	4.2 $\pm$ 0.5 (n=4)	11	2.3 (n=1) <sup>§</sup>	NP	1.7 $\pm$ 0.1 (n=5)
Duprat	1.6 $\pm$ 0.1 (n=3) <sup>§</sup>	1.3 $\pm$ 0.05 (n=2)	20	1.4 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>§</sup>	NP	1.3 $\pm$ 0.2 (n=5)
Flavrian	2.0 (n=1) <sup>§</sup>	5.5 $\pm$ 0.4 (n=3)	33	NP	1.3 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>§</sup>	NP
Hélène	1.1 $\pm$ 0.2 (n=5) <sup>§</sup>	0.99 $\pm$ 0.4 (n=3)	ND	0.13 $\pm$ 0.02 (n=3) <sup>§</sup>	0.18 $\pm$ 0.04 (n=3)	NP
Joannès	2.9 $\pm$ 1 (n=4)	0.75 $\pm$ 0.2 (n=2)	31	NP	NP	3.6 $\pm$ 0.2 (n=5)
La Bruère	2.9 $\pm$ 0.5 (n=3) <sup>§</sup>	1.6 $\pm$ 0.3 (n=3)	54	1.7 $\pm$ 0.1 (n=5) <sup>§</sup>	NP	NP
Marlon	23 $\pm$ 2 (n=2)	20 $\pm$ 2 (n=3)	82	5.6 $\pm$ 0.6 (n=4)	4.9 $\pm$ 0.5 (n=2)	NP
Vaudray	5.8 $\pm$ 0.2 (n=3) <sup>§</sup>	3.2 $\pm$ 0.4 (n=2)	26	2.9 $\pm$ 0.1 (n=2) <sup>§</sup>	NP	4.5 $\pm$ 0.3 (n=5)

<sup>§</sup> Data from Croteau et al. (2002)

## Figure Captions

**Figure 1.** Relationships between mean ( $\pm$ SD,  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) Cd concentrations in larvae of the insect *Chaoborus punctipennis* and in (A) bulk zooplankton, (B) 500-1000  $\mu\text{m}$  zooplankton size fraction, (C) 300-500  $\mu\text{m}$  zooplankton size fraction and (D) 64-300  $\mu\text{m}$  zooplankton size fraction; solid symbols, pH < 5.5; open symbols, pH > 5.5

**Figure 2.** Relationships between mean ( $\pm$ SD,  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) Cd concentrations in larvae of the insect *Chaoborus* and in their potential (A) cladoceran or (B) copepod prey as well as relationships between mean Cd concentrations ( $\pm$ SD,  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) in both cladocerans (C) and copepods (D) and estimated free Cd ion concentrations ( $[\text{Cd}^{2+}]$ ) in lakewater.

**Figure 3.** Measured Cd concentrations ( $\pm$ SD,  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) in final instar larvae of *C. punctipennis* collected from various lakes compared with model predictions for Cd concentrations in this predator at 5 and 22 °C. Predicted Cd values for *C. punctipennis* were estimated for each temperature using equation 3 and the parameters AE, IR,  $k_g$ ,  $k_e$  (obtained from Croteau et al. 2001; 2002) and  $[\text{Cd}]_{\text{Food}}$  (abundance weighted mean of Cd concentrations measured in copepods and cladocerans from each lake, Table 3).

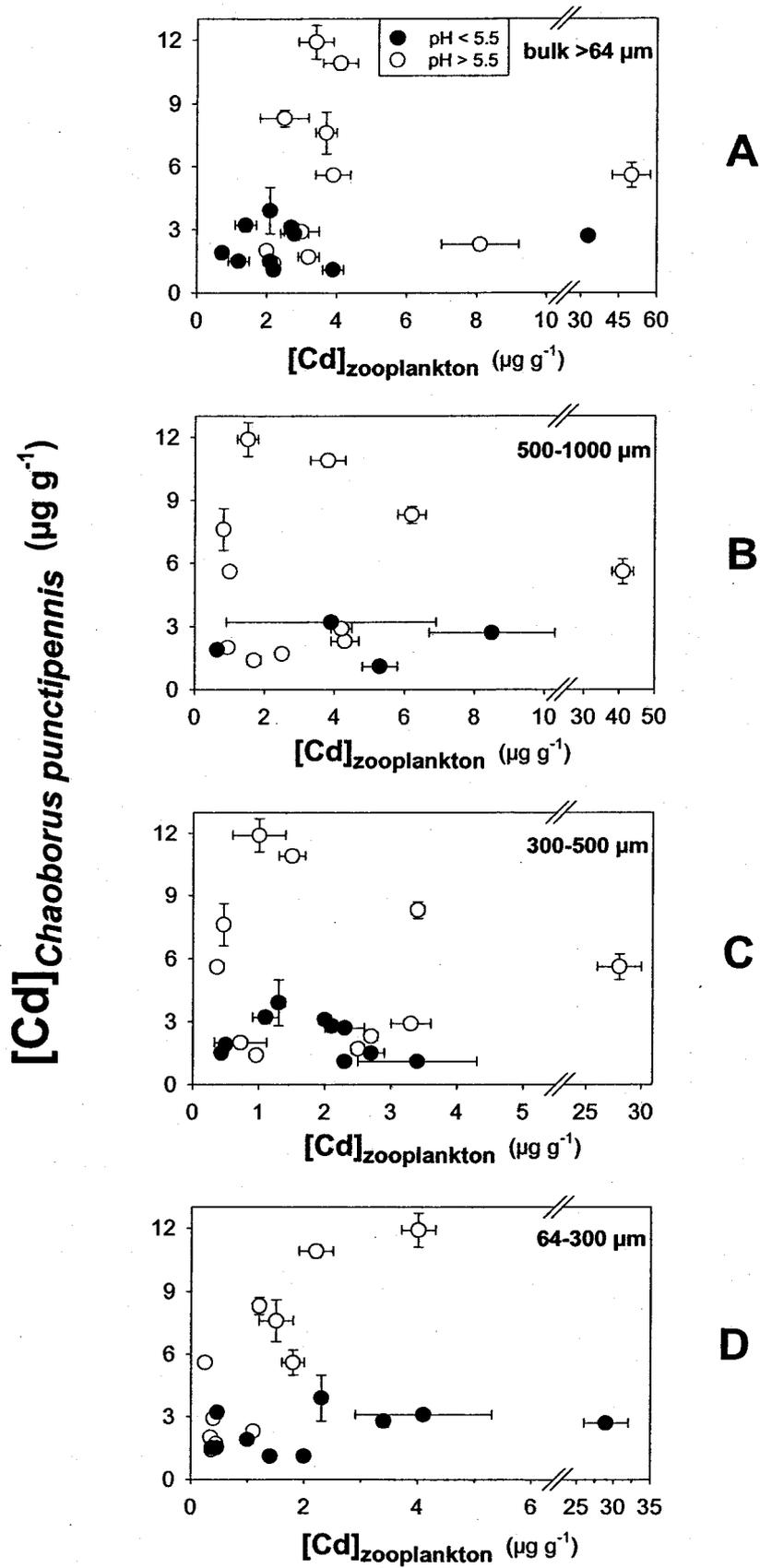


Figure 1. Croteau et al. 2002

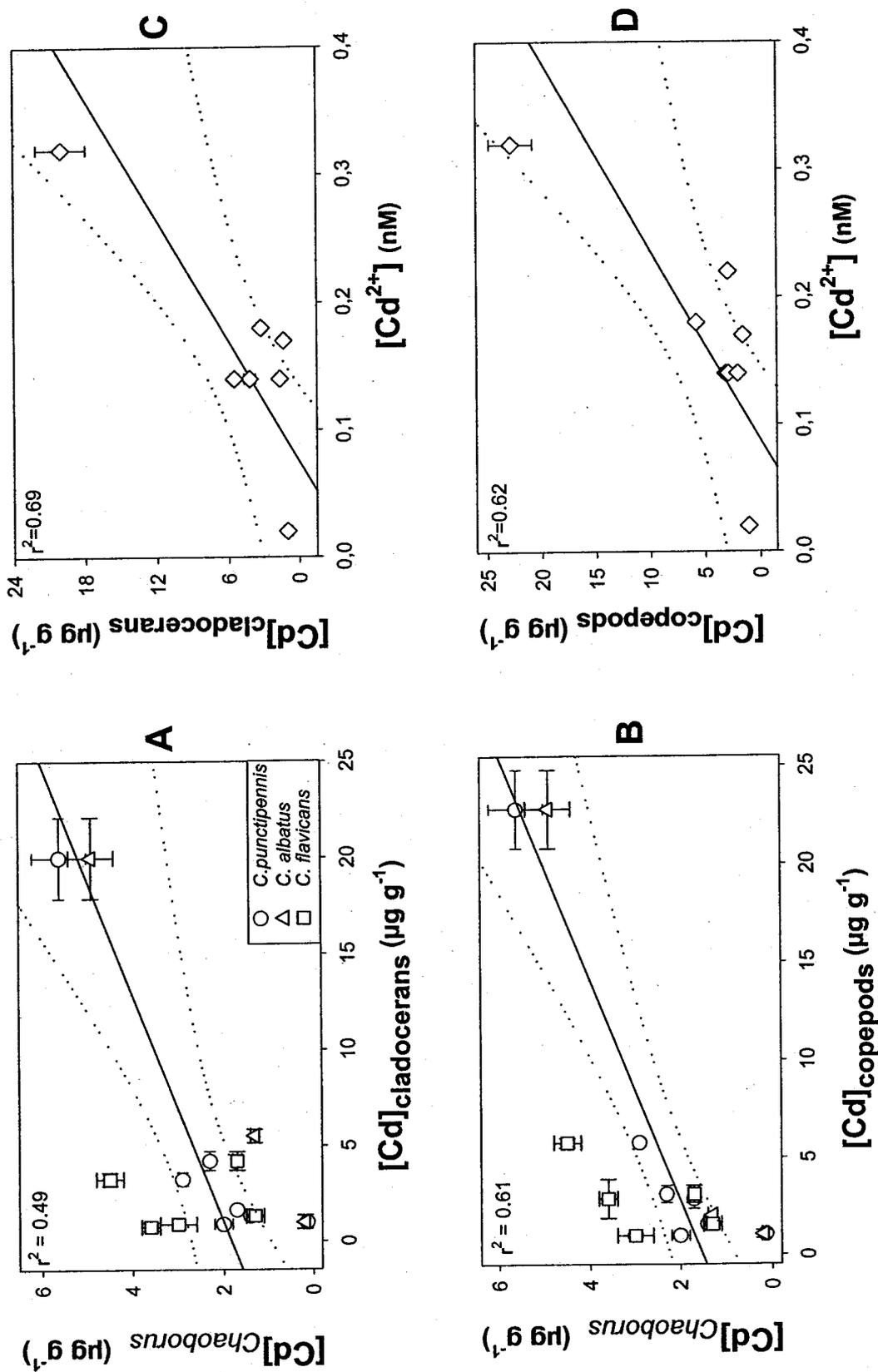


Figure 2. Croteau et al. 2002

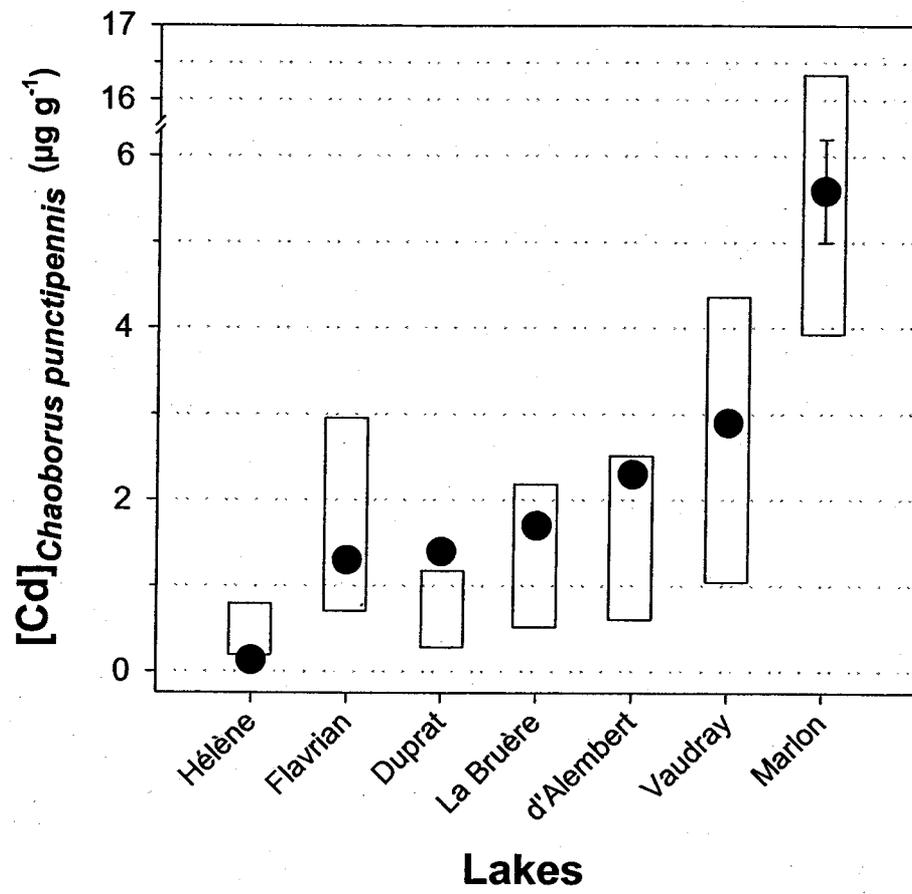
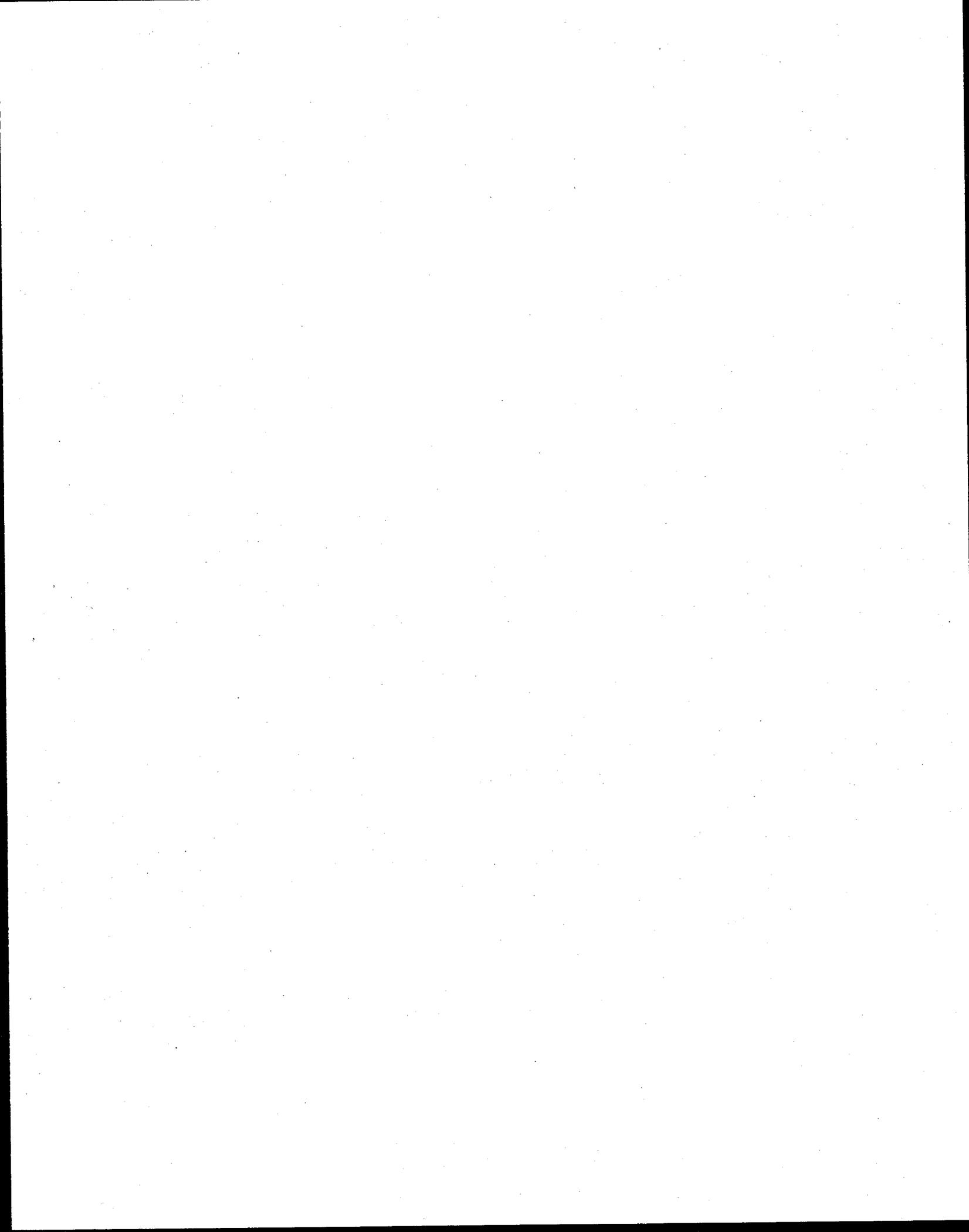


Figure 3. Croteau et al. 2002



## CHAPITRE 8.

---

### **Differences in Cd accumulation among species of the lake-dwelling biomonitor *Chaoborus***

*Marie-Noële Croteau, Landis Hare<sup>φ</sup> and André Tessier*

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

Published in the *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **58**: 1737-1746  
(2001)

---

<sup>φ</sup> Corresponding author, E-mail address: [landis@inrs-eau.quebec.ca](mailto:landis@inrs-eau.quebec.ca)

## Résumé

Nous avons mesuré des différences substantielles dans l'accumulation du Cd chez quatre espèces de *Chaoborus* (Mouche-fantôme) qui avaient été exposées en laboratoire à des quantités similaires de Cd contenues dans des proies naturellement contaminées. Au terme de cette expérience, les deux espèces de grande taille avaient accumulé plus de Cd que les deux espèces de petite taille et ce, malgré un taux d'ingestion des proies similaires entre les quatre espèces. Afin de déterminer les causes de cette accumulation différentielle du Cd entre espèces, nous avons appliqué à nos données expérimentales un modèle de bioaccumulation théorique. Ce modèle permis de comparer les espèces en regard de leurs constantes de taux de croissance et de perte de Cd, de leur efficacité d'assimilation du Cd et de leurs concentrations de Cd à l'état stationnaire. Les différences mesurées dans l'accumulation du Cd entre les espèces furent expliquées principalement par le fait que les espèces de petite taille assimilaient de leurs proies une proportion de Cd beaucoup plus faible ( $\approx 6\%$ ) que les espèces de grande taille (45% et 58%). La comparaison des prédictions de notre modèle aux concentrations de Cd mesurées chez des espèces de *Chaoborus* récoltées en milieu naturel suggère que les différences observées en milieu naturel dans les concentrations de Cd entre les espèces coexistantes sont attribuables au fait que les espèces diffèrent entre elles tant dans leur efficacité d'assimilation du Cd que dans leur régime alimentaire.

## Abstract

We measured substantial differences in Cd accumulation among four species of the phantom midge *Chaoborus* that were exposed in the laboratory to the same Cd concentration in naturally contaminated prey. The two large-bodied species accumulated more Cd than did the two small-bodied species, in spite of the fact that all species ingested prey at the same rate. To determine why this was the case, we fitted our experimental data to a bioaccumulation model that allowed us to compare the species with respect to their rate constants for growth and Cd efflux, their Cd assimilation efficiency, and their Cd concentrations at steady state. Differences among species were explained mainly by the fact that the small-bodied species assimilated a much lower proportion of the Cd that they ingested with prey ( $\approx 6\%$ ) than did the large-bodied species (45% and 58%). A comparison between Cd concentrations measured in *Chaoborus* species in the field and predictions from the model suggest that differences in Cd concentrations among coexisting *Chaoborus* species in nature are explained by differences both in the rate at which they assimilate Cd and in their feeding habits.

## Introduction

Interest in trace metal accumulation by aquatic organisms stems in part from their potential use as biomonitors (Phillips and Rainbow 1993). In both marine and freshwater systems, bivalve mollusks are widely used as sentinel animals for monitoring contaminant levels (Elder and Collins 1991; Rainbow and Phillips 1993). However, most bivalve species are absent from waters of pH below 6 (Pennak 1989) and their metal concentrations could be subject to the confounding influence of a reproductive cycle (Langston and Spence 1995). Moreover, the use of many freshwater bivalves for monitoring purposes is limited by the dependence of their larval stage on the presence of suitable host fish (Clarke 1981) and their sensitivity to trace metals (Couillard et al. 1993). The phantom midge *Chaoborus* has been proposed as an alternative metal biomonitor in lakes (Hare and Tessier 1996). Larvae of this insect occur over a wide range of chemical conditions (Hare and Tessier 1996, 1998; Croteau et al. 1998), are widely distributed (Borkent 1981) and can be abundant (Yan et al. 1985). Furthermore, *Chaoborus* larvae are able to accumulate and tolerate high concentrations of trace metals (Hare and Tessier 1996, 1998; Croteau et al. 1998) and their metal content does not change during a reproductive cycle (Hare and Campbell 1992).

The use of an animal as a biomonitor depends on the establishment of a reliable relationship between the animal's metal concentration and the concentration of the metal in its surroundings. Hare and Tessier (1996) tested such a relationship for larvae of *Chaoborus punctipennis* in a large number of lakes. They demonstrated that Cd concentrations in this insect are best described by the free-ion activity model, provided that competition for biological uptake sites between hydrogen ions and free Cd ions are explicitly taken into account. Further studies showed that several species of *Chaoborus* could be grouped together for biomonitoring purposes, obviating the need for microscopic examination of individuals (Croteau et al. 1998; Hare and Tessier 1998). However, the performance of this generic model was reduced compared to that for a single species (*C. punctipennis*) because Cd concentrations differed among coexisting *Chaoborus* species (Croteau et al. 1998; Hare and Tessier 1998). Specific differences in Cd concentrations have also been reported among sympatric congeners of a marine copepod (*Calanus* spp., Ritterhoff and Zauke 1997).

Cadmium bioaccumulation can be influenced by physical (e.g., temperature), chemical (e.g., trace metal speciation), ecological (e.g., diet, life history) and physiological (e.g., Cd assimilation efficiency, Cd loss rate) factors. Few studies have compared the processes that govern metal uptake and loss among related animal species. In the present study, we used a novel experimental approach to determine if larvae of four species of the phantom midge *Chaoborus* accumulate Cd differently when environmental and ecological factors are held constant. That is, we wished to determine if there are physiological differences among species that could influence their accumulation of this metal. We exposed the various *Chaoborus* species to naturally contaminated prey of the same type and Cd content in a controlled environment. Then, using a bioaccumulation model, we estimated and compared key food-related parameters, such as Cd assimilation efficiency and Cd loss rate, among species. Lastly, we compared model predictions with Cd concentrations measured in field collected *Chaoborus*.

## Methods

Our measurements of Cd concentrations and dynamics were performed on four *Chaoborus* species that are widespread in North America (Borkent 1981), that is, *C. albatus* (JOHNSON), *C. americanus* (JOHANNSEN), *C. flavicans* (MEIGEN) and *C. punctipennis* (SAY).

### Collection of field samples

For our Cd uptake experiment, larvae of four species of *Chaoborus* were collected in early September 1998 from three low-Cd lakes, two of which were located near Québec City and one (Hélène) in the Rouyn-Noranda region upwind from a metal smelter (Table 1). For our Cd loss experiment, larvae of four *Chaoborus* species were collected in mid-September 1998 from three high-Cd lakes located in the Rouyn-Noranda area (Table 1). Larvae for the experiments were sampled after sunset by hauling a 250- $\mu$ m plankton net horizontally in the water column. Water samples were collected using *in situ* diffusion samplers (peepers) similar to those described by Carignan et al. (1985). These Plexiglas samplers comprise eight compartments of 4 mL each that were filled with ultrapure water (Milli-Q system water; > 18 M $\Omega$  cm) and separated from the lake water by a 0.2- $\mu$ m polysulfone

membrane (Gelman HT-200 membrane). After preparation, each sampler was sealed in a clean plastic bag prior to its placement in a lake. Two diffusion samplers were suspended 1 m above the bottom in the epilimnion of each lake. After a 3-d equilibration period, the diffusion samplers were retrieved and water was collected immediately for the measurement of Cd.

Samples (4 mL) for Cd analyses were removed from compartments in each dialysis sampler by piercing the membrane with a pipette fitted with an acid-cleaned tip. These samples were injected into preacidified (53  $\mu$ L of 1.35 N Anachemia HNO<sub>3</sub>) high-density polyethylene bottles (HDPE; 4 mL capacity). On installation and retrieval dates, pH was measured with a portable pH meter (Hanna instruments, Microprocessor model HI9024/HI9025) in water samples collected at the depth of the dialysis samplers using a Van Dorn bottle.

For comparison of Cd concentrations among *Chaoborus* species, larvae were obtained from 17 Canadian Shield lakes containing 2-4 species of the genus (Table 2). Larvae were collected either with an Ekman grab in sediment during the day (1992 and 1993 samples) or with a 250- $\mu$ m mesh-aperture plankton net during the night (1996 and 1997 samples). In the laboratory, *Chaoborus* larvae were sorted according to species (Saether 1972) and final (fourth) instar larvae were differentiated by head capsule length as given in Larow and Marzolf (1970, *C. punctipennis*), Fedorenko and Swift (1972, *C. americanus*) and Parma (1971, *C. flavicans*). Given the similar size and morphology of *C. albatrus* and *C. punctipennis* larvae (they belong to the same subgenus, Borkent 1979), we assumed that head capsule lengths were the same for these two species. Larvae were held in filtered lakewater for 24 h prior to metal analysis to allow them to defecate their gut contents. Five to 20 individuals of a given species were pooled, to minimise potential individual variations in Cd, and placed on a piece of preweighed acid-washed Teflon sheeting then frozen until analysis.

### Internal Cd distribution

To measure the internal distribution of Cd in larvae, *Chaoborus* from several lakes (i.e., Lake Marlon for *C. punctipennis* and *C. albatius* larvae; Lake Caron for *C. flavicans* larvae and Lake Turcotte for *C. americanus* larvae; Table 1) were dissected under a microscope into gut and remaining body parts; organs from 10-15 larvae of a given species were pooled to make a single sample and five such samples were prepared for each *Chaoborus* species. Larvae were not given time to defecate their gut contents prior to dissection because a preliminary experiment conducted at 5 °C showed that there was no significant difference in Cd concentrations between larvae that were allowed to eliminate their gut contents for 24 h and those that were not (Fig. 1).

### Cd uptake experiment

Twenty-five final-instar larvae of each *Chaoborus* species collected from low-Cd lakes (i.e., Lake Hélène for *C. punctipennis* and *C. albatius*; Lake Laflamme for *C. flavicans* and Lake Bertrand for *C. americanus*; Table 1) were placed individually in 30-mL HDPE bottles filled with filtered (64- $\mu$ m) water from Cd-contaminated Lake Marlon (Table 1). From this same lake we collected the widespread calanoid copepod *Skistodiaptomus oregonensis* LILLJEBORG using a 64- $\mu$ m mesh-size plankton net to offer as prey to *Chaoborus* larvae. We verified daily the efficacy of our prey sorting by identifying prey to be offered to *Chaoborus* in three randomly selected vials (nominally holding 25 prey each). All individuals examined were calanoid copepods, of which 90% were *Skistodiaptomus oregonensis* and 10% were the similar-sized *Epischura lacustris*. Prey were mainly adults (36%) and copepodite v's (45%), with the remainder being either copepodite IV or III. Adults and copepodite v's should be eaten both in similar numbers, given their similar body width ( $0.25 \pm 0.02$ , standard deviation, mm), and readily, given their small width compared to the mouth diameter of *Chaoborus* (0.45 mm for fourth instars of our smallest species, *C. punctipennis*; Moore 1988).

Each *Chaoborus* larva was offered 25 fresh prey daily, which is in excess of its needs (larvae of a given species consumed an average of 12-44% of prey offered). *Chaoborus* larvae were held in the dark at 5 °C throughout the Cd uptake experiment. Both filtered

lake water and prey were renewed every 24 h by transferring each larva to a new bottle filled with freshly collected filtered lakewater and copepods. Formalin (5% final solution) was added to the previous 24-h exposure bottles to preserve uneaten copepods for later counting under a microscope. On the basis of these samples we calculated daily ingestion rates for each *Chaoborus* larva.

On each day, Cd concentrations were measured in three replicate samples of 100-150 prey. Pooled prey samples were held on preweighed acid-washed Teflon sheeting in microcentrifuge tubes and frozen at  $-4^{\circ}\text{C}$  until analysis. At the beginning of the experiment and after 2, 4, 7, 10 and 14 days of Cd exposure, five undepurated larvae (see Fig. 1) of each *Chaoborus* species were placed individually on a piece of preweighed acid-washed Teflon sheeting and frozen.

#### Cd loss experiment

Fifty final-instar larvae of each *Chaoborus* species collected from high-Cd lakes (i.e., Lake Marlon for *C. punctipennis* and *C. albatus*; Lake Caron for *C. flavicans* and Lake Turcotte for *C. americanus*; Table 1) were placed individually in 30-mL HDPE bottles filled with filtered (64- $\mu\text{m}$ ) water from low-Cd Lake H el ene (Table 1). These *Chaoborus* larvae were fed *ad libitum* bulk zooplankton (mainly copepods) collected from low-Cd Lake H el ene using a 64- $\mu\text{m}$  mesh-size plankton net. *Chaoborus* larvae were held in the dark at  $5^{\circ}\text{C}$  throughout the Cd loss experiment. Both filtered lake water and prey were renewed every 24 h by transferring each larva to a new bottle filled with freshly collected filtered lakewater and bulk plankton. On each day, three replicate samples of bulk zooplankton ( $\approx$  1-2 mg wet weight, w. w.) were placed on a piece of preweighed acid-washed Teflon sheeting and frozen until analysis. At times 0, 6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 36 h, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d and 10 d, five undepurated larvae (see Fig. 1) of each *Chaoborus* species were placed individually on pieces of preweighed acid-washed Teflon sheeting and frozen until analysis.

In the lakes from which we collected our *C. americanus* for both Cd uptake and loss experiments, we found two body sizes of *C. americanus* larvae, both of which had the

same head capsule length (corresponding to that of the fourth instar). This suggests that there are two co-existing generations of larvae of different ages ( $\approx 1$  and 2 years of age). For our experiments, we chose the smaller of the two larval sizes so as to minimise the risk of emergence during our experiment and so that their age would be close to those of the other three species ( $< 1$  yr.).

### Analyses

To minimise inadvertent trace metal contamination, labware, water-sampling materials, vials and Teflon sheeting were soaked in 15% nitric acid and rinsed in ultrapure water prior to use.

Total dissolved Cd concentrations were measured by flameless atomic-absorption spectrophotometry (AAS) (Perkin-Elmer model SIMAA 6000). Certified reference water samples (riverine water reference material, NRCC) were also analysed for Cd during each analytical run and measured trace metal concentrations were within the certified range.

Previously frozen *Chaoborus* larvae and zooplankton samples were freeze-dried (FTS Systems<sup>TM</sup>), weighed (Mettler ME30 electronic micro-balance) and digested in concentrated nitric acid (Aristar grade). For samples of *Chaoborus* collected before 1998, digestions were carried out either in thick-walled, screw-cap Teflon vials in an autoclave at 120 °C for 3 h or in Teflon bombs in a microwave oven. Cooled digested samples were diluted to volume with ultrapure water. Samples of both *Chaoborus* and copepods collected in 1998 were digested at room temperature in 4-mL HDPE vials with concentrated nitric acid (100  $\mu\text{L mg}^{-1}$  dry weight, d. w., sample) for 7 days. Hydrogen peroxide (40  $\mu\text{L mg}^{-1}$  d. w. sample) was added 24 h prior to final dilution with ultrapure water (760  $\mu\text{L mg}^{-1}$  d. w. sample). Samples of similar weight of a certified reference material (lobster hepatopancreas, TORT-1, NRCC) were submitted to the same digestion procedures during each analytical run. Cadmium concentrations measured in TORT-1 were within the certified range and recoveries of Cd in spiked samples were within  $\pm 10\%$  of the amount added. Cadmium concentrations in animals were analysed by flameless AAS (Varian Spectra AA-30). The software SYSTAT 10 was used for all statistical analyses. T-

tests were used to compare Cd concentrations between the gut and remaining organs, as well as to compare estimates for each model term among *Chaoborus* species. Estimates for each model term in the Cd uptake and Cd loss experiments were made by non-linear regression.

## Results and discussion

### Internal Cd distribution

A comparison of the distribution of Cd between the gut and remaining organs confirmed that the four *Chaoborus* species we studied are similar in having the bulk of their Cd localised in gut tissues (*t*-test,  $p < 0.001$ , Fig. 2). This internal distribution pattern suggests that all of the species take up the bulk of their Cd from prey. This suggestion is borne out for one of our study species, *C. punctipennis*, by laboratory and field studies demonstrating that larvae of this species accumulate almost all of their Cd from food (Munger and Hare 1997; Munger et al. 1999). Because the Cd present in *Chaoborus* larvae likely originates from their food, then differences in Cd concentrations among sympatric species could be explained by the type and quantity of prey that each species consumes. In addition, factors unrelated to food type and ingestion rate, such as Cd assimilation efficiency, Cd elimination rate and animal growth rate, could vary among species and thereby explain the differences in Cd concentrations among *Chaoborus* species that are reported to occur in nature (Croteau et al. 1998; Hare and Tessier 1998).

### Modelling Cd bioaccumulation

We tested the hypothesis that if all species consume the same prey type at the same rate, their Cd concentrations will increase to the same extent. We did this by feeding four *Chaoborus* species the calanoid copepod *S. oregonensis* collected from the same Cd-rich lake. We used naturally contaminated prey so that Cd accumulation by the predator would be representative of that which occurs in the field; the availability of Cd from food is reported to depend on the exposure history of the food particles (Wallace and Lopez 1996). Despite the fact that the *Chaoborus* species took up their Cd from the same prey type, they differed significantly (*t*-test,  $p < 0.001$ ) in the rates at which they accumulated Cd ( $\text{ng Cd}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), that is, 9 for *C. albatus*, 16 for *C. punctipennis*, 74 for *C. americanus* and 109

for *C. flavicans* (standard deviations < 1 for all species). To explain this difference among species, we examined variables other than prey type and prey Cd concentration that are known to influence metal uptake. These are: ingestion rate (IR), Cd assimilation efficiency (AE), Cd efflux rate and *Chaoborus* growth rate (Wang and Fisher 1996; Munger et al. 1999; Munger and Hare 2000).

Mean ingestion rates (Table 3, g d.w. of copepods consumed per g d.w. of predator per day) did not differ significantly among *Chaoborus* species during our Cd uptake experiment (*t*-test,  $p > 0.05$ ) (with the exception of a slightly lower value for *C. albatus*; *t*-test,  $p = 0.004$ ). This similarity in IR's among predator species suggests that prey ingestion rate cannot explain the differences in Cd accumulation rates that we observed among species in our Cd uptake experiment. To assess the influence of AE's, Cd efflux rates and larval growth rates on the differences we measured among *Chaoborus* species, we fit the following bioaccumulation model to our experimental data.

If we treat larvae as a single compartment and assume that their Cd uptake from water is negligible, as discussed above, we can express the rate of change in larval Cd concentrations as the difference between Cd entering and leaving larvae provided that we take into account Cd dilution due to animal growth (Thomann 1981), that is,

$$(1) \quad \frac{d[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}}{dt} = \underbrace{(\text{AE} \times \text{IR} \times [\text{Cd}]_{\text{Food}})}_{\text{Cd uptake from food}} - \underbrace{(k_e [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}})}_{\text{Cd loss by efflux}} - \underbrace{(k_g [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}})}_{\text{Cd dilution by growth}}$$

where AE is the Cd assimilation efficiency (g Cd retained·g<sup>-1</sup> Cd ingested), [Cd]<sub>Food</sub> and [Cd]<sub>Chaoborus</sub> (µg Cd·g<sup>-1</sup> d.w.) are the Cd concentrations in prey and in *Chaoborus* larvae, respectively, and  $k_e$  and  $k_g$  (d<sup>-1</sup>) are the rate constants for Cd efflux and animal growth, respectively.

Furthermore, we assumed that larval growth can be represented by the exponential function (Spacie and Hamelink 1985),

$$(2) \quad W = W_0 e^{k_g t}$$

where  $W_0$  is the initial weight (mg d.w.·larva<sup>-1</sup>) and  $t$  is time (d). We then used equation (2) and the integrated form of equation (1) to estimate for each *Chaoborus* species the rate constants  $k_e$  and  $k_g$  as well as the Cd assimilation efficiency, as described below.

First, we used equation (2) and our measurements of changes in larval mass during the Cd uptake experiment (Fig. 3a) to estimate, by nonlinear regression, values of  $W_0$  and the growth rate constant  $k_g$ . Values of  $k_g$  were highest for the large-bodied species but low or negligible for the small-bodied species (Table 3). Low  $k_g$  values are not surprising given the low temperature (5 °C) at which we conducted our experiments (Davies and Tribe 1969). Under similar feeding conditions but at higher temperatures,  $k_g$  values are substantially greater for these *Chaoborus* species (M.-N. Croteau, unpublished data). Our  $k_g$  values are in the range of those found for *C. punctipennis* (-0.001-0.020 d<sup>-1</sup>) by Munger et al. (2000) and for a variety of soil arthropods (0.003-0.027 d<sup>-1</sup>) by Crommentuijn et al. (1994). The fact that growth rate constants were higher for the large-bodied species suggests that this parameter cannot explain the higher increases in Cd concentrations of these species in our experiments; greater larval growth lowers Cd concentrations by dilution of the Cd in the added body tissues.

To estimate values of the Cd loss rate constant  $k_e$ , it was first necessary to estimate, by non-linear regression, values of the growth rate constant for the loss experiment ( $k_{g^*}$ , Table 3) using equation (2) and our measurements of changes in larval mass during the Cd loss experiment (Fig. 3b). We then assumed that Cd uptake was negligible during our Cd-loss experiment. This assumption is reasonable because we fed high-Cd *Chaoborus* larvae low-Cd prey; Cd concentrations in prey offered during the Cd loss experiment were 10 times lower than those offered during the Cd uptake experiment (Table 3). This assumption allowed us to simplify equation (1), which in its integrated form becomes

$$(3) \quad [Cd]_{Chaoborus} = [Cd]_{Chaoborus}^{0*} e^{-(k_{g^*} + k_e)t}$$

where  $[Cd]_{Chaoborus}^{0*}$  is the Cd concentration in larvae ( $\mu\text{g Cd}\cdot\text{g}^{-1}$  d.w.) at the beginning of the Cd-loss experiment. Using our measurements of Cd concentrations in *Chaoborus*

during the Cd-loss experiment (Fig. 4) and the  $k_g^*$  values from Table 3, we estimated the loss rate constant  $k_e$  by nonlinear regression (equation 3). The Cd loss rate constants for our four *Chaoborus* species (0.003 to 0.037 d<sup>-1</sup>, Table 3) are in the range of those reported for a variety of invertebrates, that is, 0.003 to 0.018 d<sup>-1</sup> for *C. punctipennis* (Munger et al. 1999), 0.012 d<sup>-1</sup> for mussels (Roditi and Fisher 1999) and 0.017 to 0.048 d<sup>-1</sup> for soil arthropods (Crommentuijn et al. 1994). Differences in the loss rate constant among species are reported to depend on the physiology of the species involved (Crommentuijn et al. 1994). The fact that *C. americanus* larvae had the highest Cd loss rate constant does not explain why they accumulated more Cd than did the small-bodied species in the Cd uptake experiment.

Using the values of  $k_g$  and  $k_e$  from Table 3, the IR's calculated daily for each *Chaoborus* larva of each species, as well as the mean daily Cd concentration measured in food offered during the uptake experiment, we estimated Cd assimilation efficiencies for the four species (Table 3) by fitting our data points (Fig. 5) to the integrated form of equation (1), that is,

$$(4) \quad [Cd]_{Chaoborus} = \frac{AE \times IR \times [Cd]_{Food}}{k_g + k_e} \left( 1 - e^{-(k_g + k_e) t} \right) + [Cd]_{Chaoborus}^0 e^{-(k_g + k_e) t}$$

For the overall mean Cd concentration in prey offered to *Chaoborus* ( $[Cd]_{Food}$ ), we used a value of  $10.6 \pm 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $\pm$  standard deviation) as given in Table 3. We note that this Cd concentration in prey is much higher than the highest Cd concentration that we measured in *Chaoborus* at the end of our uptake experiment, that is,  $1.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  for *C. americanus*. This apparent "biodilution" of Cd in our experimental food chain is reported to be common in nature (Hare 1992; Chen, C. Y. et al. 2000).

Cadmium assimilation efficiencies (AE) differed substantially among species (Table 3), which suggests that it is mainly this variable that explains the species differences in Cd accumulation during our uptake experiment. Assimilation efficiencies were lowest for the small-bodied species *C. albatrus* and *C. punctipennis* (6-7%, Table 3); the value for the latter species ( $\approx 6\%$ ) is within the range reported for this taxon by Munger et al. (1999) in a

field experiment (2-18%). The similarity of the Cd AE values for *C. albatrus* and *C. punctipennis* is consistent with their similarity in body size, morphology and migratory behaviour. Larvae of *C. flavicans*, although the largest in body size, had a somewhat lower AE (45%, Table 3) than *C. americanus* (58%, Table 3), the second largest of the four species. If species are ranked according to their gain in mass during our experiment there is a statistically significant ( $r^2 = 0.91$ ,  $p = 0.045$ ), relationship with their Cd AE (Fig. 6). A similar correlation between the assimilation of carbon and that of Cd by larvae has been reported for a bivalve by Wang and Fisher (1996).

The explanation for species differences in Cd AE's likely resides in differences among the taxa in the manner in which they consume, digest and assimilate prey. Species differences in Cd AE cannot be attributed to the degree to which they ingest prey either whole or in pieces (sloppy feeding) because: (1) we usually found prey whole, albeit crushed, in the guts of all *Chaoborus* species; (2) larval mouth parts are similar among species and do not appear to be designed to tear or dismember prey (Saether 1972); and (3) *Chaoborus* are reported to be gape-limited predators, which suggests that they eat prey whole (Hare and Carter 1987). Following ingestion, prey are crushed in the pharynx, which is facilitated in some *Chaoborus* species by a pair of large teeth on the pharyngeal sphincter. Differences in teeth structure among species are reported to be related to the hardness of their prey (Hare and Carter 1987). All of the species that we studied possess a similar pair of simple spines on the pharyngeal sphincter (similar to those illustrated for *Chaoborus ceratopogones* by Hare and Carter 1987), which suggests that differences in Cd AE among our *Chaoborus* species cannot be explained by this feature. After solid prey parts have been egested via the mouth, remaining liquids pass down the digestive tract where differences in residence time (Decho and Luoma 1991), enzyme efficiencies (Mayer et al. 1996; Chen, Z. et al. 2000) and both the number and the nature of Cd uptake sites in the gut (Hare 1992) could lead to differences in C and Cd assimilation efficiencies. Because information on these subjects is lacking for *Chaoborus*, we are unable to speculate further about the cause of the large differences in Cd AE among our study species.

We assumed that Cd uptake by *Chaoborus* larvae during our Cd loss experiment was negligible. We can test this assumption by using equation 1 and values found in both our Cd uptake (AE, IR, [Cd]<sub>Food</sub>, k<sub>g</sub>; Table 3) and loss (k<sub>e</sub>, k<sub>g</sub>\*, [Cd]<sup>0-10\*</sup><sub>Chaoborus</sub>; Table 3) experiments to estimate specific Cd uptake and loss rates during our Cd loss experiment. Excluding *C. flavicans* (which had a negative Cd loss rate), Cd uptake rates (calculated at both t = 0 and t = 10) were lower than Cd loss rates by a factor of from 12 to 55 times (Table 3), confirming that Cd uptake was negligible compared to Cd loss during our loss experiment. The negative Cd loss rate for *C. flavicans* is due to the combination of a very low k<sub>e</sub> value and weight gain by this species during the Cd loss experiment (Fig. 3b). Because the Cd uptake rates given in Table 3 suggest that all *Chaoborus* species accumulated some Cd during our Cd loss experiment, Cd loss rates for all species are likely underestimates.

#### Differences in Cd concentrations among *Chaoborus* species in the field

When Cd concentrations in *Chaoborus* larvae reach a steady state ([Cd]<sub>Chaoborus</sub>]<sub>ss</sub>), that is, when d[Cd]<sub>Chaoborus</sub>/dt equals zero, equation 1 becomes,

$$(5) \quad [\text{Cd}_{\text{Chaoborus}}]_{ss} = \frac{\text{AE} \times \text{IR} \times [\text{Cd}]_{\text{Food}}}{k_e + k_g}$$

Using the values of AE, IR, [Cd]<sub>Food</sub> and k<sub>g</sub> from the Cd uptake experiment as well as those of k<sub>e</sub> from the Cd loss experiment (Table 3), we estimated steady state values of 10.1, 4.5, 1.9 and 1.1 µg Cd g<sup>-1</sup> for *C. flavicans*, *C. americanus*, *C. punctipennis* and *C. albatius*, respectively. If we assume that in nature coexisting species feed on the same prey type at the same rate, as in our experiments, we would expect to observe the following patterns among *Chaoborus* species in the field. Firstly, Cd concentrations in the two small-bodied species (*C. punctipennis* and *C. albatius*) should be similar, which was the case in the four lakes in which they coexisted (Table 2). This similarity in Cd accumulation is likely explained in part by the similar morphology of these species, which are placed apart from the large-bodied species in the subgenus *Sayomyia* (Borkent 1979). These small-bodied species could be treated as a unit for Cd monitoring purposes. Secondly, our laboratory experiments would lead us to expect that Cd concentrations in *C. americanus* larvae would

exceed those of the two small-bodied species, which was the case in the 4 lakes in which these species coexisted (Table 2). Because of these differences, grouping the small- and large-bodied species together for biomonitoring purposes would likely reduce the accuracy of predictions, as we observed in our earlier studies (Croteau et al. 1998; Hare and Tessier 1998). Lastly, we would expect that Cd concentrations in *C. flavicans* larvae should exceed those of the three other species. This prediction was borne out in only four of our 12 study lakes (Table 2). Because of this departure from our expectations, it is likely that our assumption of similar Cd concentrations in the diets of *C. flavicans* and the other species is not tenable. Major differences in diet have been reported between sympatric populations of *C. flavicans* and *C. punctipennis* (Sardella and Carter 1983), but comparative dietary data on other coexisting species is lacking. Other biological differences among species, such as their migratory behaviour, could also influence their accumulation of Cd in nature. Among our study species, larvae of *C. americanus* spend all of their time in the warm epilimnion during summer. In contrast, the other species spend the day in the colder waters or sediment of the hypolimnion (to avoid fish predation) and migrate into warmer surface waters only at night to feed on zooplankton. Differences in the temperatures to which larvae of the various *Chaoborus* species are exposed could alter their metabolic rate, and their assimilation of Cd and carbon (Giguère and Dill 1980; Giguère 1981).

Overall, our experimental results suggest that even with the same food source Cd accumulation can differ substantially among *Chaoborus* species due in the main to differences in the efficiency with which they assimilate Cd from their food.

## Acknowledgements

Funding was provided by the U.S. Environmental Protection Agency, the Metals in the Environment Research Network (MITE-RN), the Ontario Power Generating Corporation, the Mining Association of Canada, Human Resources Development Canada, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, and the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. Technical assistance by M. G. Bordeleau, P. Fournier, P. Marcoux, R. Savard, S. St-Pierre and R. Rodrigue is acknowledged.

## References

- Borkent, A. 1979. Systematics and bionomics of the species of the subgenus *Schadonophasma* Dyar and Shannon (*Chaoborus*, Chaoboridae, Diptera). *Quaest. Entomol.* **15**: 122-255.
- Borkent, A. 1981. The distribution and habitat preferences of the Chaoboridae (Culicomorpha: Diptera) of the Holarctic region. *Can. J. Zool.* **59**: 122-133.
- Carignan, R., Rapin, R., and Tessier, A. 1985. Sediment pore-water sampling for metal analysis: A comparison of techniques. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **49**: 2493-2497.
- Chen, C. Y., Stemberger, R. S., Klaune, F., Blum, J. D., Pickhardt, P. C., and Folt, C. L. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1525-1536.
- Chen, Z., Mayer, L. M., Quénel, C., Donard, O. F. X., Self, R. F. L., Jumars, P. A., and Weston, D. P. 2000. High concentrations of complexed metals in the guts of deposit feeders. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1358-1367.
- Clarke, A. H. 1981. The freshwater molluscs of Canada. National Museum of Natural Sciences, Ottawa, Canada.
- Couillard, Y., Campbell, P. G. C., and Tessier, A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol. Oceanogr.* **38**: 299-313.
- Crommentuijn, T., Doodeman, C. J. A. M., Doornekamp, A., Van Der Pol, J. J. C., Bedaux, J. J. M., and Van Gestel, C. A. M. 1994. Lethal body concentrations and accumulation patterns determine time-dependent toxicity of cadmium in soil arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**: 1781-1789.
- Croteau, M.-N., Hare, L., and Tessier, A. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* **32**: 1348-1353.

- Davies, P. S., and Tribe, M. A. 1969. Temperature dependence of metabolic rate in animals. *Nature*, **224**: 723-724.
- Decho, A. W., and Luoma, S. N. 1991. Time-courses in the retention of food material in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: Significance to the absorption of carbon and chromium. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **78**: 303-314.
- Elder, J. F., and Collins, J. J. 1991. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **122**: 37-79.
- Fedorenko, A.Y., and Swift, M. C. 1972. Comparative biology of *Chaoborus americanus* and *Chaoborus trivittatus* in Eunice lake, British Columbia. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 721-730.
- Giguère, L. A. 1981. Food assimilation efficiency as a function of temperature and meal size in larvae of *Chaoborus trivittatus* (Diptera: Chaoboridae). *J. Anim. Ecol.* **50**: 103-109.
- Giguère, L. A., and Dill, L. M. 1980. Seasonal patterns of vertical migration: A model for *Chaoborus trivittatus*. In *Evolution and ecology of zooplankton community*. Edited by W. C. Kerfoot. Univ. Press of New England, Hanover. pp. 122-128.
- Hare, L. 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* **22**: 327-369.
- Hare, L., and Carter, J. C. H. 1987. Zooplankton populations and the diets of three *Chaoborus* species (Diptera, Chaoboridae) in a tropical lake. *Freshwat. Biol.* **17**: 275-290.
- Hare, L., and Campbell, P. G. C. 1992. Temporal variations of trace metals in aquatic insects. *Fresh. Biol.* **27**: 13-27.
- Hare, L., and Tessier, A. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature*, **380**: 430-432.
- Hare, L., and Tessier, A. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1850-1859.
- Langston, W. J., and Spence, S. K. 1995. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In *Trace metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Edited by A. Tessier and D. Turner. Wiley, New York. pp. 407-478.
- Larow, E. J., and Marzolf, G.R. 1970. Behavioral differences between 3rd and 4th instars of *Chaoborus punctipennis* Say. *Amer. Midland Naturalist.* **84**: 428-436.
- Mayer, L. M., Chen, Z., Findlay, R. H., Fang, J., Sampson, S., Self, R. F. L., Jumars, P. A., Quetel, C., and Donard, O. F. X. 1996. Bioavailability of sedimentary contaminants subject to deposit-feeder digestion. *Environ. Sci. Technol.* **30**: 2641-2645.
- Moore, M. V. 1988. Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. *Fresh. Biol.* **19**: 249-268.

- Munger, C., and Hare, L. 1997. Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): Implications for predicting Cd bioaccumulation in the field. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 891-895.
- Munger, C., and Hare, L. 2000. Influence of ingestion rate and food types on cadmium accumulation by the aquatic insect *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**: 327-332.
- Munger, C., Hare, L., and Tessier, A. 1999. Cadmium sources and exchange rates for *Chaoborus* larvae in the field. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1763-1771.
- Parma, S. 1971. The morphology of the larval instars of *Chaoborus flavicans* (Meigen, 1818) (Diptera, Chaoboridae). *Zool. Museum Univ. Amsterdam.* **18**: 173-181.
- Pennak, R. 1989. *Freshwater invertebrates of the United States*, 3<sup>rd</sup> ed. Wiley, New York.
- Phillips, D. J. H., and Rainbow, P.S. 1993. *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Elsevier, London.
- Rainbow, P.S., and Phillips, D. J. H. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* **26**: 593-601.
- Ritterhoff, J., and Zauke, G.-P. 1997. Trace metals in field samples of zooplankton from the Fram Strait and the Greenland Sea. *Sci. Total Environ.* **199**: 255-270.
- Roditi, H. A., and Fisher, N. S. 1999. Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1730-1749.
- Saether, O. A. 1972. Chaoboridae. *In Das Zooplankton der Binnengewässer. Edited by H. J. Elster and W. Ohle. E. Schweizerbart'sche, Stuttgart, Germany.* pp. 257-304.
- Sardella, L., and Carter, J.C.H. 1983. Factors contributing to coexistence of *Chaoborus flavicans* and *C. punctipennis* (Diptera, Chaoboridae) in a small meromictic lake. *Hydrobiologia* **107**: 155-164.
- Spacie, A., and Hamelink, J. L. 1985. Bioaccumulation, *In Fundamentals of aquatic toxicology. Edited by G. M. Rand and S. R. Petrocelli. Hemisphere Publishing, New York.* pp. 495-525.
- Thomann, R. V. 1981. Equilibrium model of fate of microcontaminants in diverse aquatic food chains. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **38**: 280-296.
- Wallace, W. G., and Lopez, G. R. 1996. Relationship between subcellular cadmium distribution in prey and cadmium trophic transfer to a predator. *Estuaries*, **19**: 923-930.
- Wang, W.-X., and Fisher, N. S. 1996. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition. *Limnol. Oceanogr.* **41**: 197-207.
- Yan, N. D., Nero, R. W., Keller, W., and Lasenby, D. C. 1985. Are *Chaoborus* larvae more abundant in acidified than in non-acidified lakes in central Canada? *Holarc. Ecol.* **8**: 93-99.

**Table 1.** Location of the lakes from which we collected final-instar *Chaoborus* larvae for the uptake and loss experiments as well as their mean ( $\pm$  standard deviation, S.D.) Cd concentrations. Also given are lakewater pH and total dissolved Cd concentration.

Lake (region)	Location	pH	[Cd] (nM)	<i>Chaoborus</i>	
				Species	Cd concentration ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{S.D.}$ )
<b><u>Cd uptake experiment</u></b>					
Bertrand (Québec City)	46°58'N, 72°01'W	5.01	0.36	<i>americanus</i>	1.44 $\pm$ 0.17
Laflamme (Québec City)	47°19'N, 71°07'W	6.71	0.09	<i>flavicans</i>	0.46 $\pm$ 0.02
Hélène (Rouyn-Noranda)	48°13'N, 79°10'W	7.76	0.06	<i>punctipennis</i>	0.18 $\pm$ 0.04
				<i>albatus</i>	0.22 $\pm$ 0.05
<b><u>Cd loss experiment</u></b>					
Turcotte (Rouyn-Noranda)	48°18'N, 79°04'W	5.26	8.06	<i>americanus</i>	14.4 $\pm$ 1.0
Caron (Rouyn-Noranda)	47°56'N, 78°58'W	7.18	0.82	<i>flavicans</i>	6.0 $\pm$ 1.0
Marlon (Rouyn-Noranda)	48°16'N, 79°04'W	7.48	1.08	<i>punctipennis</i>	4.9 $\pm$ 1.9
				<i>albatus</i>	3.2 $\pm$ 1.4

**Table 2.** Location of the study lakes and year of sampling as well as the Cd concentrations in final-instar *Chaoborus* larvae collected in the spring (May-June). Cd concentration values are means ( $\pm$  95% confidence interval) of usually several ( $n = 1-8$ ) samples of pooled final instar larvae (5-20 individuals per sample); NP, not present. Significant differences among means of sympatric species ( $p < 0.05$ ;  $t$ -test) are indicated by different superscript letters.

Region and lake	Location	Year	Chaoborus Cd concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )			
			<i>C. punctipennis</i>	<i>C. albatus</i>	<i>C. flavicans</i>	<i>C. americanus</i>
<b>Sudbury, Ontario</b>						
Crooked	46°25'N, 81°02'W	1997	3.2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	3.8	4.0 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	4.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Crowley	46°23'N, 80°59'W	1997	10.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	NP	8.6 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	NP
Forest	46°23'N, 81°00'W	1997	8.3 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	NP	4.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	NP
Hazen <sup>§</sup>	46°25'N, 80°59'W	1996	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP	1.6 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.6 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>
Johnny	46°26'N, 81°02'W	1997	11.9 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	NP	NP	13.6 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>
Pine <sup>§</sup>	46°22'N, 81°02'W	1996	3.9 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	3.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP	NP
Tilton	46°22'N, 81°04'W	1997	7.6 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	NP	6.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	NP
<b>Rouyn-Noranda, Québec</b>						
Bousquet	48°14'N, 78°34'W	1997	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP	3.0 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	NP
Caron	47°56'N, 78°58'W	1996	4.5 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	NP	7.4 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	NP
Desperiers <sup>§</sup>	48°11'N, 79°09'W	1996	1.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	NP	2.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	NP
Duprat	48°20'N, 79°08'W	1997	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP
Hélène <sup>¶</sup>	48°13'N, 79°10'W	1993	0.24 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	NP	NP
Joannès <sup>¶</sup>	48°11'N, 78°41'W	1992	2.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	NP	3.4 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	NP
Marlon	48°16'N, 79°04'W	1997	5.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	NP	NP
Surimeau <sup>§</sup>	48°08'N, 79°19'W	1996	2.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	NP	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	NP
Turcotte <sup>§</sup>	48°18'N, 79°04'W	1996	3.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	NP	NP	9.9 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>
Vaudray	48°07'N, 78°42'W	1997	2.9 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	NP	4.5 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	NP

<sup>¶</sup> Data from Hare and Tessier (1998)

<sup>§</sup> Data from Croteau et al. (1998)

**Table 3.** Values of Cd accumulation parameters measured ( $\pm$  95% confidence interval, C.I.) or estimated ( $\pm$  standard error, S.E.) from our experiments with the various *Chaoborus* species. Abbreviations with an asterisk refer to the Cd loss experiment. Significant differences among values ( $p < 0.05$ ;  $t$ -test) are indicated by different superscript letters. Also given are Cd exchange rates during our Cd loss experiment on the basis of parameter estimates at  $t = 0$  and  $t = 10$ .

PARAMETERS	Abbreviation or symbol	<i>C. punctipennis</i>	<i>C. albatus</i>	<i>C. flavicrus</i>	<i>C. americanus</i>
<b>CD UPTAKE EXPERIMENT</b>					
Initial <i>Chaoborus</i> weight (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>0</sub>	0.23 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n = 5)	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> (n = 5)	0.66 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup> (n = 5)	0.44 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup> (n = 5)
Initial <i>Chaoborus</i> Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sup>0</sup> <i>Chaoborus</i>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n = 5)	0.22 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> (n = 5)	0.46 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n = 5)	1.44 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup> (n = 5)
Mean prey Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Food</sub>	10.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (n = 49)			
Mean Ingestion Rate (g prey g <sup>-1</sup> predator d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	IR	0.052 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup> (n = 25)	0.038 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup> (n = 25)	0.057 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup> (n = 25)	0.046 $\pm$ 0.007 <sup>ab</sup> (n = 25)
Growth rate constant (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>g</sub>	0.0134 $\pm$ 0.0082 <sup>ab</sup> (n = 25)	-0.0012 $\pm$ 0.0092 <sup>b</sup> (n = 25)	0.0232 $\pm$ 0.0058 <sup>a</sup> (n = 25)	0.0253 $\pm$ 0.0046 <sup>a</sup> (n = 25)
Cd Assimilation Efficiency (%) ( $\pm$ S.E.)	AE	5.7 $\pm$ 1 <sup>a</sup> (n = 25)	6.9 $\pm$ 1 <sup>a</sup> (n = 25)	45 $\pm$ 4 <sup>b</sup> (n = 25)	58 $\pm$ 4 <sup>c</sup> (n = 25)
<b>CD LOSS EXPERIMENT</b>					
Initial <i>Chaoborus</i> weight (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>0</sub> *	0.22 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n = 5)	0.29 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n = 5)	0.61 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup> (n = 5)	0.24 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> (n = 5)
Initial <i>Chaoborus</i> Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sup>0</sup> * <i>Chaoborus</i>	8.29 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup> (n = 5)	7.07 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup> (n = 5)	4.95 $\pm$ 1.55 <sup>b</sup> (n = 5)	14.1 $\pm$ 2.05 <sup>c</sup> (n = 5)
Final <i>Chaoborus</i> Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sup>10</sup> * <i>Chaoborus</i>	8.78 $\pm$ 3.29 <sup>ac</sup> (n = 5)	4.63 $\pm$ 1.67 <sup>ab</sup> (n = 5)	4.92 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup> (n = 5)	8.90 $\pm$ 1.03 <sup>c</sup> (n = 5)
Mean prey Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Food</sub> *	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> (n = 36)			
Growth rate constant (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>g</sub> *	0.015 $\pm$ 0.0118 <sup>a</sup> (n = 55)	-0.0051 $\pm$ 0.0129 <sup>a</sup> (n = 54)	-0.0091 $\pm$ 0.0112 <sup>a</sup> (n = 55)	-0.0019 $\pm$ 0.0091 <sup>a</sup> (n = 55)
Loss rate constant (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>e</sub>	0.0029 $\pm$ 0.0164 <sup>a</sup> (n = 55)	0.0253 $\pm$ 0.0172 <sup>a</sup> (n = 54)	0.0038 $\pm$ 0.0090 <sup>a</sup> (n = 55)	0.0368 $\pm$ 0.0085 <sup>a</sup> (n = 55)
<b>CD EXCHANGE RATES (mg Cd g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)</b>					
<b>Cd loss experiment</b>					
• Cd uptake rate	UR	t <sub>0,10</sub> = 3.2	t <sub>0,10</sub> = 2.6	t <sub>0,10</sub> = 28	t <sub>0,10</sub> = 29
• Cd loss rate	LR	t <sub>0,10</sub> = 154, 163	t <sub>0,10</sub> = 143, 94	t <sub>0,10</sub> = -26	t <sub>0,10</sub> = 493, 344
• Net change in Cd	ΔCd	-160 to -151	-140 to -91	+54	-464 to -315

## Figure Captions

**Fig. 1.** Mean Cd concentrations (+ 95% confidence interval) in larvae of the four *Chaoborus* species, both soon after their capture for use in our Cd-loss experiment (gut contents present, open bars) and following a 24 h depuration period (gut contents absent, solid bars).

**Fig. 2.** Mean Cd contents (+ 95% confidence interval) in the gut (open bars) and remaining body parts (solid bars) of larvae of the four *Chaoborus* species.

**Fig. 3.** Temporal changes in the dry weight ( $\pm$  standard deviation) of (a) low-Cd *Chaoborus* species larvae that were exposed for 14 d to water and copepods (*ad libidum*) from a Cd-rich lake; (b) high-Cd *Chaoborus* species larvae that were exposed for 10 d to water and bulk zooplankton (*ad libidum*) from a low-Cd lake. Experimental data are represented by symbols, whereas lines represent model curves obtained with equation 2 and the parameters  $W_0$ ,  $W_0^*$ ,  $k_g$  and  $k_{g^*}$  given in Table 3. Triangles and circles indicate values for the small-bodied species (open for *C. punctipennis* and closed for *C. albatius*) and the large-bodied species (open for *C. americanus* and closed for *C. flavicans*), respectively.

**Fig. 4.** Temporal changes in the Cd concentration ( $\pm$  standard deviation) of high-Cd *Chaoborus* species larvae that were exposed for 10 d to water and bulk zooplankton (*ad libidum*) from a low-Cd lake. Experimental data are represented by symbols, whereas lines represent model curves obtained with equation 3 and the parameters  $k_e$ ,  $k_{g^*}$  and  $[Cd]^{0*}_{Chaoborus}$  given in Table 3. Triangles and circles indicate values for the small-bodied species (open for *C. punctipennis* and closed for *C. albatius*) and the large-bodied species (open for *C. americanus* and closed for *C. flavicans*), respectively.

**Fig. 5.** Temporal changes in the Cd concentrations of *Chaoborus* species larvae from a Cd-poor lake that were exposed for 14 d to water and copepods (*ad libidum*) from a Cd-rich lake. In (a) and (b), lines represent model curves (obtained with equation 4 and the

parameters AE, IR,  $W_0$ ,  $k_g$ ,  $k_e$  and  $[Cd]_{Chaoborus}^0$  given in Table 3) and symbols ( $\pm$  standard deviation) represent our experimental data. The data for *C. punctipennis* and *C. albatus* larvae are repeated in panel (b) with the scale on the vertical axis expanded. Triangles and circles indicate values for the small-bodied species (open for *C. punctipennis* and closed for *C. albatus*) and the large-bodied species (open for *C. americanus* and closed for *C. flavicans*), respectively.

**Fig. 6.** Cd assimilation efficiency (% ,  $\pm$  S.E., see also Table 3) of *Chaoborus* species larvae as a function of their increase in dry weight during a 14 d exposure to both Cd-contaminated food and water ( $r^2 = 0.91$ ,  $p = 0.045$ ).

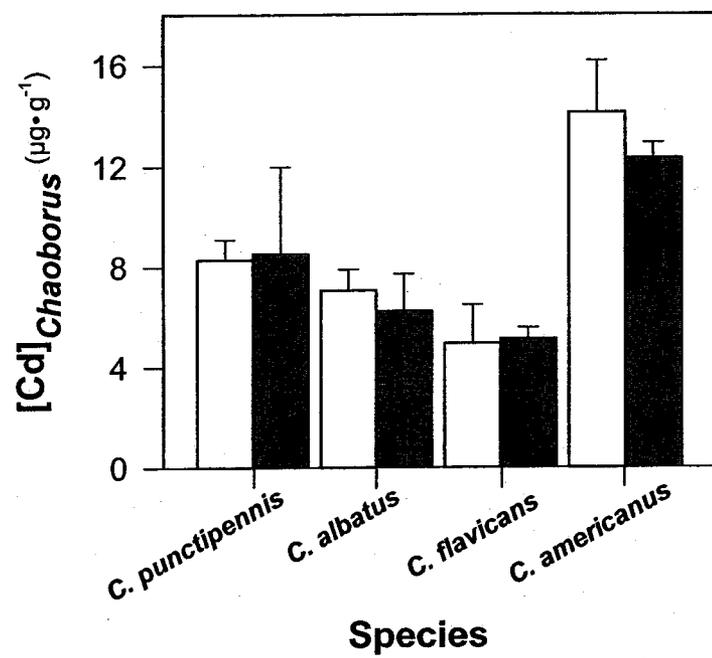


Figure 1.

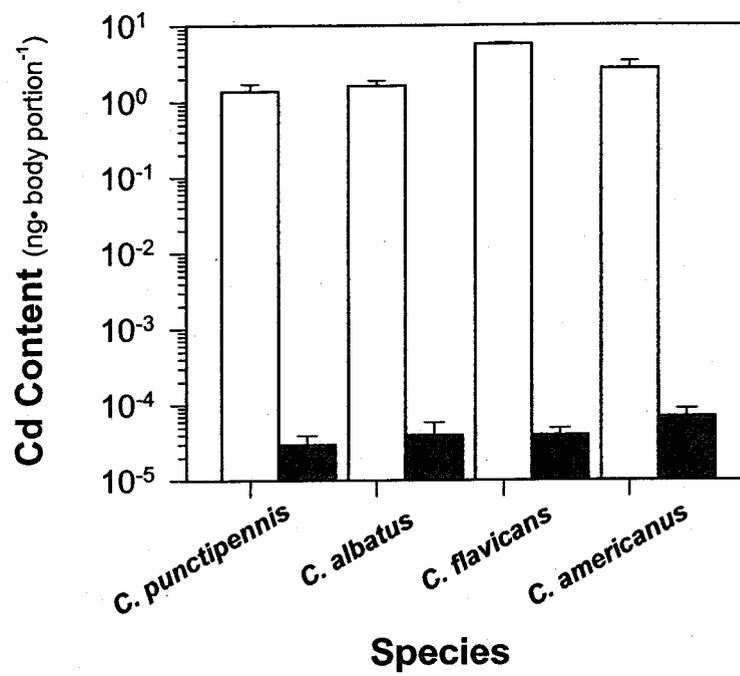


Figure 2.

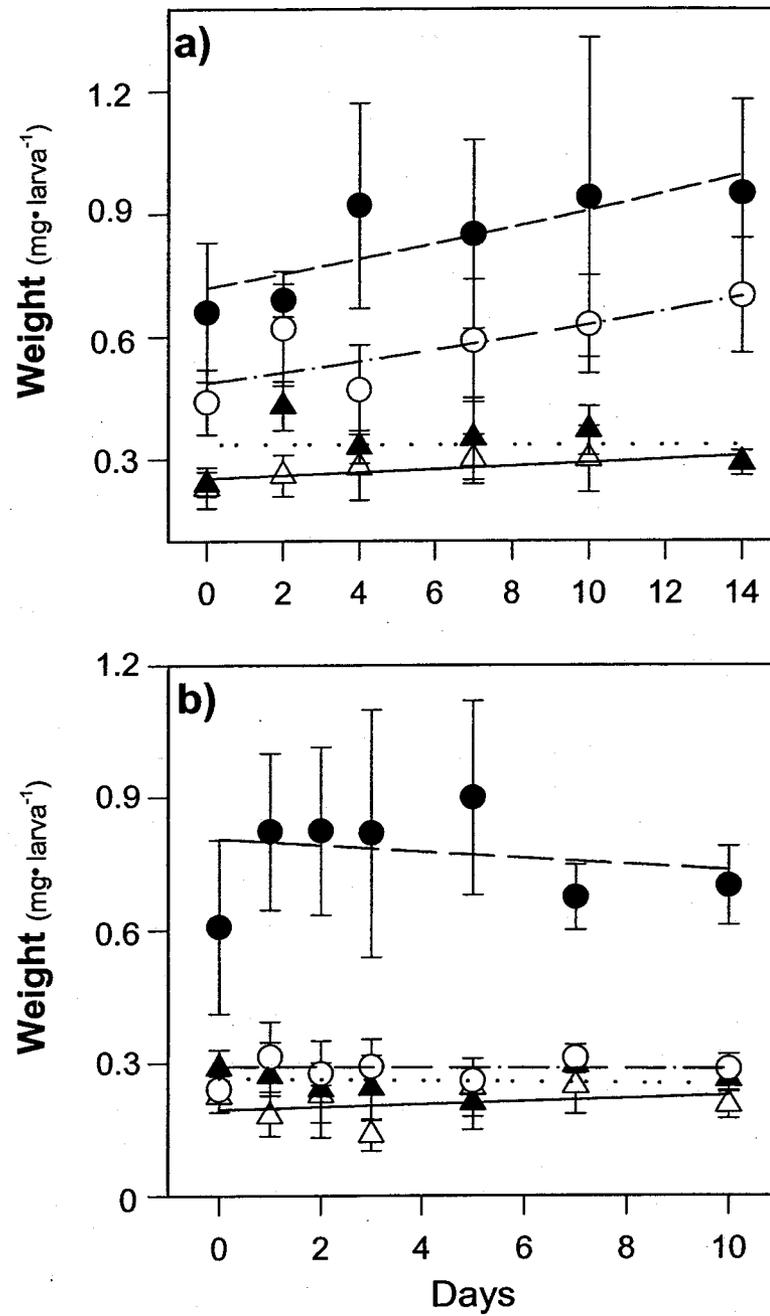


Figure 3.

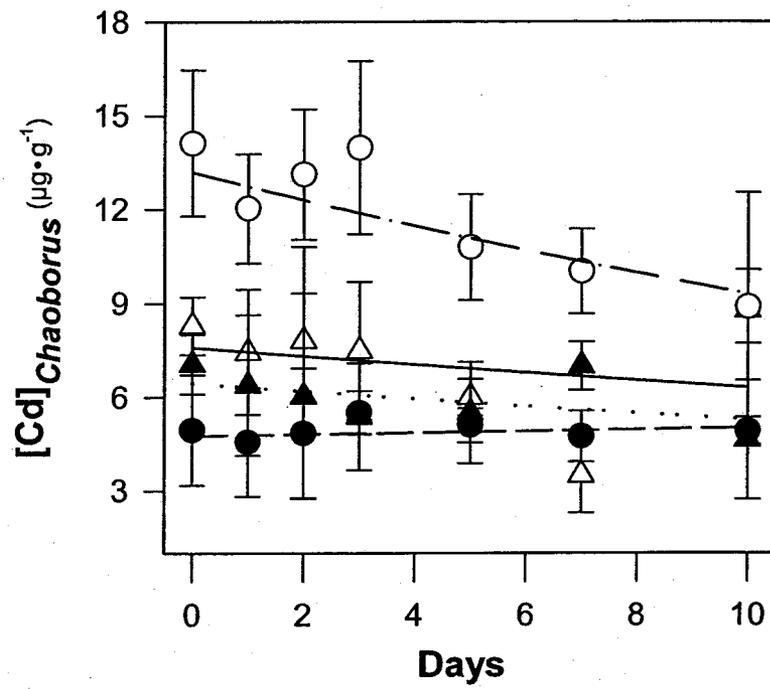


Figure 4.

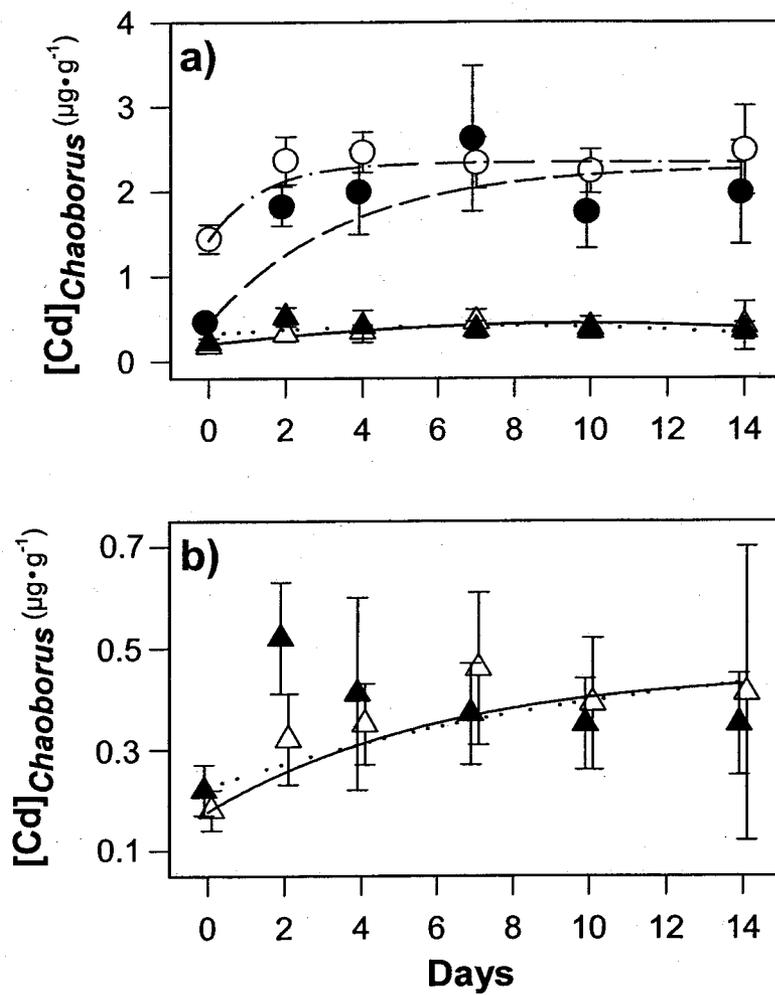


Figure 5.

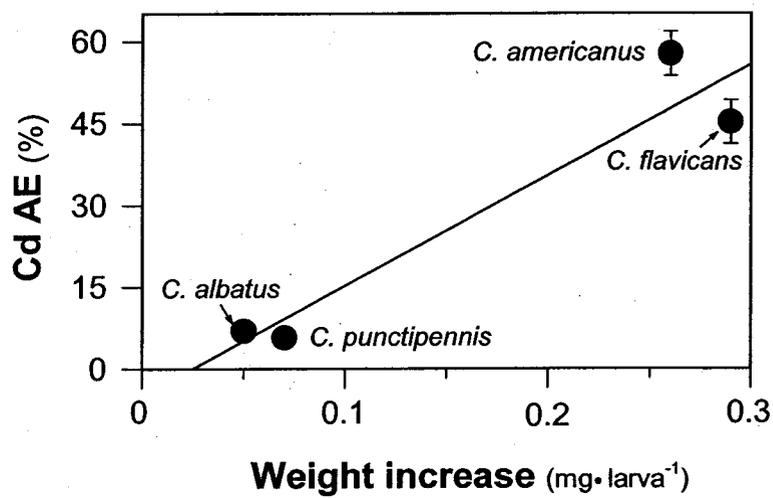


Figure 6.

## CHAPITRE 9.

---

### **Influence of temperature on Cd accumulation by species of the biomonitor *Chaoborus***

*Marie-Noële Croteau, Landis Hare<sup>ϕ</sup>, and André Tessier*

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

Published in *Limnology and Oceanography* 47: 505-514 (2002)

**Running head:** Temperature influence on Cd kinetics

---

<sup>ϕ</sup> Corresponding author, E-mail address: [landis@inrs-eau.quebec.ca](mailto:landis@inrs-eau.quebec.ca)

## Résumé

Nous avons exposé des larves de plusieurs espèces de *Chaoborus* au Cd afin de déterminer si les taux d'accumulation variaient selon la température d'exposition. Puisque la nourriture constitue la voie d'entrée majeure du Cd chez cette larve d'insecte, nous avons offert à *Chaoborus* des proies (i.e., copépodes) hautement contaminées en Cd provenant d'un lac situé près d'une fonderie. Nous avons mesuré les taux d'accumulation du Cd chez *Chaoborus americanus*, *Chaoborus flavicans* et *Chaoborus punctipennis* à 3 différentes températures (5, 14 et 22 °C), ces dernières représentatives de la gamme des températures retrouvées en milieu naturel. Nos résultats ont montré que le taux d'accumulation du Cd augmentait en fonction de la température pour toutes les espèces. Afin de déterminer les causes de cette accumulation accrue du Cd avec la température, nous avons appliqué à nos données expérimentales un modèle de bioaccumulation théorique qui nous permis d'estimer l'efficacité d'assimilation du Cd de même que les constantes de taux de perte en Cd et de taux de croissance. Nos résultats ont montré que la température influençait la prise en charge en du Cd mais non sa perte, i.e., les températures élevées stimuleraient l'ingestion de proies et augmenteraient l'efficacité d'assimilation du métal chez la plupart des espèces. La comparaison de nos résultats expérimentaux avec des données recueillies sur le terrain suggère que notre modèle de bioaccumulation fait adéquatement l'intégration des multiples processus impliqués dans la prise en charge et la perte du Cd en milieu naturel chez les larves de cet insecte aquatique.

## Abstract

We exposed larvae of several species of the phantom midge *Chaoborus* to the trace metal cadmium (Cd) to determine if Cd accumulation rates varied with ambient temperature. Because this predator is known to accumulate its Cd mainly from food rather than from water, we presented the Cd in food, that is, Cd-rich copepods taken from a lake near a metal smelter. Rates of Cd accumulation by larvae of *Chaoborus americanus*, *C. flavicans* and *C. punctipennis* were measured at three temperatures (5, 14 and 22 °C) covering the seasonal range encountered by these animals. The rates at which all species accumulated Cd increased with temperature. To explain these results, we fit our experimental data to a bioaccumulation model that allowed us to estimate Cd assimilation efficiency, Cd efflux rate and larval growth rate. Temperature-related changes in Cd accumulation rates were best explained by changes in the rate at which *Chaoborus* larvae ingested prey as well as the efficiency with which they assimilated Cd from their food. Neither the rate of larval growth nor the rate at which larvae lost Cd, was influenced by temperature. Extrapolations of our laboratory results to the field suggest that our model results provide a realistic representation of the processes involved in Cd accumulation by larvae of this common aquatic insect.

## Introduction

A rise in temperature generally increases the metabolic rate of animals (Robinson et al. 1983, Ratte 1985), which usually leads to an increase in the ingestion and assimilation of carbon and other essential elements (Heiman and Knight 1975, Giguère and Dill 1980, Gresens 2001). The concentrations of non-essential trace metals such as cadmium are also reported to rise in organisms with increasing ambient temperature (Douben 1989, Janssen and Bergema 1991, van Hattum et al. 1993, Bervoets et al. 1996), in part because these metals likely enter animals at uptake sites for essential metals such as calcium (Craig et al. 1998). Exceptionally, the opposite (e.g., Pb accumulation by *Asellus*; van Hattum et al. 1993) or no effect of temperature (e.g., Cd uptake by *Mytilus edulis*, Jackim et al. 1977) has occasionally been reported. Reports of temperature influencing metal bioaccumulation are generally not followed up with an identification of the biological processes responsible for the effect. Speculations to explain metal bioaccumulation-temperature interactions have included changes in the rates at which: food is ingested (Odin et al. 1994); water is passed over the gills (White and Rainbow 1984); metals cross biological membranes (Bervoets et al. 1996); and metal binding proteins are produced (Douben 1989). However, there are no published experimental studies explaining how temperature influences the trace metal accumulation by freshwater invertebrates. For soil-dwelling invertebrates, we found only one study that addressed this question (Janssen and Bergema 1991).

Cadmium is a toxic and carcinogenic trace metal that appears commonly on government priority-substances lists (for example, the Canadian Environmental Protection Act). This metal is released by mining, smelting and other industrial activities (Pacyna et al. 1995) into aquatic environments where it is accumulated by organisms (Hare 1992). To improve our ability to predict the impact of toxic trace metals such as cadmium, we need a better understanding of the processes controlling their accumulation by animals (Pace 2001).

We set out to study the influence of temperature on Cd accumulation by larvae of the phantom midge *Chaoborus*, a predatory insect proposed for use as a Cd biomonitor in lakes (Hare and Tessier 1996, Croteau et al. 1998). Because *Chaoborus* larvae take up Cd almost exclusively from their planktonic prey rather than from ambient water (Munger and

Hare 1997, Munger et al. 1999), we measured the influence of temperature on Cd uptake by larvae from their food. Using a model that takes into account key processes in metal uptake and loss, we quantified the rate at which this insect ingests its Cd-containing prey, the proportion of ingested Cd that is assimilated, the rate at which the animal loses its Cd, as well as the rate at which the insect grows. If temperature influences Cd concentrations in *Chaoborus* larvae, then study of these processes should help us to explain how such an effect occurs. Because metal concentrations can differ among congeners (Janssen and Bergema 1991, Ritterhoff and Zauke 1997, Croteau et al. 2001), we compared the influence of temperature on Cd accumulation by three species of the genus. Lastly, we compared our model predictions with Cd concentrations measured in field collected *Chaoborus*.

## Methods

We conducted experiments at three temperatures (5, 14 and 20 °C) encompassing the range likely to be encountered by *Chaoborus* larvae at various depths and in various seasons. Results for 14 and 20 °C are described herein and compared with those reported previously at 5 °C (Croteau et al. 2001). Because larvae used in our experiments at 14 and 20 °C were collected from lakes in the spring, just prior to adult emergence, whereas those studied at 5 °C were collected in autumn (Croteau et al. 2001), the latter were smaller and younger than the former. Although differences in the temperature and feeding histories of insects collected from various lakes in different seasons can influence their responses to temperature (Ward and Stanford 1982), such influences were unlikely to have had a major influence on our experiments. First, migratory *Chaoborus* larvae would have been exposed to a wide range of temperatures on a daily basis in all of our source lakes and, second, prey used in our experiments (copepods) were also the major micro-crustacean in the plankton of all source lakes (M.-N. Croteau, unpublished data).

We identified *Chaoborus* species using the keys in Saether (1972) and selected final (fourth) instar larvae on the basis of head capsule lengths as given in Larow and Marzolf (1970, *C. punctipennis*), Fedorenko and Swift (1972, *C. americanus*) and Parma (1971, *C. flavicans*). Collection of *C. americanus* yielded two body sizes of fourth instar larvae; we

selected only the smaller of the two sizes for our experiments both to minimise emergence during experimentation and to ensure that larvae of all species were of similar age (< 1 yr., Carter and Kwik 1977).

*Collection of water and invertebrates*—For our Cd uptake experiments, we collected larvae of the three *Chaoborus* species in late May 1999 from three low-Cd lakes, two of which were located near Québec City (Lakes Bertrand and Laflamme) and one in the Rouyn-Noranda region (Lake Hélène) upwind from a metals smelter (Table 1). For our Cd loss experiments, we collected larvae of the same *Chaoborus* species in early June 1999 from three high-Cd lakes located in the Rouyn-Noranda region downwind from the smelter (Lakes Caron, Marlon and Turcotte, Table 1). Larvae for these experiments were collected after sunset by hauling a 250- $\mu$ m plankton net horizontally in the water column.

Water samples were collected using *in situ* diffusion samplers (peepers) similar to those described by Croteau et al. (1998). These Plexiglas samplers comprise eight compartments of 4 ml each that were filled with ultrapure water (Milli-Q, > 18 M $\Omega$ -cm) and separated from lake water by a 0.2- $\mu$ m polysulfone membrane (Gelman HT-200). After preparation, each sampler was sealed in a clean plastic bag prior to its placement in a lake. Two diffusion samplers were suspended about 1 m above the bottom in the epilimnion of each lake and retrieved after a 3-d equilibration period. Samples (4 ml) for Cd analyses were removed from five compartments in each dialysis sampler by piercing the membrane with a pipette fitted with an acid-cleaned tip. These samples were injected into pre-acidified (53  $\mu$ l of 1.35 N Anachemia HNO<sub>3</sub>) high-density polyethylene bottles (HDPE, 4-ml capacity). On installation and retrieval dates, we measured pH in water samples collected with a van Dorn bottle at the depth of the diffusion samplers using a portable pH meter (Hanna instruments, Microprocessor model HI9024/HI9025).

We also collected *C. punctipennis* larvae and their potential copepod prey in the spring (May-June) of 1997 (most lakes) and 1998 (Lake Hélène) from a series of 8 additional lakes for measurement of Cd concentrations and comparison to model predictions (Table 2). These animals were selected under a microscope from several nighttime horizontal

plankton hauls in each lake. Pooled samples of 3-15 depurated *Chaoborus* larvae (single individuals from Lake Hélène) or 100-150 copepods were placed on preweighed acid-washed Teflon sheeting then frozen until analysis.

*Cd kinetics experiments*—Larvae of the three *Chaoborus* species were held individually in 30-ml HDPE bottles filled with filtered (64  $\mu\text{m}$ ) lake water for up to 14 days in the dark at either 14 or 22°C. In the Cd uptake experiment, Cd-poor larvae of each *Chaoborus* species were exposed to Cd-rich prey and water from Lake Marlon, whereas in the Cd-efflux experiment Cd-rich larvae of each species were exposed to Cd-poor prey and water from Lake Laberge (Table 1). In the Cd-efflux experiment, bulk zooplankton (mainly copepods) were offered in excess, whereas in the Cd-uptake experiment prey offered were the calanoid copepods *Skistodiaptomus oregonensis* LILLJEBORG ( $\approx 40\%$ ) and *Epischura lacustris* FORBES ( $\approx 60\%$ ). These copepods were composed mainly of adults ( $\approx 45\%$ ) and copepodite V's ( $\approx 55\%$ ), both of which should be eaten by all of the *Chaoborus* species because their mean body width ( $0.32 \pm 0.07$  (SD) mm) is less than the mouth size of the smallest study species (0.45 mm for fourth instar *C. punctipennis*, Moore 1988). In the Cd-uptake experiment, each *Chaoborus* larva was offered either 20 (for the small-bodied *C. punctipennis*) or 25 (for the large-bodied *C. americanus* and *C. flavicans*) fresh copepods daily, which is in excess of its needs (larvae consumed 20 to 80% of prey offered). We used naturally contaminated prey so that Cd accumulation by the predator would be representative of that which occurs in the field; the availability of Cd from food is reported to depend on the exposure history of the food particles (Wallace and Lopez 1996). Three samples of prey for Cd measurements were collected each day and stored on preweighed pieces of acid-washed Teflon sheeting in microcentrifuge tubes at  $-4^\circ\text{C}$  until analysis.

Both filtered lake water and prey were renewed daily by transferring each larva to a new bottle filled with freshly collected filtered lakewater and prey. In the Cd-uptake experiment, we preserved uneaten copepods in 5% formalin for later counting to determine daily ingestion rates for each *Chaoborus* larva. At each sampling time, five undepurated larvae of each *Chaoborus* species were frozen individually on pieces of preweighed acid-washed Teflon sheeting. Larvae were not given time to eliminate their gut contents because

a preliminary experiment conducted at 22 °C showed that there was no significant difference in Cd concentrations between *Chaoborus* larvae that were allowed to eliminate their gut contents for 1 d and those that were not (*t*-test,  $P > 0.05$ , data not shown). The duration of the experiments at 22 °C was generally shorter than those at 14 °C because of larval pupation at the higher temperature. Larval mortality rates were very low in all of our experiments (< 3%) and larvae consumed prey on all days suggesting that they were not overly stressed by the experimental conditions.

*Analyses*—To minimize inadvertent trace metal contamination, labware, water-sampling materials, vials and Teflon sheeting were soaked in 15% nitric acid and rinsed in ultrapure water prior to use. Total dissolved Cd concentrations were measured by flameless atomic-absorption spectrophotometry (AAS) (Perkin-Elmer model SIMAA 6000). Certified reference riverine water samples (National Research Council of Canada; SLRS-4, 1643d) were analyzed for Cd during each analytical run and measured trace metal concentrations were within the certified range. *Chaoborus* larvae and zooplankton samples were freeze-dried (FTS Systems<sup>TM</sup>), weighed (Mettler ME30 electronic micro-balance) and digested in concentrated nitric acid (Aristar grade). For invertebrate samples collected in 1997, digestions were carried out in thick-walled, screw-cap Teflon vials in an autoclave at 120 °C for 3 h. Cooled digested samples were diluted to volume with ultrapure water. All other samples were digested at room temperature in 4-ml HDPE vials with concentrated nitric acid (100 µl mg<sup>-1</sup> d.w.) for 7 d. Hydrogen peroxide (40 µl mg<sup>-1</sup> d.w.) was added 24 h prior to final dilution with ultrapure water (760 µl mg<sup>-1</sup> d.w.). Samples of similar weight of a certified reference material (lobster hepatopancreas, TORT-1, NRCC) were submitted to the same digestion procedure during each run. Cadmium concentrations in animals were analyzed by flameless AAS (Varian Spectra AA-30). Cadmium concentrations measured in TORT-1 were within the certified range and the recovery of Cd in spiked samples was within 10% of the amount added.

## Results

*Cadmium bioaccumulation model*—We fit our experimental data to a bioaccumulation model to estimate the efficiency with which a species assimilated Cd, the rate at which it lost Cd, as well as the rate at which larvae grew at each temperature. We treat larvae as a single compartment for the accumulation of Cd and assume that their Cd uptake from water is negligible (Munger and Hare 1997; Munger et al. 1999). We then express the rate of change in larval Cd concentrations as the difference between Cd entering and leaving larvae provided that we take into account Cd dilution due to animal growth (Thomann 1981), that is,

$$\frac{d[\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}}}{dt} = \underbrace{(\text{AE} \times \text{IR} \times [\text{Cd}]_{\text{Food}})}_{\text{Cd uptake from food}} - \underbrace{(k_e [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}})}_{\text{Cd loss by efflux}} - \underbrace{(k_g [\text{Cd}]_{\text{Chaoborus}})}_{\text{Cd dilution by growth}} \quad (1)$$

where AE is the Cd assimilation efficiency (g Cd retained·g<sup>-1</sup> Cd ingested), IR is the ingestion rate (g prey·g<sup>-1</sup> predator·d<sup>-1</sup>), [Cd]<sub>Food</sub> and [Cd]<sub>Chaoborus</sub> (μg Cd·g<sup>-1</sup> d.w.) are the Cd concentrations in prey and in *Chaoborus* larvae, respectively, and k<sub>e</sub> and k<sub>g</sub> (d<sup>-1</sup>) are the rate constants for Cd efflux and animal growth, respectively.

Furthermore, we assumed that larval growth can be represented by the exponential function (Spacie and Hamelink 1985),

$$W = W_0 e^{k_g t} \quad (2)$$

where W<sub>0</sub> is the initial weight (mg d.w.·larva<sup>-1</sup>) and t is time (d). We then used equation (2) and the integrated form of equation (1) to estimate for each *Chaoborus* species at each temperature, the rate constants k<sub>e</sub> and k<sub>g</sub> as well as the Cd assimilation efficiency, as described below.

First, we used equation (2) and our measurements of changes in larval mass during both the Cd uptake (Fig. 1A-C) and loss experiments (Fig. 2A-C) to estimate, by nonlinear regression, values of W<sub>0</sub> and the growth rate constants k<sub>g</sub> (uptake experiment, Table 3) and

$k_g^*$  (loss experiment, Table 4). Second, to estimate values of the Cd loss rate constant  $k_e$ , we assumed that Cd uptake was negligible during our Cd loss experiment. This assumption is reasonable because we fed high-Cd *Chaoborus* larvae low-Cd prey; Cd concentrations in prey offered during the Cd loss experiment ( $[Cd]_{Food}^*$ , Table 4) were 10 to 19 times lower than those offered during the Cd uptake experiment ( $[Cd]_{Food}$ , Table 3). This assumption allowed us to simplify equation (1), which in its integrated form becomes

$$[Cd]_{Chaoborus} = [Cd]_{Chaoborus}^0 e^{-(k_g^* + k_e)t} \quad (3)$$

where  $[Cd]_{Chaoborus}^0$  is the Cd concentration in larvae ( $\mu\text{g Cd}\cdot\text{g}^{-1}$  d.w.) at the beginning of the Cd loss experiment. Using our measurements of Cd concentrations in *Chaoborus* during the Cd loss experiment (Fig. 2D-F) and the  $k_g^*$  values from Table 4, we estimated the loss rate constant  $k_e$  by nonlinear regression (equation 3). Most of our  $k_e$  values (Table 4) fall in the range reported for *Chaoborus* larvae (0.003 to 0.037  $\text{d}^{-1}$ ; Munger et al. 1999, Croteau et al. 2001) and soil arthropods (0.007 to 0.202  $\text{d}^{-1}$ ; Janssen and Bergema 1991, Crommentuijn et al. 1994).

Third, using the values of  $k_g$  (Table 3) and  $k_e$  (Table 4), the ingestion rates calculated daily for each *Chaoborus* larva of each species, as well as the mean daily Cd concentration measured in food offered during the uptake experiment, we estimated the efficiency with which the various *Chaoborus* species assimilated Cd (AE, Table 3) at each temperature by fitting our data points (Fig. 1D-F) to the integrated form of equation (1), that is,

$$[Cd]_{Chaoborus} = \frac{AE \times IR \times [Cd]_{Food}}{k_g + k_e} \left( 1 - e^{-(k_g + k_e)t} \right) + [Cd]_{Chaoborus}^0 e^{-(k_g + k_e)t} \quad (4)$$

where we assume that AE, IR and  $[Cd]_{Food}$  are constant for each experiment. Cadmium concentrations in prey (9.5-14.5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Table 3) were higher than the highest Cd concentration that we measured in *Chaoborus* at the end of the uptake experiment conducted at 22 °C (i.e., 6.3  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  for *C. americanus*). Dilution of Cd along food chains is reported to be common in nature (Hare 1992, Chen C. Y. et al. 2000).

*Cadmium exchange rates*—To obtain equation 3, we assumed that Cd uptake by *Chaoborus* larvae during our Cd loss experiment was negligible. We tested this assumption by inserting in equation 1 the values for AE and IR (Table 3), as well as those for  $[Cd]_{Food^*}$ ,  $k_e$ ,  $k_g^*$  and  $[Cd]_{Chaoborus^*}$  (Table 4), to estimate Cd uptake and loss rates at the beginning and end of the Cd loss experiments. With the exception of *C. flavicans* (at 5 and 22 °C), Cd uptake rates were lower than Cd loss rates by approximately 5 to 50 times (Table 5). This result confirms that Cd uptake was negligible compared to Cd loss during most of our Cd loss experiments. The negative Cd loss rate for *C. flavicans* at 5 °C is due to the combination of a very low  $k_e$  value and weight gain by this species during the Cd loss experiment (Fig. 2B). Because the Cd uptake rates given in Table 5 suggest that all *Chaoborus* species accumulated some Cd during our Cd loss experiments, actual Cd loss rates could be slightly higher than those given in this table.

## Discussion

*Influence of temperature on Cd bioaccumulation rate*—The initial rate at which a given *Chaoborus* species accumulated Cd was directly related to the temperature at which it consumed its Cd-rich prey (Fig. 3), as were predator Cd concentrations at the end of our uptake experiments (Fig. 1D-F). Most metabolic, physiological and behavioral processes in insects (e.g., oxygen consumption, locomotion) show an approximately exponential dependency on temperature within the range tolerated by the animal (Hoffmann 1985). Likewise, metal concentrations in invertebrates are reported to increase with increasing temperature (Douben 1989, Janssen and Bergema 1991, van Hattum et al. 1993, Bervoets et al. 1996), although the reasons for such trends are usually unknown. Possible explanations for such temperature-controlled increases in metal content include declines in animal weight or metal efflux rate or increases in metal ingestion rate and assimilation efficiency. Below, we examine each of these possibilities to determine if they could explain the differences that we measured in the rate at which *Chaoborus* larvae accumulated Cd at various temperatures.

First, mean values of the growth rate constant  $k_g$  were higher at 22 °C than at the lower temperatures and these differences were significant for both *C. punctipennis* and *C. americanus* (*t*-test,  $P < 0.05$ , Table 3). Temperature is known to play a major role in regulating seasonal changes in the growth rates of aquatic insects (Ward and Stanford 1982). Because a higher growth rate would dilute accumulated Cd and thus, taken alone, would lead to a reduction rather than an increase in the rate of Cd accumulation by *Chaoborus*, this variable cannot explain the increase that we observed in the rate of larval Cd accumulation with increasing temperature (Fig. 3). The generally lower  $k_g$  values for larvae held at 14 °C compared to those held at 5 °C ( $k_g$ , Table 3) were unexpected because larvae at 14 °C ingested more prey than did those at 5 °C (IR, Table 3). The explanation for this apparent anomaly could lie in differences between larvae in their developmental state (Ward and Stanford 1982). Larvae exposed at 5 °C were collected in the autumn, whereas those exposed at 14 °C were collected in the spring just prior to pupation and emergence. *Chaoborus* larvae close to emergence are reported to be able to retard their rate of development if there is a small drop in ambient temperature, thereby reducing their risk of emerging during unfavorable conditions (Bradshaw 1973). In our study, larvae exposed to Cd in prey at 14 °C were collected from lakes in which the temperature of the epilimnion exceeded 14 °C at the time of our experiments.

Second, the Cd loss rate constants for our three *Chaoborus* species did not vary significantly with temperature ( $P > 0.05$ , Table 4). Thus, the greater Cd bioaccumulation rate that we observed with increasing temperature (Fig. 3) cannot be ascribed to a reduction in Cd losses at higher temperatures (equation 1). The similarity of the Cd loss rates among the three *Chaoborus* species suggests that their Cd is likely bound at the cellular level in a similar manner (Croteau et al. 2002). Cadmium loss rates for aquatic isopods (van Hattum et al. 1993) and soil mites (Janssen and Bergema 1991) are also reported to remain constant over a range of temperatures. In contrast, Cd loss rates have been observed to increase with increasing temperature in some fish (Douben 1989) and terrestrial collembolans (Janssen and Bergema 1991).

Third, the rate at which larvae of each *Chaoborus* species ingested prey during our Cd uptake experiments showed a significant increase with increasing temperature ( $P < 0.05$ , Fig. 4). Several previous studies have shown that invertebrates ingest more food at higher than at lower temperatures (Heiman and Knight 1975, Ward and Stanford 1982). Thus for all *Chaoborus* species, an increase in prey ingestion explains in part their increased rate of Cd accumulation at higher temperatures.

Lastly, *C. punctipennis*, the smallest of our study species (the weight of sympatric larvae at pupation is consistently in the order *C. americanus* > *C. flavicans* > *C. punctipennis*), assimilated Cd with greater efficiency at higher temperatures (Table 3) suggesting that this variable explains in part the increase in this species' Cd accumulation rate with rising temperature (Fig. 3). Increases in the efficiency of digestive processes, for example, enzyme activity (Mayer et al. 1996; Chen, Z. et al. 2000), or the transfer rate of Cd across the gut membrane (Bervoets et al. 1996), or both, could explain an increase in metal assimilation efficiency at higher temperatures. In contrast, Cd assimilation efficiencies of the large-bodied species *C. flavicans* and *C. americanus* did not show a consistent increase with temperature (Table 3). Cadmium assimilation efficiencies of the small-bodied species were significantly less ( $P < 0.05$ , *t*-tests) than those of the two large bodied species for 5 of the 6 species-temperature combinations (Table 3). Likewise, in our earlier study (Croteau et al. 2001), the Cd assimilation efficiencies of another small-bodied species (*Chaoborus albatus*) were lower than those of the large-bodied species studied herein. Suggested explanations for these differences among *Chaoborus* species were differences in: the residence time of gut contents (Decho and Luoma 1991); enzyme efficiencies (Mayer et al. 1996; Chen, Z. et al. 2000); and the number and nature of Cd uptake sites in the gut (Hare 1992).

Overall, our experimental results suggest that increases in both the rate of prey ingestion and the efficiency with which Cd was assimilated by larvae combined to produce the higher Cd accumulation rates that we measured with increasing temperature for all *Chaoborus* species. In contrast, our experimental results suggest that neither the rate of larval growth nor the rate at which larvae lose Cd is influenced by temperature.

*Predicting Cd accumulation in Chaoborus populations in the field* — Because conditions in the laboratory differ from those in the field and because the feeding and temperature histories of insects can influence their responses in experiments (Ward and Stanford 1982), we compared predictions based on the model parameters extracted from our experimental data to measurements of steady state Cd concentrations in *Chaoborus* larvae,  $[Cd_{Chaoborus}]_{ss}$ , collected from a variety of lakes. When  $d[Cd]_{Chaoborus} / dt$  equals zero, equation 1 becomes,

$$[Cd_{Chaoborus}]_{ss} = \frac{AE \times IR \times [Cd]_{Food}}{k_e + k_g} \quad (5)$$

Using the values of AE, IR,  $[Cd]_{Food}$  and  $k_g$  from the Cd uptake experiment (Table 3) as well as those of  $k_e$  from the Cd loss experiment (Table 4), we estimated steady state values for the three *Chaoborus* species at 5 and 22 °C. Steady state values at 14 °C were not estimated because we doubt the accuracy of the  $k_g$  values for this experiment (as discussed above). Estimated steady state Cd concentrations ( $\mu\text{g Cd g}^{-1}$ ) for larvae feeding on prey used in our experiments increased between 5 and 22 °C for all *Chaoborus* species, that is, 2 and 8 for *C. punctipennis*, 4.5 and 12 for *C. americanus* and 10 and 15 for *C. flavicans*, respectively. Cadmium concentrations measured in *C. punctipennis* larvae exposed to these and other prey in nature ( $5 \mu\text{g g}^{-1}$  for larvae from Lake Marlon; epilimnion at 15 °C) fall within the range predicted for this species (2 - 8  $\mu\text{g Cd g}^{-1}$ ). Predicted steady state Cd concentrations were consistently ordered among species such that at a given temperature those of *C. punctipennis* should be lowest and those of *C. flavicans* should be highest in lakes where these larvae consume the same types and densities of prey that we used in our experiments.

We can further test the reliability of model predictions by using, in equation 5, measurements of Cd concentrations in copepods collected from other lakes (Table 2) to determine if the Cd concentrations measured in *C. punctipennis* larvae from these lakes fall within the expected range. Measured Cd values in larvae fell within the range expected in 6 of 8 lakes (Fig. 5), suggesting that the model adequately represents reality in field populations feeding on a variety of prey types. For the two lakes where model predictions

fell outside of the expected range, it is likely that the predator feeds on prey different from those that we collected in these lakes. This supposition is supported by the fact that Cd concentrations in *Chaoborus* larvae from these lakes greatly exceeded those in sympatric copepods (Table 2), in spite of the fact that concentrations of this metal generally decline at higher levels in aquatic food chains (Hare 1992, C.Y. Chen et al. 2000).

On the one hand, if we extrapolate the direct effect of temperature on Cd bioaccumulation that we observed in the laboratory to insects in a given lake, we might expect that larvae spending the summer in the epilimnion, for example, *C. americanus*, would accumulate more Cd than larvae such as *C. punctipennis* and *C. flavicans* that spend the day in cooler deeper waters and move into warmer surface waters only at night to feed on zooplankton. On the other hand, our results also suggest that such comparisons among sympatric *Chaoborus* species should take into account larval body size because Cd assimilation efficiency appears to differ between small- and large-sized species. Furthermore, because *Chaoborus* species differ in the types of prey that they consume (Hare & Carter 1987), and prey types can differ in their Cd content (Yan et al. 1990, Chen, C.Y. et al. 2000), these factors also likely have to be considered to accurately predict Cd in larvae of various sympatric *Chaoborus* species (for example, Lakes Forest and Bousquet in Fig. 5).

Over time in a given lake, both temperature and the types and densities of prey available to *Chaoborus* larvae vary (Goldman and Horne 1983, Yan et al. 1990). The Cd content of organisms in the food web leading to *Chaoborus* will also vary because of seasonal changes in Cd bioavailability due, for example, to changes in lakewater pH during snowmelt (Croteau et al. unpublished results). The result of such temporal changes, including temperature, are likely to be seasonal variations in *Chaoborus* Cd concentrations, as have been reported for larvae of *C. punctipennis* (Hare and Campbell 1992). Among insect generations, lake warming due to longer-term fluctuations in weather (Yan et al. 1996) or climate also could influence animal metal concentrations (Moore et al. 1997).

Comparing among lakes, our laboratory results suggest that larvae inhabiting warm shallow lakes should accumulate more Cd than those inhabiting deeper colder lakes. However, because prey types and densities also vary among lakes of different temperature

and depth (Auclair et al. 1993) such variables might also have to be considered to predict Cd in a given *Chaoborus* species. In spite of such potential complexity, measurements made in the spring in 23 lakes situated over a large geographical area indicated that Cd concentrations in *C. punctipennis* larvae can be predicted with a fair degree of certainty from Cd concentrations in lakewater (Hare and Tessier 1996, 1998). This relationship allows *Chaoborus* larvae to be used as a biomonitor to estimate biologically meaningful Cd concentrations in lakes. However, some uncertainty remains in the relationship between *Chaoborus* and lakewater Cd that could potentially be resolved by taking into account differences in the temperature (this study) and prey populations (M.-N. Croteau unpublished data) among lakes.

### *Acknowledgments*

Funding was provided by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Metals In The Environment Research Network, the Ontario Power Generation, the Mining Association of Canada, Human Resources Development Canada, and the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. Technical assistance by M. G. Bordeleau, M.-R. Doyon, P. Fournier, S. Fournier, P. Marcoux, R. Savard, N. Simard, S. St-Pierre and R. Rodrigue is acknowledged.

## References

- AUCLAIR, J.-C., J. J. FRENETTE, AND J. DODSON. 1993. Zooplankton community structure in southwestern Québec lakes: the roles of acidity and predation. *J. Plankton Res.* **15**: 1103-1128.
- BERVOETS, L., R. BLUST, AND R. VERHEYEN. 1996. Effect of temperature on cadmium and zinc uptake by the midge larvae *Chironomus riparius*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **31**: 502-511.
- BRADSHAW, W. E. 1973. Homeostasis and polymorphism in vernal development of *Chaoborus americanus*. *Ecology* **54**: 1247-1259.
- CARTER, J. C. H., AND J. K. KWIK, 1977. Instar succession, vertical distribution, and interspecific competition among four species of *Chaoborus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **34**: 113-118.
- CHEN, C. Y., R. S. STEMBERGER, F. KLAUNE, J. D. BLUM, P. C. PICKHARDT, AND C. L. FOLT. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1525-1536.
- CHEN, Z., L. M. MAYER, C. QUÉTEL, O. F. X. DONARD, R. F. L. SELF, P. A. JUMARS, AND D. P. WESTON. 2000. High concentrations of complexed metals in the guts of deposit feeders. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1358-1367.
- CRAIG, A., L. HARE, P.-M. CHAREST, AND A. TESSIER. 1998. Effect of exposure regime on the internal distribution of cadmium in *Chironomus staegeri* larvae (Insecta, Diptera). *Aquat. Toxicol.* **41**: 265-275.
- CROMMENTUIJN, T., C. J. A. M. DOODEMAN, A. DOORNEKAMP, J. J. C. VAN DER POL, J. J. M. BEDAUX, AND C. A. M. VAN GESTEL. 1994. Lethal body concentrations and accumulation patterns determine time-dependent toxicity of cadmium in soil arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**: 1781-1789.
- CROTEAU, M.-N., L. HARE, AND A. TESSIER. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* **32**: 1348-1353.
- 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.
- CROTEAU, M.-N., L. HARE, P. G. C. CAMPBELL, AND Y. COUILLARD. 2002. Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*; occurrence and relationship to ambient metal concentrations in lakes. *Environ. Toxicol. Chem.* **21**: in press.

- DECHO, A.W., AND S. N. LUOMA. 1991. Time-courses in the retention of food material in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: significance to the absorption of carbon and chromium. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **78**: 303-314.
- DOUBEN, P. E. T. 1989. Uptake and elimination of waterborne cadmium by the fish *Noemacheilus barbatulus* L. (Stone loach). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **18**: 576-586.
- FEDORENKO, A. Y., AND M. C. SWIFT. 1972. Comparative biology of *Chaoborus americanus* and *Chaoborus trivittatus* in Eunice lake, British Columbia. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 721-730.
- GIGUÈRE, L. A., AND L. M. DILL. 1980. Seasonal patterns of vertical migration: A model for *Chaoborus trivittatus*. p. 122-128. In W. C. Kerfoot [ed.], *Evolution and ecology of zooplankton community*. Univ. Press of New England.
- GOLDMAN, C.R., AND A. J. HORNE. 1983. *Limnology*. McGraw-Hill.
- GRESENS, S. E.. 2001. Thermal sensitivity of ingestion and digestion in larvae of a eurythermal chironomid. *J. N. Amer. Benthol. Soc.* **20**: 68-83.
- HARE, L. 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* **22**: 327-369.
- HARE, L., AND J. C. H. CARTER. 1987. Zooplankton populations and the diets of three *Chaoborus* species (Diptera, Chaoboridae) in a tropical lake. *Freshwat. Biol.* **17**: 275-290.
- HARE, L., AND P. G. C. CAMPBELL. 1992. Temporal variations of trace metals in aquatic insects. *Freshwat. Biol.* **27**: 13-27.
- HARE, L., AND A. TESSIER. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* **380**: 430-432.
- HARE, L., AND A. TESSIER. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1850-1859.
- HEIMAN, D. R., AND A. W. KNIGHT. 1975. The influence of temperature on the bioenergetics of the carnivorous stonefly nymph, *Acroneuria californica* BANKS (Plecoptera: Perlidae). *Ecol.* **56**: 105-116.
- HOFFMANN, K. H. 1985. Metabolic and enzyme adaptation to temperature, p. 1-32. In K. H. Hoffmann [ed.], *Environmental physiology and biochemistry of insects*. Springer-Verlag.
- JACKIM, E., G. MORRISON, AND R. STEELE. 1977. Effects of environmental factors on radiocadmium uptake by four species of marine bivalves. *Mar. Biol.* **40**: 303-308.

- JANSSEN, M. P. M. AND W. F. BERGEMA. 1991. The effect of temperature on cadmium kinetics and oxygen consumption in soil arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.* **10**: 1493-1501.
- LAROW, E. J., AND G. R. MARZOLF. 1970. Behavioral differences between 3rd and 4th instars of *Chaoborus punctipennis* Say. *Amer. Midland Naturalist* **84**: 428-436.
- MAYER, L. M., Z. CHEN, R. H. FINDLAY, J. FANG, S. SAMPSON, R. F. L. SELF, P. A. JUMARS, C. QUETEL, AND O. F. X. DONARD. 1996. Bioavailability of sedimentary contaminants subject to deposit-feeder digestion. *Environ. Sci. Technol.* **30**: 2641-2645.
- MOORE, M. V. 1988. Differential use of food resources by the instars of *Chaoborus punctipennis*. *Freshwat. Biol.* **19**: 249-268.
- MOORE, M.V., M.L. PACE, J.R. MATHER, P.S. MURDOCH, R.W. HOWARTH, C.L. FOLT, C.Y. CHEN, H.F. HEMOND, P.A. FLEBBE, AND C.T. DRISCOLL. 1997. Potential effects of climate change on freshwater ecosystems of the New England/Mid-Atlantic Region. *Hydrological Processes* **11**: 925-947.
- MUNGER, C., AND L. HARE. 1997. Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): Implications for predicting Cd bioaccumulation in the field. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 891-895.
- MUNGER, C., L. HARE, AND A. TESSIER. 1999. Cadmium sources and exchange rates for *Chaoborus* larvae in the field. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1763-1771.
- ODIN, M., A. FEURTET-MAZEL, F. RIBEYRE, AND A. BOUDOU. 1994. Actions and interactions of temperature, pH and photoperiod on mercury bioaccumulation by nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia rigida*, from sediment contamination source. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**: 1291-1302.
- PACE, M. L. 2001. Prediction and the aquatic sciences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**: 63-72.
- PACZYNA, J. M., M. T. SCHOLTZ, AND Y.-F. LI. 1995. Global budget of trace metal sources. *Environ. Rev.* **3**: 145-159.
- PARMA, S. 1971. The morphology of the larval instars of *Chaoborus flavicans* (Meigen, 1818) (Diptera, Chaoboridae). *Zool. Museum Univ. Amsterdam.* **18**: 173-181.
- RATTE, H. T. 1985. Temperature and insect development, p. 33-66. *In* K. H. Hoffmann [ed.], *Environmental physiology and biochemistry of insects*. Springer-Verlag.
- RITTERHOFF, J., AND G.-P. ZAUKE. 1997. Trace metals in field samples of zooplankton from the Fram Strait and the Greenland Sea. *Sci. Total Environ.* **199**: 255-270.
- ROBINSON, W. R., R. H. PETERS, AND J. ZIMMERMANN. 1983. The effects of body size and temperature on metabolic rate of organisms. *Can. J. Zool.* **61**: 281-288.

- SAETHER, O. A. 1972. Chaoboridae, p. 257-304. *In* H. J. Elster and W. Ohle [eds.], Das Zooplankton der Binnengewässer, part 1. E. Schweizerbart'sche.
- SPACIE, A., AND J. L. HAMELINK. 1985. Bioaccumulation, p. 495-525. *In* G. M. Rand and S. R. Petrocelli [eds.], Fundamentals of aquatic toxicology. Hemisphere Publishing.
- THOMANN, R. V. 1981. Equilibrium model of fate of microcontaminants in diverse aquatic food chains. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **38**: 280-296.
- VAN HATTUM, B., G. KORTHALS, N. M. VAN STRAALLEN, H. A. J. GOVERS, AND E. N. G. JOOSSE. 1993. Accumulation patterns of trace metals in freshwater isopods in sediment bioassays – Influence of substrate characteristics, temperature and pH. *Water Res.* **27**: 669-684.
- WALLACE, W. G., AND G. R. LOPEZ. 1996. Relationship between subcellular cadmium distribution in prey and cadmium trophic transfer to a predator. *Estuaries* **19**: 923-930.
- WARD, J. V., AND J. A. STANFORD. 1982. Thermal responses in the evolutionary ecology of aquatic insects. *Ann. Rev. Entomol.* **27**: 97-117.
- WHITE, S. L., AND P. S. RAINBOW. 1984. Regulation of zinc concentration by *Palaemon elegans* (Crustacea: Decapoda): Zinc flux and effects of temperature, zinc concentration and moulting. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **16**: 135-147.
- YAN, N. D., G. L. MACKIE, AND P. J. DILLON. 1990. Cadmium concentrations of crustacean zooplankton of acidified and nonacidified Canadian shield lakes. *Environ. Sci. Technol.* **24**: 1367-1372.
- YAN, N. D., W. KELLER, N. M. SCULLY, D. R. S. LEAN, AND P. J. DILLON. 1996. Increased UV-B penetration in a lake owing to drought-induced acidification. *Nature* **381**: 141-143.

**Table 1.** Location of lakes from which we collected water or final-instar *Chaoborus* larvae or both for the uptake and loss experiments. Also given is lakewater pH as well as mean larval and total dissolved Cd concentrations ( $\pm$  SD,  $n = 10$  except for lake Caron where  $n = 5$ ).

Lake (region)	Location	pH	[Cd] (nM)	<i>Chaoborus</i>	
				Species	Cd concentration ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S.D.}$ )
<b><u>Low Cd lakes</u></b>					
Bertrand (Quebec City)	46°58'N, 72°01'W	4.8	0.35 $\pm$ 0.09	<i>americanus</i>	1.14 $\pm$ 0.19
Hélène (Rouyn-Noranda)	48°13'N, 79°10'W	8.0	0.09 $\pm$ 0.02	<i>punctipennis</i>	0.05 $\pm$ 0.04
Laberge (Quebec City)	46°35'N, 71°20'W	8.2	0.24 $\pm$ 0.12	(not found)	---
Laflamme (Quebec City)	47°19'N, 71°07'W	6.0	0.26 $\pm$ 0.07	<i>flavicans</i>	0.29 $\pm$ 0.12
<b><u>High Cd lakes</u></b>					
Caron (Rouyn-Noranda)	47°56'N, 78°58'W	6.8	0.93 $\pm$ 0.05	<i>flavicans</i>	6.01 $\pm$ 1.04
Marlon (Rouyn-Noranda)	48°16'N, 79°04'W	7.2	1.10 $\pm$ 0.05	<i>punctipennis</i>	4.93 $\pm$ 1.85
Turcotte (Rouyn-Noranda)	48°18'N, 79°04'W	5.1	16.2 $\pm$ 1.1	<i>americanus</i>	14.4 $\pm$ 1.01

**Table 2.** Location of lakes from which we collected final-instar *C. punctipennis* larvae and copepod prey for comparison with model predictions. Cadmium concentrations in invertebrates ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) are means ( $\pm$  SD) of several samples ( $n = 1-5$ ) of pooled individuals.

Lake	Location	Cd concentration ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S.D.}$ )	
		<i>C. punctipennis</i>	copepods
Bousquet	48°14'N, 78°34'W	2.0 $\pm$ 0.2	0.99 $\pm$ 0.1
d'Alembert	48°23'N, 79°01'W	2.3	3.1 $\pm$ 0.4
Duprat	48°20'N, 79°07'W	1.4 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1
Flavrian	48°18'N, 79°11'W	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>†</sup>	2.0
Forest	46°23'N, 81°00'W	8.3 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.04
Hélène	48°14'N, 78°34'W	0.13 $\pm$ 0.02	1.1 $\pm$ 0.2
La Bruère	48°10'N, 78°57'W	1.7 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.5
Vaudray	48°07'N, 78°42'W	2.9 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.2

<sup>†</sup> *Chaoborus albatus*

**Table 3.** Mean values for the three *Chaoborus* species of model parameters measured ( $\pm$  95% CI) or estimated ( $\pm$  SE) from our Cd uptake experiments. Significant differences among temperatures ( $P < 0.05$ ;  $t$ -test) are indicated by different superscript letters. Values for 5 °C are from Croteau et al. (2001).

Parameter	Abbreviation or symbol	SPECIES	TEMPERATURE		
			5°C	14°C	22°C
Initial <i>Chaoborus</i> weight (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>0</sub>	<i>C. punctipennis</i>	0.23 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n=5)	0.46 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> (n=5)	0.32 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup> (n=5)
		<i>C. flavicans</i>	0.66 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup> (n=5)	0.97 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup> (n=5)	1.06 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup> (n=4)
		<i>C. americanus</i>	0.44 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> (n=5)	0.55 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> (n=5)	0.55 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> (n=5)
Final <i>Chaoborus</i> weight (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>Final</sub>	<i>C. punctipennis</i>	0.29 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> (n=5)	0.35 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup> (n=5)	0.41 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup> (n=3)
		<i>C. flavicans</i>	0.95 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup> (n=5)	0.82 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup> (n=4)	1.23 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup> (n=3)
		<i>C. americanus</i>	0.70 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> (n=5)	0.54 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup> (n=4)	1.34 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup> (n=3)
Initial <i>Chaoborus</i> Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Chaoborus</sub> <sup>i</sup>	<i>C. punctipennis</i>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n=5)	0.07 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup> (n=5)	0.05 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup> (n=5)
		<i>C. flavicans</i>	0.46 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> (n=5)	0.33 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> (n=5)	0.29 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> (n=4)
		<i>C. americanus</i>	1.44 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup> (n=5)	1.14 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup> (n=5)	1.14 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup> (n=5)
Final <i>Chaoborus</i> Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Chaoborus</sub> <sup>final</sup>	<i>C. punctipennis</i>	0.41 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> (n=5)	2.89 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup> (n=5)	5.35 $\pm$ 3.22 <sup>b</sup> (n=3)
		<i>C. flavicans</i>	1.98 $\pm$ 0.53 <sup>a</sup> (n=5)	6.38 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup> (n=4)	5.18 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup> (n=3)
		<i>C. americanus</i>	2.48 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup> (n=5)	5.91 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup> (n=4)	6.29 $\pm$ 0.83 <sup>b</sup> (n=3)
Prey Cd concentration ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Food</sub>	<i>C. punctipennis</i>	10.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (n=49)	14.5 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup> (n=42)	10.5 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup> (n=30)
		<i>C. flavicans</i>	10.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (n=49)	14.5 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup> (n=42)	9.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> (n=18)
		<i>C. americanus</i>	10.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (n=49)	14.5 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup> (n=42)	12.5 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup> (n=42)
Ingestion Rate (g prey g <sup>-1</sup> predator d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	IR	<i>C. punctipennis</i>	0.052 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup> (n=25)	0.103 $\pm$ 0.018 <sup>b</sup> (n=23)	0.216 $\pm$ 0.038 <sup>c</sup> (n=18)
		<i>C. flavicans</i>	0.057 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup> (n=25)	0.108 $\pm$ 0.012 <sup>b</sup> (n=21)	0.147 $\pm$ 0.030 <sup>c</sup> (n=13)
		<i>C. americanus</i>	0.046 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup> (n=25)	0.133 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup> (n=24)	0.165 $\pm$ 0.014 <sup>c</sup> (n=22)
Growth rate constant (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>g</sub>	<i>C. punctipennis</i>	0.0134 $\pm$ 0.0082 <sup>a</sup> (n=25)	-0.0039 $\pm$ 0.0134 <sup>b</sup> (n=28)	0.0352 $\pm$ 0.0081 <sup>b</sup> (n=23)
		<i>C. flavicans</i>	0.0232 $\pm$ 0.0058 <sup>a</sup> (n=25)	-0.0088 $\pm$ 0.0054 <sup>b</sup> (n=26)	0.0429 $\pm$ 0.0249 <sup>b</sup> (n=17)
		<i>C. americanus</i>	0.0253 $\pm$ 0.0046 <sup>a</sup> (n=25)	0.0030 $\pm$ 0.0153 <sup>b</sup> (n=29)	0.0557 $\pm$ 0.0041 <sup>c</sup> (n=29)
Cd Assimilation Efficiency (%) ( $\pm$ S.E.)	AE	<i>C. punctipennis</i>	5.7 $\pm$ 1 <sup>a</sup> (n=30)	12 $\pm$ 1 <sup>b</sup> (n=28)	39 $\pm$ 3 <sup>c</sup> (n=23)
		<i>C. flavicans</i>	45 $\pm$ 4 <sup>a</sup> (n=30)	26 $\pm$ 2 <sup>b</sup> (n=26)	75 $\pm$ 2 <sup>c</sup> (n=17)
		<i>C. americanus</i>	58 $\pm$ 4 <sup>a</sup> (n=30)	18 $\pm$ 1 <sup>b</sup> (n=29)	40 $\pm$ 2 <sup>c</sup> (n=27)

**Table 4.** Mean values for the three *Chaoborus* species of model parameters measured ( $\pm$  95% CI) or estimated ( $\pm$  SE) from our Cd loss experiments. Significant differences among temperatures ( $P < 0.05$ ;  $t$ -test) are indicated by different superscript letters. Values for 5 °C are from Croteau et al. (2001).

Parameter	Abbreviation or symbol	SPECIES	TEMPERATURE		
			5°C	14°C	22°C
<b>Initial <i>Chaoborus</i> weight</b> (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>0</sub> *	<i>C. punctipennis</i>	0.22 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> (n=5)	0.40 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup> (n=4)	0.40 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup> (n=4)
		<i>C. flavicans</i>	0.61 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup> (n=5)	1.25 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup> (n=3)	1.25 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup> (n=3)
		<i>C. americanus</i>	0.24 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> (n=5)	0.46 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> (n=5)	0.46 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> (n=5)
<b>Final <i>Chaoborus</i> weight</b> (mg larva <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	W <sub>Final</sub> *	<i>C. punctipennis</i>	0.20 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> (n=5)	0.62 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup> (n=4)	0.62 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup> (n=4)
		<i>C. flavicans</i>	0.70 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> (n=5)	1.52 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup> (n=2)	1.34 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup> (n=2)
		<i>C. americanus</i>	0.29 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> (n=5)	0.73 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup> (n=3)	0.90 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup> (n=3)
<b>Initial <i>Chaoborus</i> Cd concentration</b> ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>0</sub> <sup>Chaoborus*</sup>	<i>C. punctipennis</i>	8.29 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup> (n=5)	4.93 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup> (n=4)	4.93 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup> (n=4)
		<i>C. flavicans</i>	4.95 $\pm$ 1.55 <sup>a</sup> (n=5)	6.01 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup> (n=3)	6.01 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup> (n=3)
		<i>C. americanus</i>	14.1 $\pm$ 2.05 <sup>a</sup> (n=5)	14.4 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup> (n=5)	14.4 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup> (n=5)
<b>Final <i>Chaoborus</i> Cd concentration</b> ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Final</sub> <sup>Chaoborus*</sup>	<i>C. punctipennis</i>	8.78 $\pm$ 3.29 <sup>a</sup> (n=5)	2.91 $\pm$ 1.78 <sup>b</sup> (n=4)	1.63 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup> (n=4)
		<i>C. flavicans</i>	4.92 $\pm$ 0.38 <sup>ab</sup> (n=5)	4.12 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup> (n=2)	5.30 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup> (n=2)
		<i>C. americanus</i>	8.90 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup> (n=5)	8.30 $\pm$ 4.13 <sup>a</sup> (n=3)	7.67 $\pm$ 3.44 <sup>a</sup> (n=3)
<b>Prey Cd concentration</b> ( $\mu$ g g <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ 95% C.I.)	[Cd] <sub>Food</sub> *	<i>C. punctipennis</i>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> (n=36)	0.66 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n=42)	0.62 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup> (n=21)
		<i>C. flavicans</i>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> (n=36)	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n=30)	0.61 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n=15)
		<i>C. americanus</i>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> (n=36)	0.66 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n=42)	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> (n=30)
<b>Growth rate constant</b> (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>g</sub> *	<i>C. punctipennis</i>	0.0150 $\pm$ 0.0118 <sup>a</sup> (n=55)	0.0276 $\pm$ 0.0078 <sup>ab</sup> (n=31)	0.0700 $\pm$ 0.0270 <sup>b</sup> (n=22)
		<i>C. flavicans</i>	-0.0091 $\pm$ 0.0112 <sup>a</sup> (n=55)	0.0261 $\pm$ 0.0074 <sup>b</sup> (n=27)	0.0226 $\pm$ 0.0301 <sup>ab</sup> (n=18)
		<i>C. americanus</i>	-0.0019 $\pm$ 0.0091 <sup>a</sup> (n=55)	0.0359 $\pm$ 0.0055 <sup>b</sup> (n=38)	0.0850 $\pm$ 0.0075 <sup>c</sup> (n=32)
<b>Loss rate constant</b> (d <sup>-1</sup> ) ( $\pm$ S.E.)	k <sub>e</sub>	<i>C. punctipennis</i>	0.0029 $\pm$ 0.0164 <sup>a</sup> (n=55)	0.0031 $\pm$ 0.0151 <sup>a</sup> (n=31)	0.0760 $\pm$ 0.0510 <sup>a</sup> (n=22)
		<i>C. flavicans</i>	0.0038 $\pm$ 0.0090 <sup>a</sup> (n=55)	0.0111 $\pm$ 0.0083 <sup>a</sup> (n=27)	-0.0014 $\pm$ 0.0198 <sup>a</sup> (n=18)
		<i>C. americanus</i>	0.0368 $\pm$ 0.0085 <sup>a</sup> (n=55)	0.0007 $\pm$ 0.0099 <sup>b</sup> (n=38)	0.0134 $\pm$ 0.0158 <sup>ab</sup> (n=32)

**Table 5.** Cadmium exchanges rates during our Cd loss experiments calculated using equation 1 and the model parameters AE, IR,  $[Cd]_{Food}$  and  $k_g$  (Table 3), as well as  $k_e$  (Table 4) at either the beginning ( $t_0$ ) or the end ( $t_{final}$ ) of our experiments. The duration of each experiment is given in parentheses. Values for 5 °C are from Croteau et al. (2001).

Cd exchange rate (ng Cd g <i>Chaoborus</i> <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Temperature	<i>C. punctipennis</i>		<i>C. flavicans</i>		<i>C. americanus</i>	
		$t_0$	$t_{final}$	$t_0$	$t_{final}$	$t_0$	$t_{final}$
• Cd uptake rate	5 °C	3	3	28	28	29	29
• Cd loss rate		154	163 (10d)	-26	-26 (10d)	493	344 (10d)
• Cd uptake rate	14 °C	8	8	18	18	16	16
• Cd loss rate		151	89 (14d)	224	153 (10d)	526	304 (14d)
• Cd uptake rate	22 °C	52	52	67	67	42	42
• Cd loss rate		720	238 (7d)	127	112 (5d)	1413	755 (10d)

## Figure Captions

**Figure 1.** Temporal changes in (A, C and D) mean ( $\pm$  SD) dry weight and (D, E and F) mean ( $\pm$  SD) Cd concentration of low-Cd *Chaoborus* species larvae that were exposed for from 6 to 14 d to water and copepods (*ad libidum*) from a Cd-rich lake. Experimental data are represented by symbols, whereas lines represent model curves obtained to describe either (A, B and C) changes in larval weight, using equation 2 and the parameters  $W_0$  and  $k_g$  given in Table 3, or (D, E and F) changes in larval Cd concentration using equation 4 and the parameters AE, IR,  $W_0$ ,  $k_g$ ,  $k_e$  and  $[Cd]_{Chaoborus}^0$  given in Tables 3 and 4.

**Figure 2.** Temporal changes (mean  $\pm$  SD) in (A, B and C) dry weights and (D, E and F) Cd concentrations of high-Cd *Chaoborus* larvae that were exposed for 7 to 10 d to water and bulk zooplankton (*ad libidum*) from a low-Cd lake. Experimental data are represented by symbols, whereas lines represent model curves obtained to describe either changes in larval weight (A, B and C), using equation 2 and the parameters  $W_{0^*}$  and  $k_{g^*}$  given in Table 4, or changes in larval Cd concentration (D, E and F) using equation 3 and the parameters  $k_e$ ,  $k_{g^*}$  and  $[Cd]_{Chaoborus^*}^0$  given in Tables 3 and 4.

**Figure 3.** Changes in initial cadmium accumulation rates as a function of temperature for the three *Chaoborus* species. Values were calculated for the beginning of the uptake experiments ( $t = 0$ ) using equation 1 and the parameters AE, IR,  $[Cd]_{Food}$  and  $[Cd]_{Chaoborus}^0$  given in Table 3 as well as  $k_e$  given in Table 4.

**Figure 4.** Ingestion rates (mean  $\pm$  95% CI) as a function of temperature for the three *Chaoborus* species during our Cd uptake experiments. Significant differences both among temperatures and *Chaoborus* species ( $P < 0.05$ , *t*-tests) are indicated by different letters.

**Figure 5.** Measured Cd concentrations in final instar larvae of *Chaoborus punctipennis* from 8 Canadian Shield lakes compared with values predicted at 5 and 22 °C that were obtained using equation 5 and the parameters AE, IR,  $k_g$  (Tables 3) and  $k_e$  (Table 4) from

---

our experiments and measurements of Cd in copepods from these lakes (Table 2). Temperatures in the epilimnion of the 8 lakes were between 5 and 22 °C at the time of sampling. Data for Lake Flavrian are for the closely related *Chaoborus albatus*.



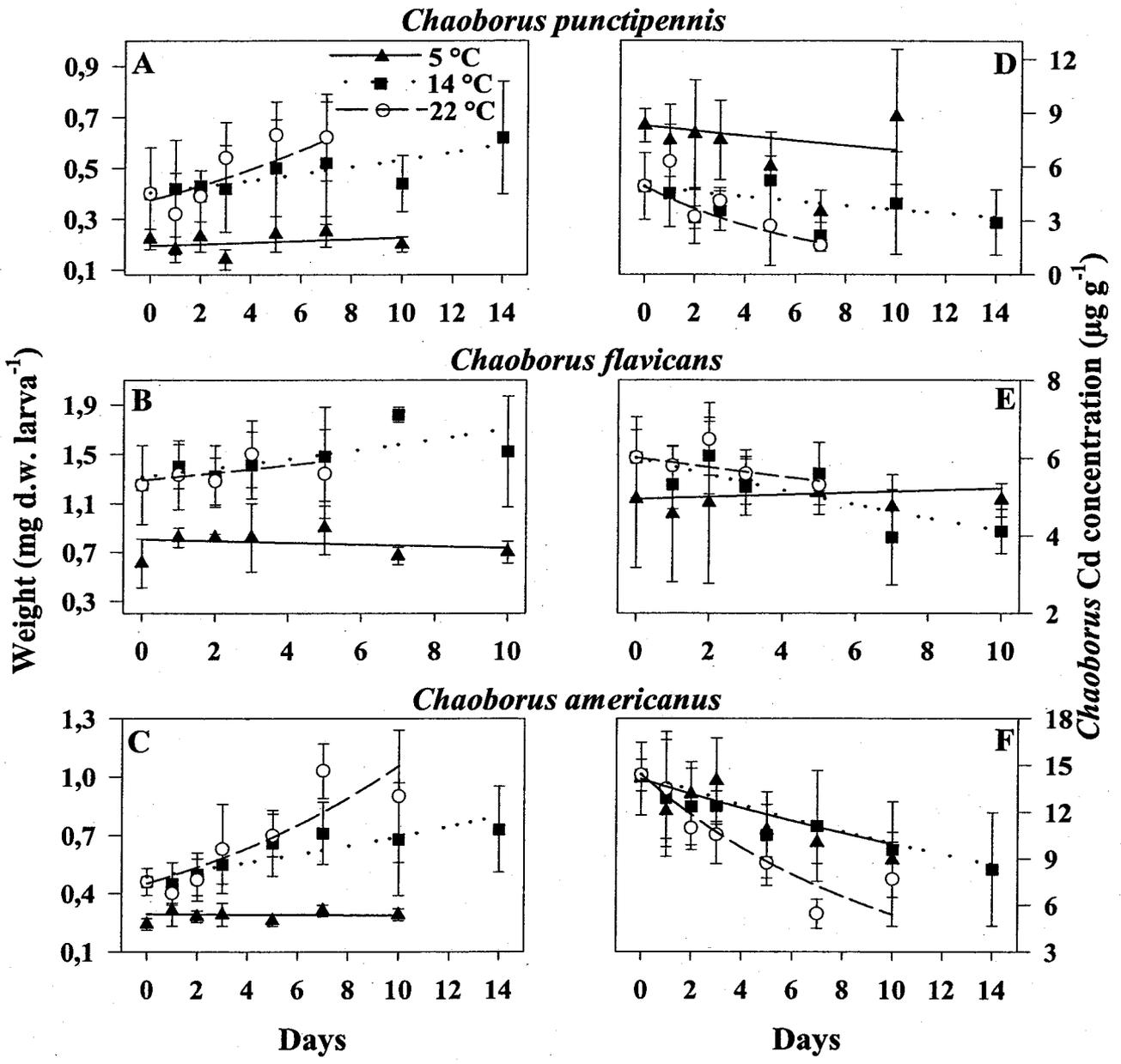


Figure 2. Croteau et al. 2001

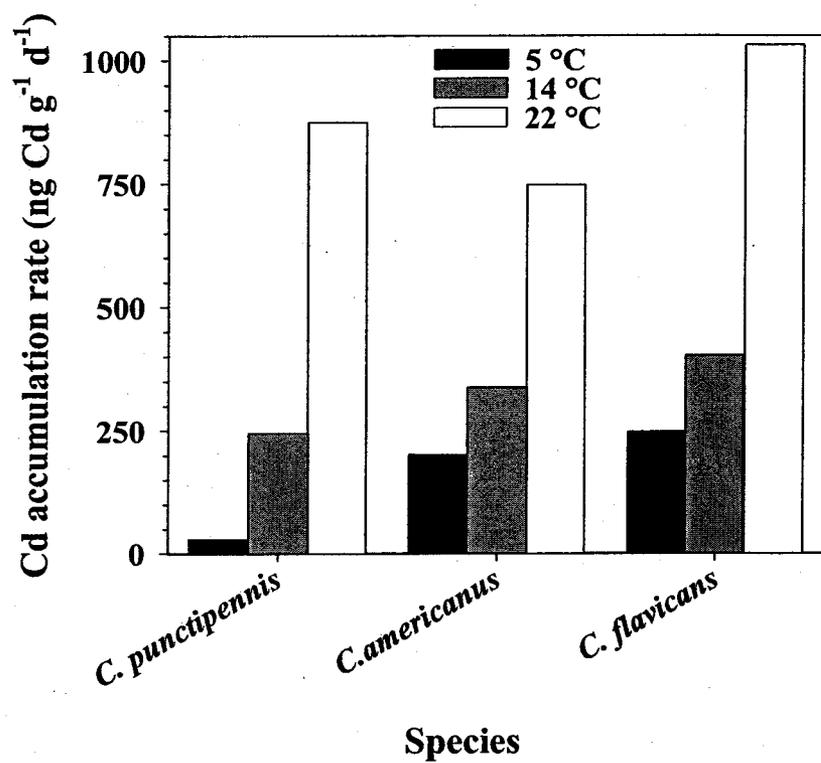


Figure 3. Croteau et al. 2001

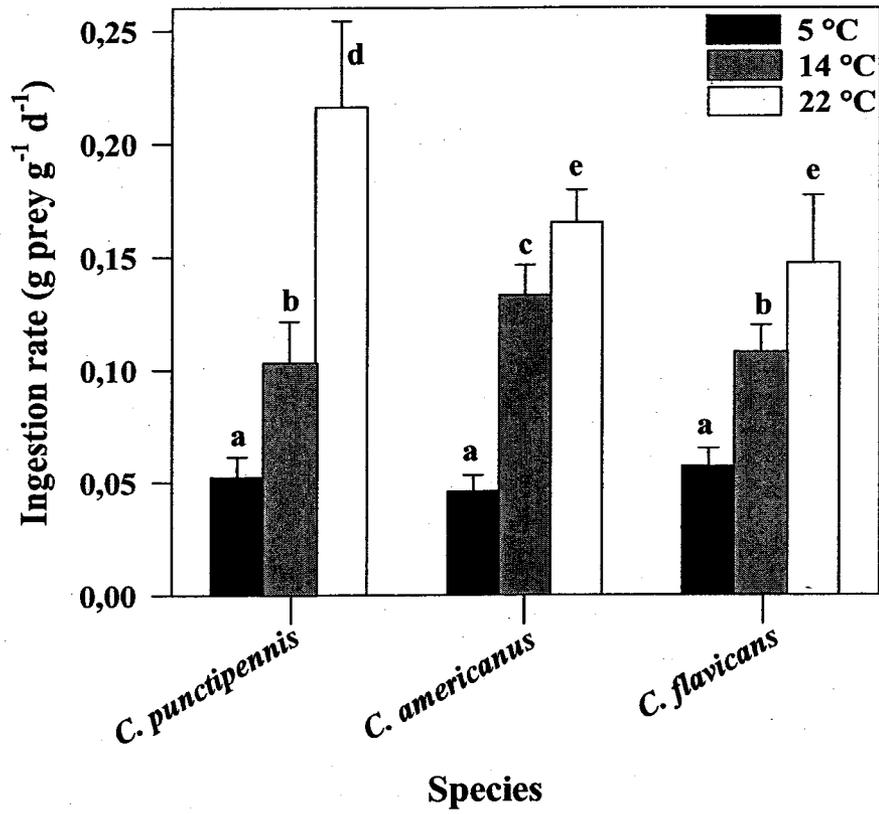


Figure 4. Croteau et al. 2001

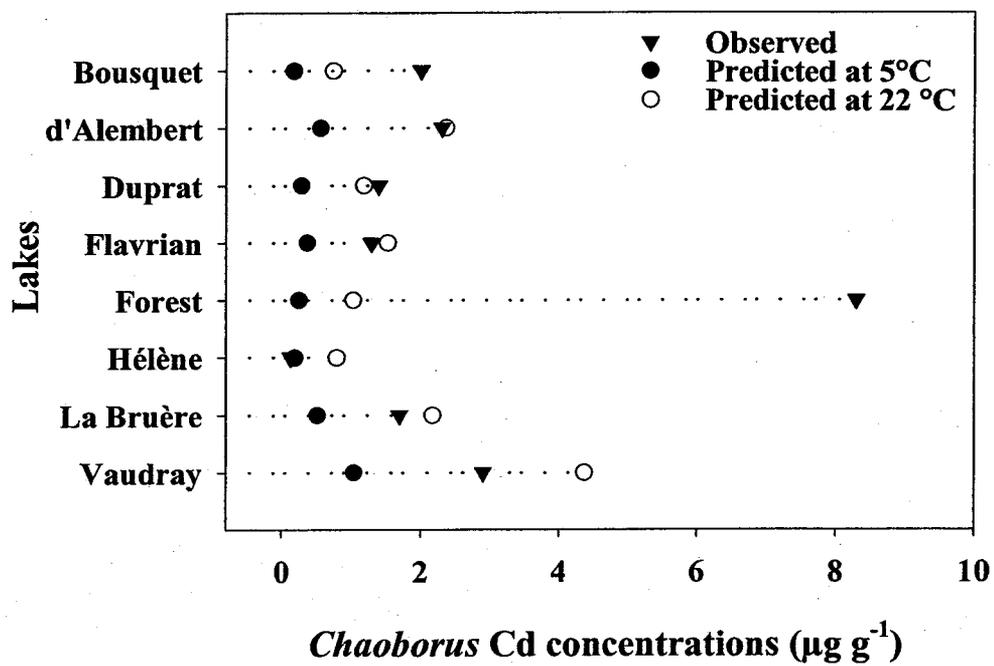


Figure 5. Croteau et al. 2001

## CHAPITRE 10.

---

### **Increases in food web cadmium following reductions in atmospheric inputs to some lakes**

*Marie-Noële Croteau, Landis Hare<sup>\*</sup>, and André Tessier*

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

Accepted for publication in *Environmental Science and Technology*

---

\* To whom correspondence should be addressed; fax: (418) 654-2600; e-mail:  
landis@inrs-eau.quebec.ca

## Résumé

Nous avons mesuré les concentrations de Cd sur un intervalle de 13 ans dans des lacs situés près de fonderies afin de déterminer si les réductions marquées dans les émissions atmosphériques de métaux traces s'étaient répercutées au niveau du Cd présent dans les chaînes aquatiques. Nos résultats ont montré que la réduction des concentrations en Cd s'est soldée dans certains lacs, par un accroissement des concentrations de Cd dans les organismes. Cette apparente contradiction à la logique voulant que l'amélioration de la qualité d'un milieu se répercute sur les organismes qui y vivent peut s'expliquer par le fait que les diminutions marquées dans les concentrations protons ont réduit la compétition entre les ions  $H^+$  et  $Cd^{2+}$  pour les sites d'absorption membranaire. Les organismes ont donc accumulé plus de Cd en dépit des plus faibles concentrations de métal dans le milieu. Nos résultats suggèrent que le risque d'effets toxiques s'est accru dans certains lacs se rétablissant de la contamination métallique.

## **Abstract**

We measured the toxic metal cadmium (Cd) over a 13-year interval in lakes located near 2 metal smelters to determine if reductions in atmospheric Cd emissions have led to reductions in the Cd present in aquatic food webs. Although Cd in lakewater consistently declined over time, Cd in animals increased in some lakes. This apparent contradiction was explained when we considered the simultaneous reductions that have occurred in lakewater acidity; under these conditions, animal Cd can increase if there are insufficient hydrogen ions to out-compete Cd ions at biological uptake sites. We conclude that the risk to organisms has increased in some lakes recovering from metallic smelter emissions.

## Introduction

Awareness of the negative environmental impacts of atmospheric emissions from metal smelters has spurred costly increases in stack heights and changes in operations that have led to declines in the quantities of acid and metals reaching nearby lakes (1). Such declines have led to the partial recovery of animal communities in many impacted lakes (2-4). Recovery has likely been due to simultaneous declines in lakewater acidity and the concentrations of toxic metals (4), although data on key metals such as Cd are lacking. To fill this void, we collected water from 9 lakes located in the vicinity of 2 Canadian metal smelters to determine if reductions in the acidity and the Cd content of atmospheric emissions were reflected in lakewater. To determine if declines in lakewater Cd have led to corresponding decreases in the exposure of aquatic organisms to this metal (5), we measured Cd in larvae of the phantom midge *Chaoborus punctipennis*. We chose this insect because it meets many of the criteria for an effective pollutant monitor (adequate size, easily identified, widely distributed; 6) and because its Cd concentrations can be related to those in lakewater using a theoretically based model (6-8).

## Methods

**Collection of field samples.** Water samples and insect larvae were collected from a series of lakes in springtime (May-June) in the Sudbury and Rouyn-Noranda areas on several occasions between the years 1987 and 2000 (Table 1). Samples were collected from all lakes at the same time of year to minimize possible differences in the age and Cd-exposure history of larvae from the various lakes. Study lakes were subject to relatively high atmospheric acid and metal deposition from nearby smelters (9-10).

*Chaoborus punctipennis* larvae were collected using either an Ekman grab during the day or a 250- $\mu$ m plankton net at night. We maintained live insects at field temperatures during their transportation to the laboratory in plastic bags filled with lakewater. In the laboratory, we identified *C. punctipennis* using the keys in Saether (11) and final (fourth) instar larvae were selected on the basis of head capsule lengths as given in Larow and Marzolf (12). For samples collected before 1998, larvae were held in filtered lakewater for 24 h prior to metal analysis to allow them to defecate their gut contents. Where larval numbers

permitted, five to 20 individuals were pooled (to minimise potential individual variations in Cd) and placed on a piece of preweighed acid-washed Teflon sheeting that was frozen until analysis. For samples collected after 1998, undepurated larvae of *C. punctipennis* were placed individually on pieces of preweighed acid-washed Teflon sheeting and frozen. For these samples, larvae were not given time to defecate their gut contents because Croteau et al. (13) showed that there was no significant difference in Cd concentrations between larvae that were allowed to eliminate their gut contents for 24 h and those that were not.

Water for chemical measurements was collected in the littoral water column using diffusion samplers (8) that were either suspended from the lake surface (1997 to 2000) or anchored in sediment (1987 to 1993). Samples for measurements of pH, organic and inorganic carbon, major ions and trace metals were removed following the procedure and materials described in Croteau et al. (8) as well as in Hare and Tessier (6). Values for each lake are generally the means of measurements in 10 to 15 samples.

**Analyses.** To minimize inadvertent trace metal contamination, we soaked all labware and sampling materials in 15% nitric acid and rinsed them in ultrapure water prior to use.

We measured total dissolved Cd concentrations by flameless atomic-absorption spectrophotometry (AAS) (THGA graphite tube atomiser, Perkin-Elmer model SIMAA 6000). Certified reference riverine water samples (National Research Council of Canada - NRCC; SLRS-4, 1643d) were analyzed during each analytical run and measured trace metal concentrations were within the certified range. We measured major cations by flame AAS (Varian model Spectra AA-20), major anions by ion chromatography (Dionex AutoIon, system DX300), dissolved inorganic carbon by gas chromatography (Hewlett-Packard GC 5890 Series 2) and dissolved organic carbon using a total organic carbon analyser (Shimadzu, TOC-5000A) by the combustion-infrared method. Concentrations of the free Cd ion,  $[Cd^{2+}]$ , were estimated using the above measurements and the Windermere Humic Aqueous Model (WHAM 1.0; 14) with the assumptions discussed in Croteau et al. (8).

*Chaoborus* larvae were freeze-dried (FTS Systems<sup>TM</sup>), weighed on a micro-balance (Mettler ME30) and digested in concentrated nitric acid (100  $\mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.; Aristar grade). For samples collected before 1998, we carried out digestions in thick-walled, screw-cap Teflon vials in an autoclave at 120 °C for 3 h. Cooled digested samples were diluted to volume with ultrapure water. For samples collected after 1998, we conducted digestions at room temperature in 4-mL HDPE vials for 7 d. Hydrogen peroxide (40  $\mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.) was added 24 h prior to final dilution with ultrapure water (760  $\mu\text{L mg}^{-1}$  d.w.). We submitted samples of similar weight of a certified reference material (lobster hepatopancreas, TORT-1, NRCC) to the same digestion procedure during each run; values were comparable for the two digestion methods used. Cadmium concentrations in animals were analyzed by flameless AAS (Varian Spectra AA-30); Cd concentrations measured in the reference material were within the certified range and the recovery of Cd in spiked samples was within 10% of the amounts added.

## Results and discussion

During the 1980's and 90's sulphur emissions declined substantially from the Sudbury and Rouyn-Noranda metal smelters (Figure 1). We observed consequential increases in the pH's (Figure 2A, Table 2) of the 5 initially acidic lakes ( $\text{pH} < 6$ ), which increased by up to 1.5 units during our study period (1987-2000). In a similar manner, reductions in the Cd content of smelter emissions (Figure 1) were paralleled by consistent declines in lakewater Cd that were especially marked in acidic lakes (Figure 2B, Table 2). Concomitant with the reduction in anthropogenic inputs, declines in dissolved Cd also likely resulted from increased Cd sorption onto particles with increasing pH and loss of these particles from the water column by sedimentation (Sigg). Because Cd is a highly toxic metal (15), declines in exposure could contribute to the recovery of metal-sensitive aquatic animals (2-3, 16-18).

In most of our study lakes, Cd concentrations in *C. punctipennis* declined or showed little change during the study period (Figure 2C, Table 2). However, in 2 highly acidic lakes (initial  $\text{pH} < 5$ , Clearwater and Crooked Lakes, Table 2), Cd concentrations increased in *C. punctipennis* (Figure 2C) in spite of substantial declines in concentrations of the free Cd ion ( $\text{Cd}^{2+}$ , Figure 2B). We explain these counter-intuitive increases in animal Cd using a

modification of the free ion activity model. This model postulates that the concentration of metal taken up by an organism should be proportional to the concentration of the free ionic form of the metal to which it is exposed (19). In its modified version, this model takes into account competition between hydrogen ions,  $H^+$ , and free Cd ions for biological uptake sites (6-8), that is,

$$[Cd]_{C. punctipennis} = F \frac{[Cd^{2+}]}{[H^+] + K_a} \quad (1)$$

where  $F$  ( $20,500 \mu\text{g g}^{-1}$ ) and  $K_a$  ( $1.9 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) are constants (7).

Model predictions for Clearwater and Crooked Lakes (Figure 3) confirm that Cd concentrations in the biomonitor should have increased in these lakes in spite of declines in  $Cd^{2+}$  concentrations, that is, the influence of declines in  $H^+$  concentrations on insect Cd was greater than that of declines in  $Cd^{2+}$  over this time period. In Clearwater Lake (dotted curves in Figure 3), Cd concentrations in the biomonitor have likely reached a maximum judging from the proximity of the data point for recently collected animals (star) to the plateau in the model curve for the corresponding aqueous Cd concentration ( $1.13 \text{ nM } Cd^{2+}$ , Figure 3). In contrast, in Crooked Lake (broken curves in Figure 3), exposure to Cd will likely continue to increase with further declines in lakewater  $H^+$  judging from the substantial distance between the recent data point (star) and the plateau in the model curve ( $1.84 \text{ nM } Cd^{2+}$ , Figure 3). In our study lakes, declines in hydrogen ions above a pH of about 7 would have little influence on Cd concentrations in *C. punctipennis*.

These historical increases in Cd exposure are likely not limited to *C. punctipennis* because this predator takes up most of its Cd from planktonic animals (13, 20-21) such as cladocerans, copepods and rotifers (22). Furthermore, because some of these prey take up their Cd from algae (21), Cd increases have likely occurred throughout the planktonic food webs of these lakes. Although these counter-intuitive increases in organism Cd were observed in a minority of our study lakes, they have probably occurred in large numbers of lakes recovering from acidification. For example, near the Sudbury smelters 25% of lakes that historically contained lake trout (*Salvelinus namaycush*) saw their pH increase from

below 5.5 to above 6.0 between 1980 and 1996 (23). Similar increases in pH have also occurred in large numbers of northern European lakes (24-25).

For our data set as a whole, Cd concentrations in *C. punctipennis* predicted using equation 1 were directly and strongly related to those that we measured in this insect (Figure 4;  $r = 0.75$ ,  $p < 0.001$ ). The majority of the unexplained variation between our predicted and measured Cd values is likely due to several factors including: differences in prey types among lakes and over time; the episodic nature of our pH and dissolved Cd measurements; and the fact that we estimated  $[Cd^{2+}]$  using a chemical speciation model (WHAM, 14) whose database has been validated by a limited number of measurements (26) and whose application involves several assumptions about the nature and concentrations of dissolved organic matter (8).

We conclude from our study that although the water quality of lakes near metal smelters has generally improved, the recovery of communities in some highly acidified metal-contaminated lakes could be hampered by increases in the metal concentrations of organisms. Yan et al. (27) noted that although the pH of two acidic lakes near the Sudbury metal smelters had increased, the recovery of the zooplankton community in one of these lakes lagged behind that of the other. They suggested that trace metals in this lake might explain the slow pace of recovery. Our results provide a mechanism by which metals could exert toxicity and inhibit recovery in spite of a decline in dissolved metal concentrations and increases in lakewater pH. Our study also points to the danger of inferring reductions in the exposure of animals to metals from declines in aqueous metal alone. In this regard, use of a biomonitor along with a conceptual model provided an effective means of monitoring bioavailable Cd concentrations in lakes.

## Acknowledgments

For their technical assistance, we thank M. G. Bordeleau, L. Croisetière, M.-R. Doyon, P. Fournier, A. Gosselin, P. Marcoux, S. St-Pierre, and R. Rodrigue. Funding is acknowledged from the Metals in the Environment Research Network (contribution number 27), the National Sciences and Engineering Research Council of Canada, and the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. Comments on earlier versions of the manuscript were kindly provided by M. Amyot, J. Reinfelder, S.N. Luoma and N. Yan.

## Literature Cited

1. Potvin, R. R.; Negusanti, J. J. In *Restoration and Recovery of an Industrial Region*, 1st ed.; Gunn, J. M., Ed.; Springer-Verlag; New York, 1995; pp 51-65.
2. Gunn, J. M.; Keller, W. *Nature* **1990**, *345*, 431-433.
3. Keller, W.; Yan, N. D. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1991**, *48*, 1635-1644.
4. Keller, W.; Gunn, J. M. In *Restoration and Recovery of an Industrial Region*, 1st ed.; Gunn, J. M., Ed.; Springer-Verlag; New York, 1995; pp 67-80.
5. Schlekot, C. E.; Lee, B.-G.; Luoma, S. N. In *Coastal and Estuarine Risk Assessment*, 1st ed.; Newman, M., Ed.; CRC Press; Boca Raton, 2001; pp 261-314.
6. Hare, L.; Tessier, A. *Limnol. Oceanogr.* **1998**, *43*, 1850-1859.
7. Hare, L.; Tessier, A. *Nature* **1996**, *380*, 430-432.
8. Croteau, M.-N.; Hare, L.; Tessier, A. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 1348-1353.
9. Environnement Canada. L'état de l'environnement au Canada; 1991, *EN-21-54/1991F*, Ottawa, pp 11.1-11.28.
10. Winterhalder, K. In *Restoration and Recovery of an Industrial Region*, 1st ed.; Gunn, J. M., Ed.; Springer-Verlag; New York, 1995; pp 17-31.
11. Saether, O. A. In *Das Zooplankton der Binnengewässer*; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung: Stuttgart, Germany, 1972; pp 257-304.
12. Larow, E. J.; Marzolf, G. R. *Amer. Midland Naturalist* **1970**, *84*, 428-436.
13. Croteau, M.-N.; Hare, L.; Tessier, A. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **2001**, *58*, 1737-1746.
14. Tipping, E. *Comp. Geosci.* **1994**, *20*, 973-1023.

15. Sigg, L. In *Aquatic Surface Chemistry*; Stumm, W., Ed.; Wiley, 1987; pp 319-349.
16. Wright, D. A.; Welbourn, P. M. *Environ. Rev.* **1994**, *2*, 187-214.
17. Glooschenko, V.; Weller, W. F.; Smith, P. G. R.; Alvo, R.; Archbold, J. H. G. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1992**, *49*, 114-121.
18. Okland, J.; Okland, K. A. In *Ecological impact of acid precipitation*, Drablos, D.; Tollan, A., Eds.; Proc. Int. Conf. Sandefjord; Norway, 1980; pp 326-337.
19. Lawrence, S. G.; Holoka, M. H. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1987**, *44*, 163-172.
20. Morel, F. M. M.; Hering, J. G. In *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*; Wiley, New York, 1993.
21. Munger, C.; Hare, L. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 891-895.
22. Munger, C.; Hare, L.; Tessier, A. *Limnol. Oceanogr.* **1999**, *44*, 1763-1771.
23. Moore, M. V. *Freshwat. Biol.* **1988**, *19*, 249-268.
24. Gunn, J. M.; Mills, K. H. *Restoration Ecol.* **1998**, *6*, 390-397.
25. Battarbee, R. W.; Flower, R. J. ; Stevenson, A. C. ; Jones, V. J.; Harriman, R.; Appleby, P. G. *Nature* **1998**, *332*, 530-532.
26. Wright, R. F.; Lotse, E.; Semb, A. *Nature* **1988**, *334*, 670-675.
27. Tipping, E.; Hurley, M. A. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1992**, *56*, 3627-3641.
28. Yan, N. D.; Keller, W.; Somers, K. M.; Pawson, T. W.; Girard, R. E. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1996**, *53*, 1301-1327.

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

<b>Lake</b>	<b>Code</b>	<b>Region</b>	<b>Location</b>
Bousquet	BO	Rouyn-Noranda, Québec	48°14'N, 78°43'W
Caron	CA	Rouyn-Noranda, Québec	47°56'N, 78°58'W
Clearwater	CL	Sudbury, Ontario	46°22'N, 81°03'W
Crooked	CK	Sudbury, Ontario	46°25'N, 81°02'W
Crowley	CW	Sudbury, Ontario	46°23'N, 80°59'W
Marlon	MA	Rouyn-Noranda, Québec	48°16'N, 79°04'W
Tilton	TI	Sudbury, Ontario	46°22'N, 81°04'W
Vaudray	VA	Rouyn-Noranda, Québec	48°07'N, 78°42'W
Wavy	WA	Sudbury, Ontario	46°17'N, 81°06'W

**TABLE 2. Temporal changes in the pH of lakes near 2 metal smelters, as well as Cd concentrations in lakewater and in the biomonitor *C. punctipennis*. Temporal trends in observed and predicted Cd concentrations in the biomonitor are represented by the symbols: ↑ (increase), ↓ (decline), or ∅ (no change)**

Region and lake	Year	pH	Cd concentrations ± 95% CI			Trends in [Cd] <sub>c</sub> <i>punctipennis</i> (observed, predicted)
			Total dissolved (nM)	Free (nM)	<i>C. punctipennis</i> (µg g <sup>-1</sup> )	
<b><u>Sudbury, ON</u></b>						
Crooked	1993	4.49	7.12 ± 0.11	6.29±0.10	1.4 ± 0.2	↑,↑
	2000	5.82	3.86 ± 0.06	1.84±0.03	8.0 ± 3	
Clearwater	1987	4.83	3.27 ± 0.22	2.67±0.18	4.0 ± 0.4	↑,↑
	2000	6.34	1.45 ± 0.02	1.13±0.02	5.1 ± 0.3	
Wavy	1988	4.71	2.59 ± 0.24	1.97±0.18	2.5 ± 0.5	∅,↑
	2000	5.05	2.16 ± 0.18	1.54±0.13	1.7 ± 0.3	
Crowley	1993	5.76	2.18 ± 0.05	1.82±0.04	13 ± 0.9	↓,↓
	1997	6.85	1.23 ± 0.04	0.66±0.02	11 ± 0.3	
Tilton	1987	5.87	1.91 ± 0.10	1.0±0.05	7.8 ± 0.7	∅,↑
	1997	6.61	1.34 ± 0.07	0.94±0.05	7.6 ± 0.8	
<b><u>Rouyn-Noranda, QC</u></b>						
Vaudray	1992	6.51	1.16 ± 0.06	0.51±0.03	5.7 ± 0.4	↓,↓
	1997	6.65	0.57 ± 0.07	0.18±0.02	2.9 ± 0.2	
Bousquet	1988	6.69	2.37 ± 0.29	0.49±0.06	6.3 ± 0.7	↓,↓
	1997	6.35	0.85 ± 0.07	0.23±0.02	2.0 ± 0.1	
Marlon	1992	6.93	1.43 ± 0.24	0.66±0.11	4.8 ± 0.6	∅,↓
	1999	7.17	1.10 ± 0.03	0.32±0.01	4.9 ± 1.8	
Caron	1988	7.20	3.10 ± 0.18	0.90±0.05	8.9	↓,↓
	2000	6.91	1.09 ± 0.02	0.45±0.01	5.4 ± 1.3	

## Figure Legends

**FIGURE 1.** Temporal changes in annual atmospheric emissions of SO<sub>2</sub> (solid symbols) and Cd (open symbols) from 2 Canadian metal smelters between the years 1980 and 2000 (data courtesy of INCO (Sudbury) and Noranda Mines (Rouyn-Noranda)).

**FIGURE 2.** Changes in (A) lakewater pH, (B) free Cd ion concentrations and (C) Cd concentrations in larvae of *Chaoborus punctipennis*. Lakes are ranked in order of their initial pH: solid bars, pH < 5; grey bars, pH 5-6; open bars, pH > 6.

**FIGURE 3.** Model curves of predicted Cd concentrations in *C. punctipennis* at various pH's for the initial (\*) and recent (⊛) free Cd ion concentrations measured in Lakes Clearwater (CL, dotted curves) and Crooked (CK, dashed curves).

**FIGURE 4.** Relationship between predicted and measured Cd concentrations in *Chaoborus punctipennis* larvae. Paired letters refer to the lake codes given in Table 1. Arrows show the direction of temporal change for each lake.

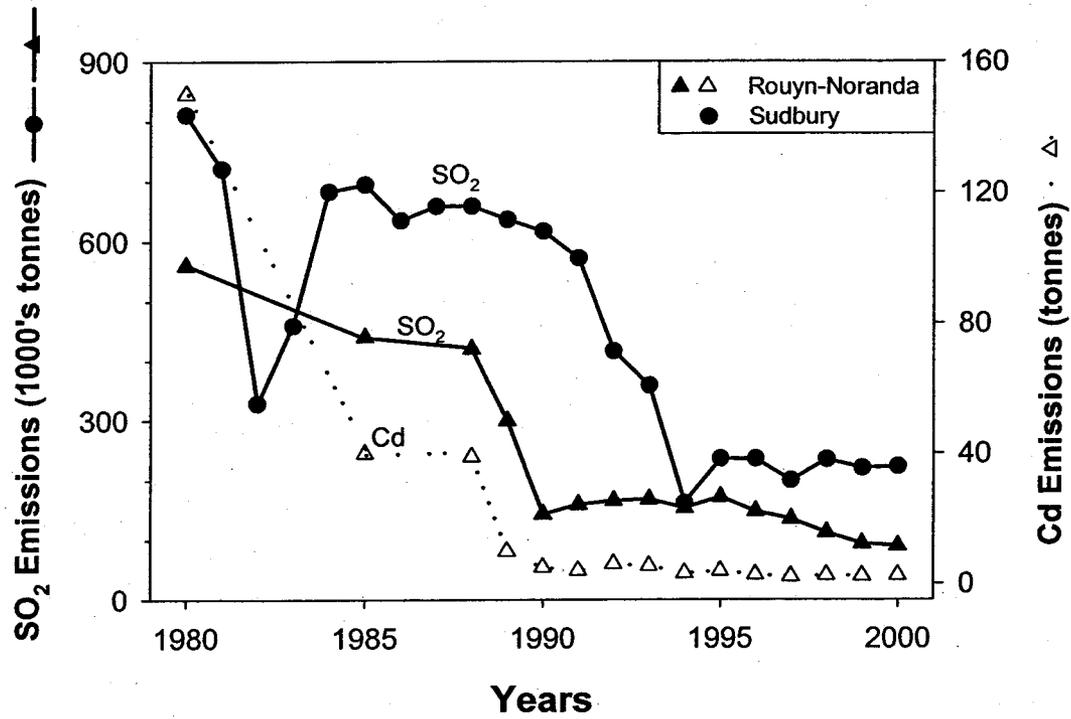


Figure 1. Croteau et al. 2002

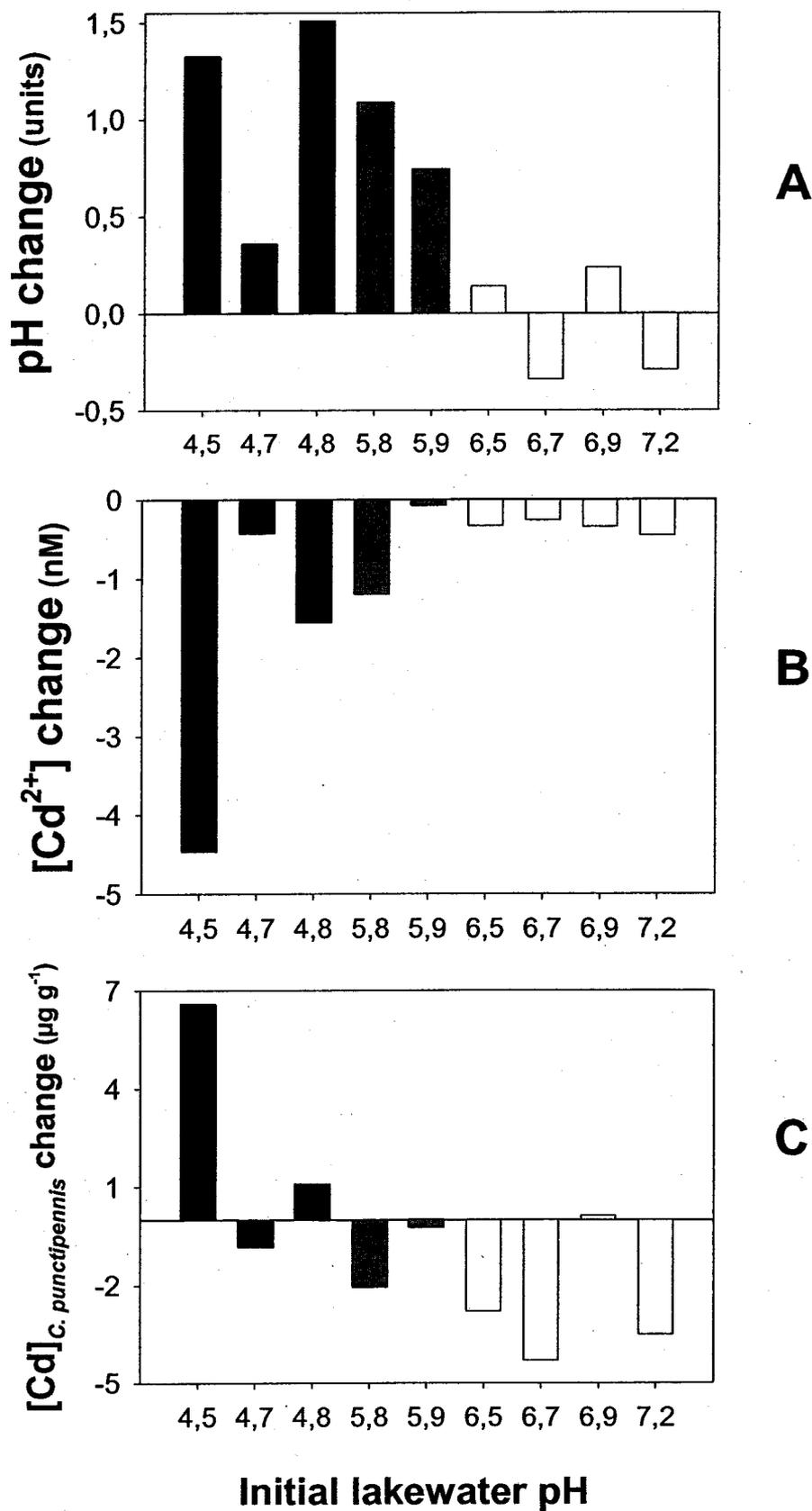


Figure 2. Croteau et al. 2002

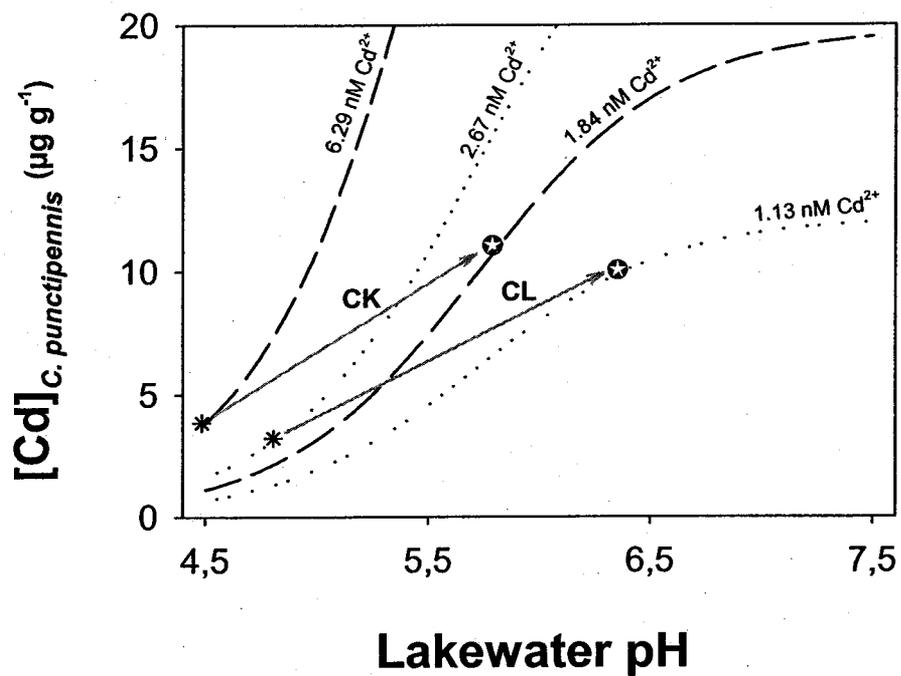


Figure 3. Croteau et al. 2002

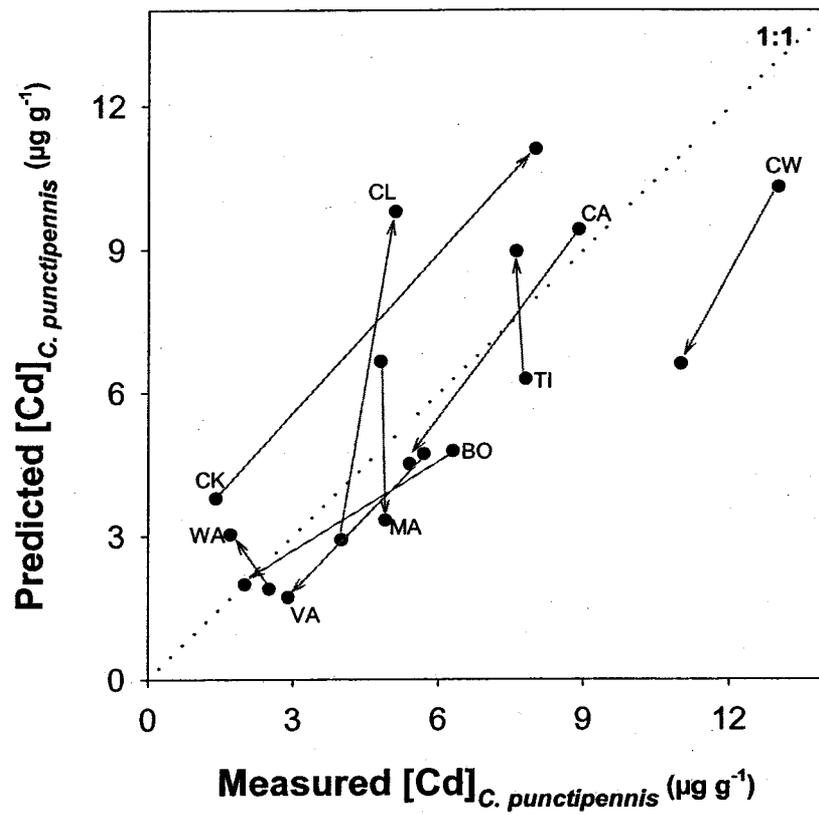
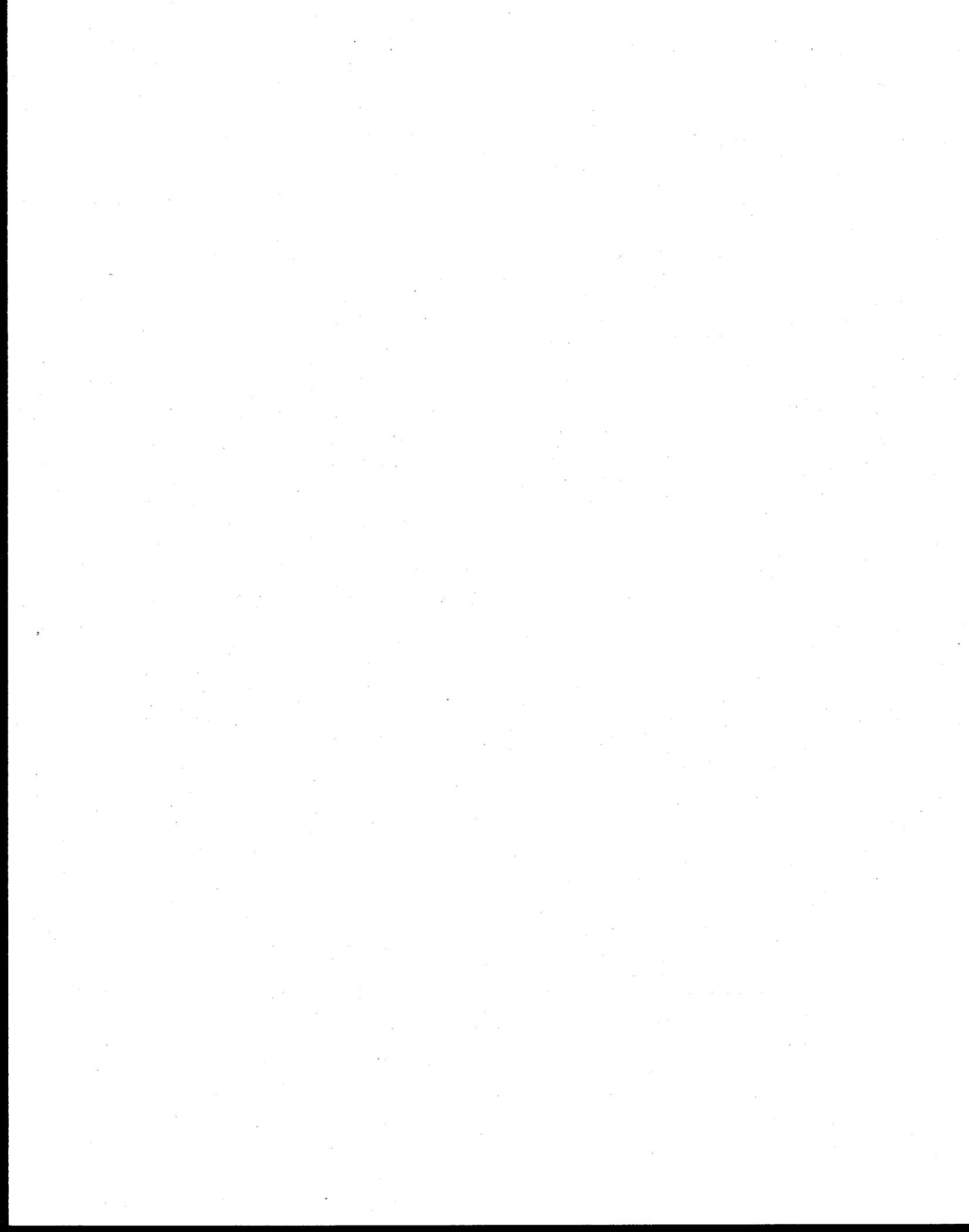


Figure 4. Croteau et al. 2002



## **CHAPITRE 11.**

---

### **Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*; occurrence and relationship to ambient metal concentrations in lakes**

*Marie-Noële Croteau†, Landis Hare†\*, Peter G. C. Campbell† and Yves  
Couillard*

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

‡ Chemicals Evaluation Division, Existing Substances Branch, Environment Canada, Place  
Vincent Massey, 351 St. Joseph Blvd, 14<sup>th</sup> floor, Hull, Canada, K1A 0H3

Published in *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**: 737-741 (2002)

**Running head:** MT-like metal binding protein in the biomonitor *Chaoborus*

## Résumé

Les larves de l'insecte *Chaoborus* peuvent être utilisées pour monitorer les concentrations en Cd des lacs. Notre projet avait pour objectif premier de déterminer si les larves de cet insecte possédaient une protéine de détoxification apparentée à la métallothionéine qui séquestrerait le Cd bioaccumulé. Nous avons également vérifié si les concentrations de Cd dans *Chaoborus* étaient corrélées à leurs niveaux de métallothionéine, ces derniers devant à leur tour refléter l'état de contamination en Cd du milieu. La vérification de ces hypothèses a nécessité la récolte d'eau et de larves d'insecte provenant d'une dizaine de lacs situés le long d'un gradient de contamination en Cd. Nos résultats ont révélé que toutes les espèces de *Chaoborus* échantillonnées présentaient des niveaux détectables de métallothionéine quoique les espèces différaient entre elles tant dans leurs concentrations de métallothionéine que de Cd. Nous avons également montré que les niveaux de métallothionéine chez *Chaoborus* étaient directement reliés aux concentrations de Cd dans l'animal et dans l'eau. Ces résultats supportent l'utilisation de *Chaoborus* comme biomoniteur de la concentration en Cd des lacs.

## Abstract

Larvae of the insect *Chaoborus* are used to monitor Cd in lakes. We set out to determine if this animal possesses a metallothionein-like protein to which its Cd could be bound and if the concentrations of such a protein are correlated with those of Cd in the insect and in lakewater. To achieve our goals we collected water and larvae of several *Chaoborus* species from 10 lakes situated along an environmental Cd gradient. We found that all of the *Chaoborus* species possess a metallothionein-like protein and that concentrations of the protein and of Cd differed among species. Concentrations of the metallothionein-like protein were directly related to those in *Chaoborus* and in lakewater. These direct relationships support the use of *Chaoborus* larvae as a Cd biomonitor.

**Keywords** — Metallothionein Cadmium *Chaoborus* Biomonitor Lake

## INTRODUCTION

Larvae of the phantom midge *Chaoborus* have been proposed for use as biomonitors of the trace metal cadmium (Cd). They are well suited to this task because they are common in lakes world wide [1, 2] and tolerate a wide range of pH (4-7.5) and Cd concentrations [3]. Most importantly, Cd concentrations in this putative biomonitor are consistently related to those in lakewater, even in highly metal-contaminated lakes [3]. It follows then that this insect is able to accumulate Cd without ill effect. To do so, this invertebrate likely possesses an effective Cd detoxification mechanism.

Metallothioneins are metal-binding proteins that are reported to play a key role in the binding and transport of Cd and other trace metals in animals [4]. These ubiquitous, low-molecular weight, cysteine-rich proteins have been found in several genera of aquatic insects including *Chironomus* (Diptera, [5]), *Baetis* (Ephemeroptera, [6]) and *Eusthenia* (Plecoptera, [7]). There are however no published reports that metallothionein-like proteins exist in *Chaoborus* larvae.

In this paper, we set out first to determine if *Chaoborus* larvae possess a metal-binding protein having the characteristics of metallothionein (MT). To achieve this, we collected *Chaoborus* larvae in large numbers; a minimum of several hundred individuals was required to provide enough biomass for a single sample. An ability to synthesize MT would explain in part the capacity of this insect to exist in metal-contaminated lakes. Second, because sympatric *Chaoborus* species are reported to vary in their Cd concentrations [8], we collected samples of more than one species in lakes where population densities allowed; we speculated that a lack of MT could lead to the restriction of some *Chaoborus* species to relatively uncontaminated lakes. Third, we measured Cd, Cu and Zn concentrations in larvae to determine if larvae with high MT concentrations had correspondingly high concentrations of these trace metals. A strong correlation between the concentrations of MT and Cd, but not those of Cu or Zn would suggest that Cd is the metal responsible for MT induction in larvae.

## METHODS

### *Collection of field samples*

Water samples and larvae of three species of *Chaoborus* were collected in September 1999 from 10 lakes located on the Canadian Shield (Table 1) in the Quebec City area (QC) and in the mining areas of Sudbury (ON) and Rouyn-Noranda (QC). One of the lakes in the Rouyn-Noranda region, Lake Turcotte, has been directly impacted by the dumping of mining residues and subsequent liming.

Insect larvae were collected after sunset by hauling a 250- $\mu\text{m}$  plankton net horizontally in the water column of each lake until a sufficient number of *Chaoborus* was obtained. Insects were maintained at field temperatures and transported to the laboratory in plastic bags filled with lakewater. In the laboratory, *Chaoborus* larvae were sorted according to species [1]. Where numbers permitted, three replicate samples of 300 to 1000 similar-sized fourth instar larvae of each species were sealed in polyethylene bags, frozen and stored in liquid nitrogen. At the end of the sampling trip, frozen samples were sealed in plastic bags filled with nitrogen, and stored at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 6 months until homogenization.

Water samples were collected using in situ diffusion samplers (peepers) similar to those described by Carignan et al. [9]. These Plexiglas samplers comprise 8 compartments of 4 mL each that were filled with ultrapure water ( $> 18\text{ M}\Omega\text{ cm}$ ) and separated from lakewater by a 0.2- $\mu\text{m}$  polysulfone membrane (Gelman HT-200; Pall Life Sciences, Ann Arbor, MI, USA). After preparation, each sampler was sealed in a clean plastic bag prior to placement in the field. Two diffusion samplers were suspended in the epilimnion of each lake. After a 3-d equilibration period (3 days is considered to be sufficient for peeper equilibration; Tessier and De Vitre, unpublished results), the diffusion samplers were retrieved and water was collected immediately for the measurement of organic and inorganic carbon, trace metals and major cations and anions.

Samples (4 mL) for organic carbon determination were removed from one compartment of each peeper using a pipette fitted with a persulfate-washed plastic tip and injected into 4-mL glass bottles that had been previously heated for 6 hours at  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  and rinsed several

times with ultrapure water. Samples (1 mL) for inorganic carbon determination were removed with a syringe from a second compartment and injected through a septum into pre-evacuated and pre-washed glass tubes. From the same compartment, a sample (1.5 mL) for dissolved  $\text{SO}_4$  and Cl analyses was collected with a plastic-tipped pipette and injected into pre-washed microcentrifuge tubes (1.5 mL, high-density polyethylene). Samples for trace metals (Cd, Cu and Zn; 5 compartments) and major cations (Ca, Mg, Na and K; 1 compartment) were removed from the remaining compartments in each dialysis sampler by piercing the membrane with a pipette fitted with an acid-cleaned tip. These samples were injected into preacidified (53  $\mu\text{L}$  of 1.35 N Anachemia  $\text{HNO}_3$ ) high-density polyethylene bottles (4 mL capacity). On installation and retrieval dates, pH was measured with a portable pH meter (Microprocessor model HI9024/HI9025; Hanna instruments, Woonsocket, RI, USA) in water samples collected at the depth of the dialysis samplers using a Van Dorn bottle.

### *Analyses*

To minimise inadvertent trace metal contamination, labware, water-sampling materials and vials were soaked in 15% nitric acid and rinsed in ultrapure water prior to use.

### *Metallothionein (MT)*

Partially thawed *Chaoborus* larvae were gently homogenized, on ice, under a nitrogen atmosphere, with a 50-mL manually-operated glass tissue grinder. Homogenization was performed with 4 volumes of a phosphate buffer solution (0.02 M) adjusted to pH 7.5. A subsample (1 mL) was centrifuged at 30,000  $\times g$  for 30 min at 4 °C and the supernatant was divided into 4 subsamples that were analyzed the same day for MT. Additional subsamples of the tissue homogenate were allocated for determination of the dry weight to wet weight ratio (1 mL) and Cd, Cu and Zn concentrations (1 mL).

Metallothionein concentrations in *Chaoborus* larvae were measured with a mercury-saturation assay adapted slightly from Dutton et al. [10] and described in detail in Couillard et al. [11]. As a quality control, recovery of a standard (MT from rabbit liver; Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA; stoichiometry of 7 mole metal  $\cdot$  mole<sup>-1</sup> MT) was

determined with every assay; the mean recovery for three determinations was  $86 \pm 8\%$  (standard deviation). Metallothionein concentrations (i.e., [MT]) are mean values of both field and analytical replicates ( $\pm$  standard error) and are expressed as nanomoles of metal binding sites per gram of dry tissue weight.

#### *Metal analyses*

Tissue homogenates were freeze-dried (FTS Systems<sup>TM</sup>, Mountain View, CA, USA), weighed and digested at room temperature in 4-mL high-density polyethylene vials with concentrated nitric acid (Aristar grade,  $100 \mu\text{L mg}^{-1}$  dry wt sample) for 7 days. Hydrogen peroxide ( $40 \mu\text{L mg}^{-1}$  dry wt sample) was added 24 h prior to final dilution with ultrapure water ( $760 \mu\text{L mg}^{-1}$  dry wt sample). Samples of similar weight of a certified reference material (lobster hepatopancreas, TORT-1, National Research Council of Canada) were submitted to the same digestion procedures during each analytical run. Trace metal concentrations measured in this reference material were consistently within the certified range. Cadmium concentrations in animals were analyzed by flameless atomic-absorption spectrophotometry (AAS, Spectra AA-30; Varian, Palo Alto, CA, USA) whereas Cu and Zn concentrations were measured by inductively-coupled plasma atomic-emission spectroscopy (Vista; Varian, Palo Alto, CA, USA).

Total dissolved Cd, Cu and Zn concentrations in the peeper samples were measured by flameless AAS (Perkin-Elmer model SIMAA 6000, Shelton, CT, USA). Certified reference water samples (riverine water reference material, National Research Council of Canada) were also analyzed for Cd, Cu and Zn during each analytical run and measured trace metal concentrations were consistently within the certified range. Major cation concentrations were measured by flame AAS (Varian model Spectra AA-20). Concentrations of  $\text{SO}_4$  and Cl were measured by ion chromatography (Dionex AutoIon, system DX300, Sunnyvale, CA, USA). Dissolved inorganic carbon concentrations were obtained by gas chromatography (Hewlett-Packard GC 5890 Series 2; Palo Alto, CA, USA) and dissolved organic carbon concentrations were obtained with a total organic carbon analyzer (Shimadzu, TOC-5000A; Kyoto, Japan) using the combustion-infrared method. The Windermere Humic Aqueous Model (WHAM 1.0, [12]; Tipping, Ambleside,

UK) was used to estimate free metal ion concentrations, with the assumptions discussed in Croteau et al. [3].

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Metallothionein (MT) in Chaoborus*

The three species of *Chaoborus* present in our study lakes all possess a metal binding protein that has features consistent with those of MT, that is, a strong affinity to form complexes with Hg (stronger than those with Cd, Cu or Zn), thermostability and acid resistance. The concentrations of MT-like protein ranged from 100 to 270 nmol. binding sites  $g^{-1}$  (Table 2), which is slightly lower than those found for the freshwater bivalve *Pyganodon grandis* (163-414 nmol. binding sites  $g^{-1}$  dry wt; [11]) but higher than those found in the mayfly *Hexagenia limbata* (18-106 nmol. binding sites  $g^{-1}$  dry wt; unpublished data). The presence of a metal-binding protein in *Chaoborus* larvae could explain in part their accumulation of and tolerance to trace metals. Increased metal resistance has been associated with MT induction in other aquatic (mayflies, [6]; chironomids, [13]) and terrestrial (collembolans, [14]) insects.

Because all of the *Chaoborus* species that we studied appear to have a MT-like protein (Table 2), the presence or absence of such a protein cannot explain differences in Cd accumulation among them [8]. In contrast, Aoki et al. [6] reported marked species-to-species differences for the mayfly *Baetis*; a species present in metal-contaminated streams possessed a MT-like protein, whereas two others that did not were restricted to uncontaminated rivers.

We compared the concentrations of Cd and MT-like protein in *Chaoborus* species from the same lake. In the 2 lakes in which they coexisted (Lakes Tilton and Bousquet, Table 2), larvae of *C. punctipennis* had higher concentrations of a MT-like protein and the same or higher concentrations of Cd than did larvae of *C. flavicans*. In contrast, the concentrations of MT-like protein in *C. punctipennis* were not significantly different from those in *C. americanus* (Lake Turcotte, *t*-test,  $p = 0.34$ ) in spite of the fact that Cd concentrations in

the former species were three times lower than those of the latter species ( $t$ -test,  $p = 0.004$ ). This apparent inconsistency could result from the small number of samples that we were able to collect for analysis. The large number of larvae (300-1,000) that had to be sorted to prepare a single sample limited the number of samples that we could prepare. More data are clearly required to explain species specific differences in the relationship between Cd contamination levels in *Chaoborus* and their MT-like protein levels.

#### *Concentrations of larval Cd and MT-like protein*

The concentrations of MT-like protein in *Chaoborus* were directly related to larval Cd concentrations (Fig. 1a,  $p < 0.01$ ). Several previous studies have reported a linear relationship between the concentrations of MT and those of Cd in aquatic animals [11, 15, 16]. However, a curvilinear relationships also fits our data well ( $p < 0.001$ ), that is, there appears to be a plateau in concentrations of the MT-like protein at  $\approx 200$  nmol. binding sites  $g^{-1}$  dry wt (Fig. 1a). We would require data from larger number of lakes to choose credibly between these alternatives.

In contrast, there was no relationship between the concentrations of larval Zn and the MT-like protein ( $p = 0.53$ ), a result that is consistent with the reported ineffectiveness of ambient Zn in inducing MT-like proteins both in the laboratory [17] and in the field [11]. However, there was a significant relationship between larval Cu and MT-like protein concentrations (Fig. 1b,  $p = 0.01$ ). Since we do not see a correlation between MT and external ambient Cu, we do not think that Cu is acting to induce MT biosynthesis. Rather, we suggest that MT concentrations increase as a result of Cd exposure, and that this induced MT then acts as a competitive ligand within the cytosol and sequesters part of the available Cu [18]. Since copper is an essential micronutrient, the organism will tend to compensate for this lowering of the internal free  $Cu^{2+}$  concentration by increasing total copper levels in the cytosol. The overall result is an increase in cytosolic MT, Cd and Cu, and the observation of a correlation between Cd and Cu concentrations in larvae ( $r^2 = 0.95$ ,  $p < 0.01$ ).

If the rate of metal influx exceeds the net rate of metal-binding protein biosynthesis, incoming excess metal could bind non-specifically to other intracellular ligands. This phenomenon, often termed "spillover" [19], would correspond to the onset of potential adverse effects of the metal on the animal. We evaluated spillover in a simplistic way by calculating the ratio of tissue [Cd] to [MT-like protein] (Table 2). MT-like protein concentrations in *Chaoborus* larvae were more than sufficient to bind all of the Cd in the insect, suggesting that no Cd spillover occurred. Although this result is consistent with the presence of this animal in metal contaminated lakes, our simplistic scenario ignores the presence of Cu that is also likely to be bound to the MT-like protein and the fact that an unknown proportion of the Cd is not in the cytosol and thus not bound to MT.

#### *Relationships between MT, Cd in the insect and Cd in water*

Despite an extremely wide range of Cu and Zn concentrations in our study lakes (Table 1), *Chaoborus* Cu and Zn varied little among lakes ( $p > 0.05$ ; Table 2), suggesting that *Chaoborus* larvae are able to regulate the concentrations of these essential metals [3, 20]. Ignoring highly manipulated Lake Turcotte, larval Cd concentrations were directly related to those in water (Fig. 2a,  $p < 0.01$ ). Lake Turcotte remains an outlier even if we take into account the competitive influence of hydrogen ions on Cd bioaccumulation using the approach described by Hare and Tessier [21]. Thus we chose to exclude Lake Turcotte from our statistical analyses but to retain it for comparative purposes in the Figures. Metallothionein-like protein concentrations in *Chaoborus* were directly related to concentrations of the free  $Cd^{2+}$  ion (Fig. 2b,  $p < 0.001$ ). A direct relationship has also been reported for a bivalve mollusk [11], but there have been few other comparable studies in nature. If all of the Cd in *Chaoborus* were in the cytosol, then we might expect to observe a stronger relationship between MT and Cd in *Chaoborus* ( $r^2=0.68$ ) than between MT in *Chaoborus* and Cd in water ( $r^2=0.89$ ). Based on the  $r^2$  values for these relationships, the reverse was the case, suggesting that part of the Cd in *Chaoborus* is bound to cell fractions other than MT that are less bioreactive (granules, membranes, etc.). The corollary to this observation is that the concentrations of MT-like protein in larvae of the insect *Chaoborus* could thus be used to monitor the concentrations of bioreactive Cd, that is, the concentration of internal Cd that was able to initiate a biochemical response.

*Acknowledgements* - Funding was provided by the Metals in the Environment Research Network (MITE-RN), Ontario Power Generation, the Mining Association of Canada, Human Resources Development Canada, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, and the Québec Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. Technical assistance by M. G. Bordeleau, M.-R. Doyon, P. Fournier, A. Giguère, P. Marcoux, S. St-Pierre and R. Rodrigue is acknowledged.

## REFERENCES

1. Saether, OA. 1972. Chaoboridae. In Elster HJ, Ohle W, eds, *Das Zooplankton der Binnengewässer*. E. Schweizerbart'sche, Stuttgart, Germany, pp 257-304.
2. Hare L, Carter JCH. 1986. The benthos of a natural West African lake, with emphasis on the diel migrations and lunar and seasonal periodicities of the *Chaoborus* populations (Diptera, Chaoboridae). *Freshw Biol* 16: 759-780.
3. Croteau M-N, Hare L, Tessier A. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ Sci Technol* 32: 1348-1353.
4. Roesijadi G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat Toxicol* 22: 81-114.
5. Yamamura M, Suzuki KT, Hatakeyama S, Kubota K. 1983. Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). *Comp Biochem Physiol* C75: 21-24.
6. Aoki Y, Hatakeyama S, Kobayashi N, Sumi Y, Suzuki T, Suzuki KT. 1989. Comparison of cadmium-binding protein induction among mayfly larvae of heavy metal resistant (*Baetis thermicus*) and susceptible species (*B. yoshinensis* and *B. sahoensis*). *Comp Biochem Physiol* C93: 345-347.
7. Everard L, Swain R. 1983. Isolation, characterization and induction of metallothionein in the stonefly *Eusthenia spectabilis* following exposure to cadmium. *Comp Biochem Physiol* C75: 275-280.
8. Croteau M-N, 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.
9. Carignan R, Rapin R, Tessier A. 1985. Sediment pore-water sampling for metal analysis: A comparison of techniques. *Geochim Cosmochim Acta* 49: 2493-2497.
10. Dutton MD, Stephenson M, Klaverkamp JF. 1993. A mercury saturation assay for measuring metallothionein in fish. *Environ Toxicol Chem* 12: 1193-1202.

11. Couillard Y, Campbell PGC, Tessier A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol Oceanogr* 38: 299-313.
12. Tipping E. 1994. WHAM- A chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computer and Geosciences* 20: 973-1023.
13. Postma JF, Kyed M, Admiraal W. 1995. Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Hydrobiologia* 315: 159-165.
14. Hensbergen PJ. 1999. Metallothionein in *Orchesella cincta*. PhD thesis. Vrije Universiteit, Amsterdam, Netherlands.
15. Bebianno MJ, Langston WJ. 1991. Metallothionein induction in *Mytilus edulis* exposed to cadmium. *Mar Biol* 108: 91-96.
16. Wang D, Couillard Y, Campbell PGC., Jolicoeur P. 1999. Changes in subcellular metal partitioning in the gills of freshwater bivalves (*Pyganodon grandis*) living along an environmental cadmium gradient. *Can J Fish Aquat Sci* 56: 774-784.
17. Roesijadi G, Unger ME, Morris JE. 1988. Immunochemical quantification of metallothioneins of a marine mollusc. *Can J Fish Aquat Sci* 45: 1257-1263.
18. Gully JR, Mason AZ. 1993. Cytosolic redistribution and enhanced accumulation of Cu in gill tissue of *Littorina littorea* as a result of Cd exposure. *Mar Environ Res* 35: 53-57.
19. Mason AZ, Jenkins KD. 1995. Metal detoxification in aquatic organisms. In Tessier A, Turner DR, eds, *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. John Wiley, New York, NY, USA, pp 479-608.
20. Hare L, Tessier A. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol Oceanogr* 43: 1850-1859.
21. Hare L, Tessier A. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* 380: 430-432.

**Table 1.** Location of the study lakes (codes in brackets) with their total dissolved concentrations of the trace metals Cd, Cu and Zn, as well as their pH and the concentrations of dissolved organic carbon (DOC) and calcium (Ca).

Region and lake	Location	pH	[Cd]	[Cu] (nM)	[Zn]	[Ca] ( $\mu$ M)	[DOC] (mg C l <sup>-1</sup> )
<b>Québec, Quebec</b>							
Bertrand (BE)	46°58'N, 72°01'W	5.2	0.3	2.6	100	8	5.6
Laflamme (LA)	47°19'N, 71°07'W	6.7	0.1	2.6	22	17	5.5
St-Joseph (SJ)	46°55'N, 71°40'W	6.7	0.03	5.2	10	19	3.3
<b>Rouyn-Noranda, QC</b>							
Bousquet (BO)	48°14'N, 78°34'W	6.7	0.6	53	39	45	14.5
Caron (CA)	47°56'N, 78°58'W	7.2	0.7	72	46	114	10.9
Marlon (MA)	48°16'N, 79°04'W	7.4	0.9	147	35	59	10.2
Turcotte <sup>a</sup> (TU)	48°18'N, 79°04'W	5.2	8.7	134	2427	30	4.6
<b>Sudbury, Ontario</b>							
Crooked (CK)	46°25'N, 81°02'W	6.2	1.5	317	81	23	5.7
Crowley (CW)	46°23'N, 80°59'W	6.7	0.7	127	48	22	2.8
Tilton (TI)	46°22'N, 81°04'W	6.4	0.9	106	63	29	2.7

<sup>a</sup> Manipulated lake

**Table 2.** Metal concentrations (Cd, Cu and Zn,  $\pm 95\%$  C.I.) and metallothionein-like protein concentrations (MT  $\pm$  standard error) in final-instar *Chaoborus* larvae, as well as the ratio of tissue [Cd] to [MT]. Sample numbers are given in brackets.

Region and lake	<i>Chaoborus</i>					Cd/ MT
	Species	[Cd] (nmol g <sup>-1</sup> )	[Cu] (nmol g <sup>-1</sup> )	[Zn] ( $\mu$ mol g <sup>-1</sup> )	[MT] (nmol binding sites g <sup>-1</sup> drywt)	
<b>Quebec, Quebec</b>						
Bertrand	<i>americanus</i>	6.0 $\pm$ 0.59 (n=3)	64 $\pm$ 9 (n=3)	2.0 $\pm$ 0.63 (n=3)	133 $\pm$ 15 (n=3)	0.04
Laflamme	<i>flavicans</i>	4.3 $\pm$ 0.81 (n=2)	97 $\pm$ 8 (n=2)	1.2 $\pm$ 0.32 (n=2)	100 $\pm$ 9 (n=3)	0.04
St-Joseph	<i>punctipennis</i>	7.1 $\pm$ 1.4 (n=3)	72 $\pm$ 2 (n=3)	1.4 $\pm$ 0.29 (n=3)	120 $\pm$ 11 (n=3)	0.06
<b>Rouyn-Noranda, QC</b>						
Bousquet	<i>flavicans</i>	36 $\pm$ 1.6 (n=3)	102 $\pm$ 5 (n=3)	1.4 $\pm$ 0.10 (n=3)	187 $\pm$ 1 (n=2)	0.19
Bousquet	<i>punctipennis</i>	38 (n=1)	97 (n=1)	1.5 (n=1)	241 (n=1)	0.16
Caron	<i>flavicans</i>	44 $\pm$ 1.3 (n=3)	107 $\pm$ 2 (n=3)	1.3 $\pm$ 0.001 (n=3)	163 $\pm$ 4 (n=3)	0.27
Marlon	<i>punctipennis</i>	54 $\pm$ 3.5 (n=3)	107 $\pm$ 31 (n=3)	1.2 $\pm$ 0.07 (n=3)	183 $\pm$ 2 (n=3)	0.29
Turcotte	<i>americanus</i>	43 $\pm$ 5 (n=3)	100 $\pm$ 8 (n=3)	1.6 $\pm$ 0.03 (n=3)	179 $\pm$ 7 (n=3)	0.24
Turcotte	<i>punctipennis</i>	15 $\pm$ 0.9 (n=2)	122 $\pm$ 1 (n=2)	1.2 $\pm$ 0.001 (n=2)	193 $\pm$ 11 (n=2)	0.08
<b>Sudbury, Ontario</b>						
Crooked	<i>punctipennis</i>	72 $\pm$ 2 (n=3)	145 $\pm$ 12 (n=3)	1.2 $\pm$ 0.06 (n=3)	199 $\pm$ 5 (n=3)	0.36
Crowley	<i>punctipennis</i>	130 $\pm$ 5 (n=3)	164 $\pm$ 13 (n=3)	1.0 $\pm$ 0.05 (n=3)	196 $\pm$ 14 (n=3)	0.66
Tilton	<i>flavicans</i>	125 (n=1)	171 (n=1)	1.7 (n=1)	230 (n=1)	0.54
Tilton	<i>punctipennis</i>	141 (n=1)	138 (n=1)	1.3 (n=3)	268 (n=1)	0.53

## Figure Captions

Fig. 1. Metallothionein-like protein concentrations ( $MT \pm$  standard error) in larvae of the genus *Chaoborus* as a function of their (a) Cd concentrations ( $\pm$  standard deviation); (b) Cu concentrations ( $\pm$  standard deviation). Data for the manipulated Lake Turcotte (TU) were excluded from statistical analyses. Each point corresponds to a particular lake (see Table 1 for lake code).

Fig. 2. Relationships between (a) Cd concentrations in larvae of the genus *Chaoborus* ( $\pm$  standard deviation) and free Cd ion concentrations; (b) Metallothionein-like protein concentrations ( $MT \pm$  standard error) in larvae of the genus *Chaoborus* and free Cd ion concentrations. Data for the manipulated Lake Turcotte (TU) were excluded from statistical analyses. Each point corresponds to a particular lake (see Table 1 for lake code).

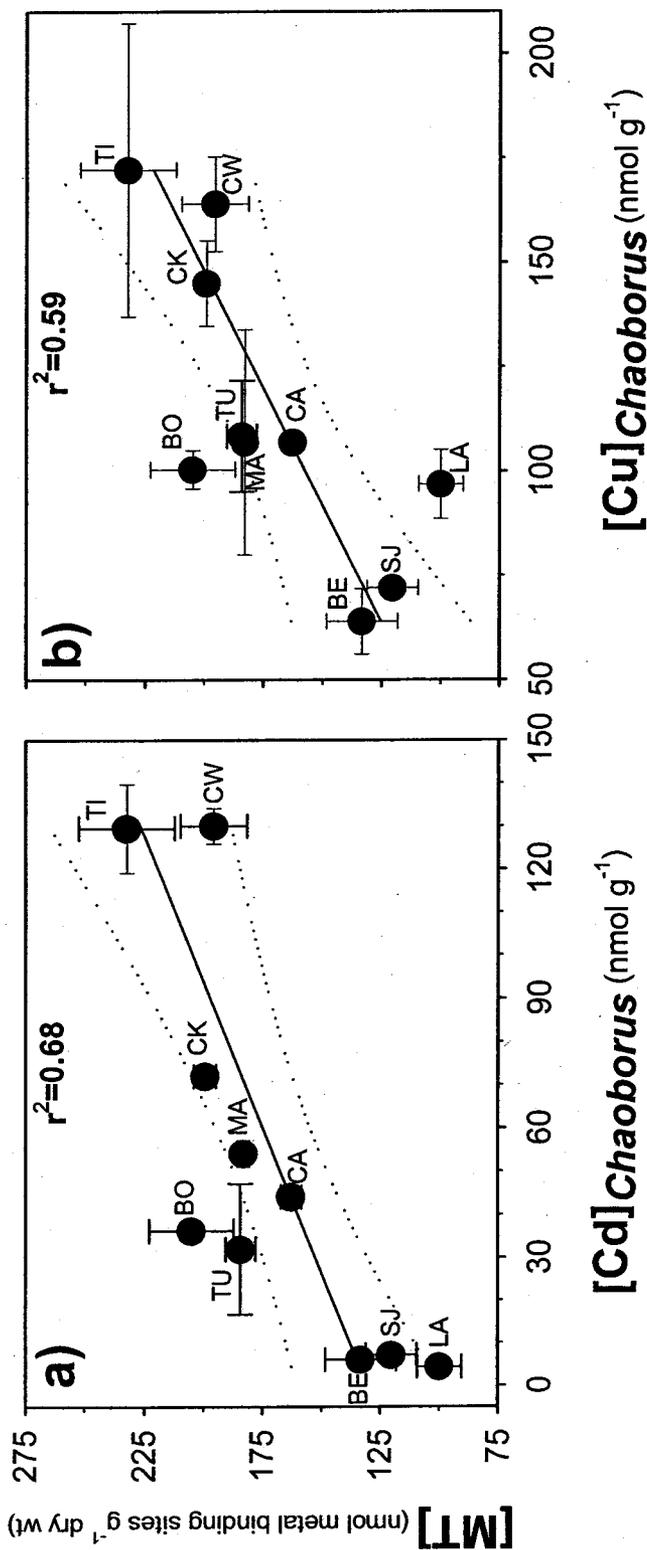


Figure 1.

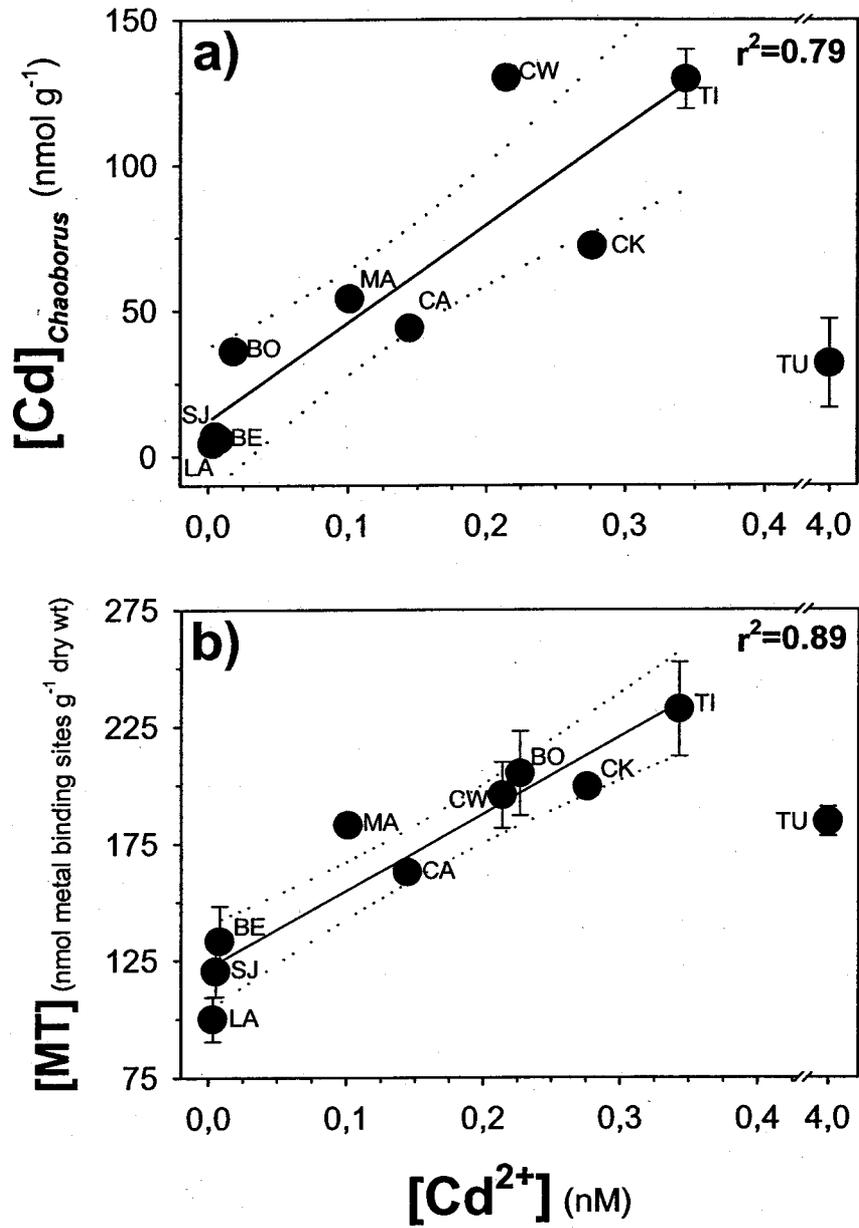
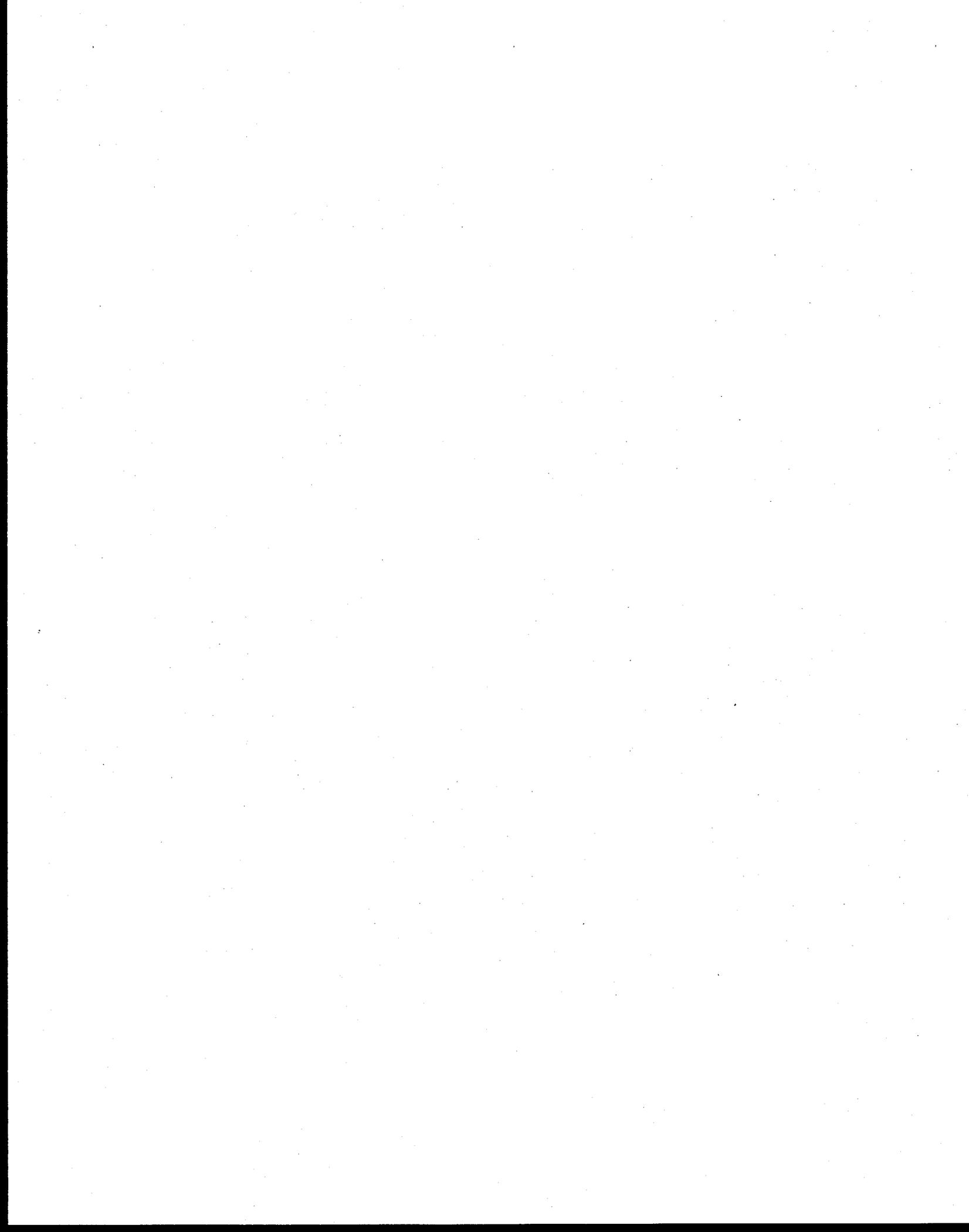


Figure 2.



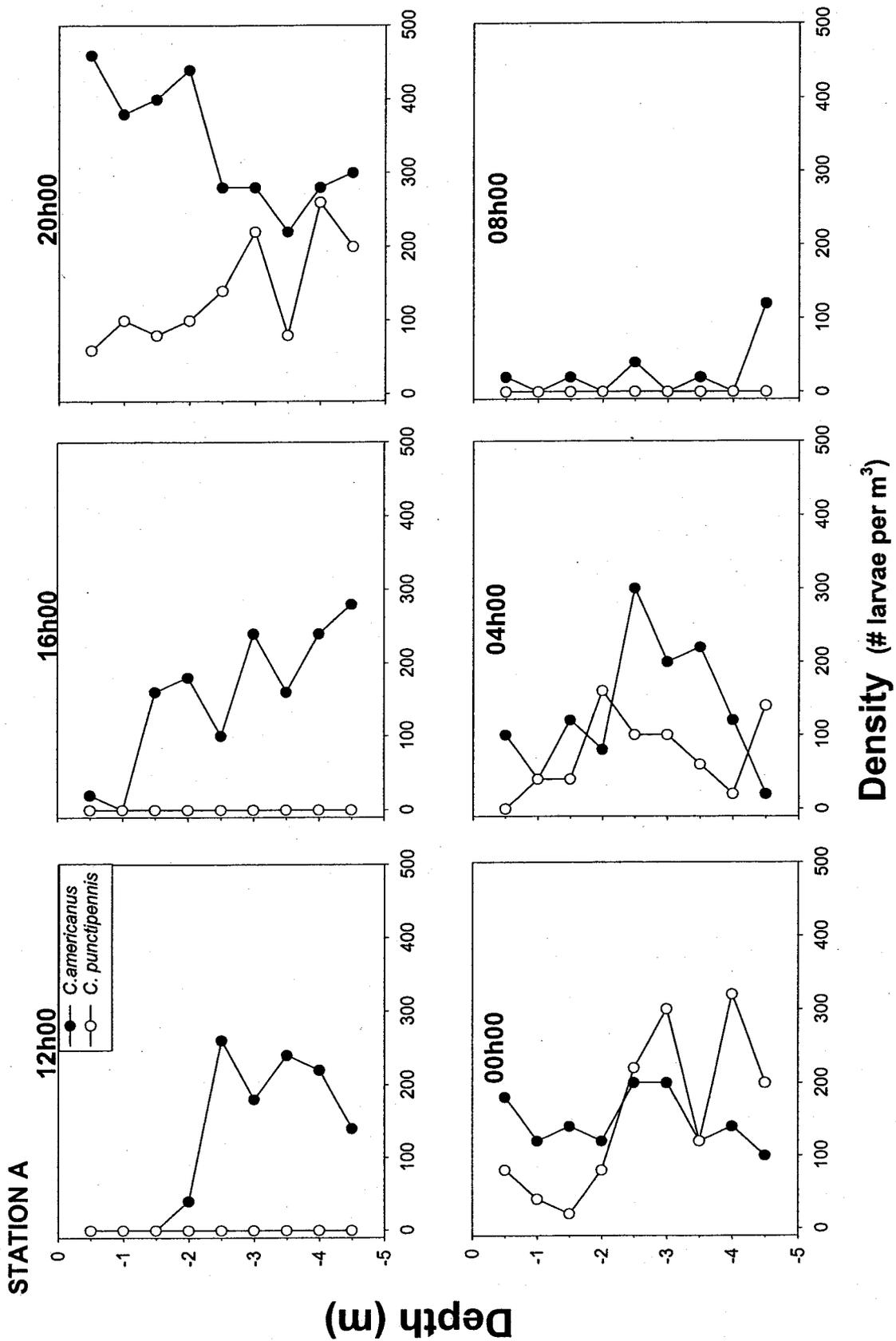
## **SECTION III**

### **ANNEXES**

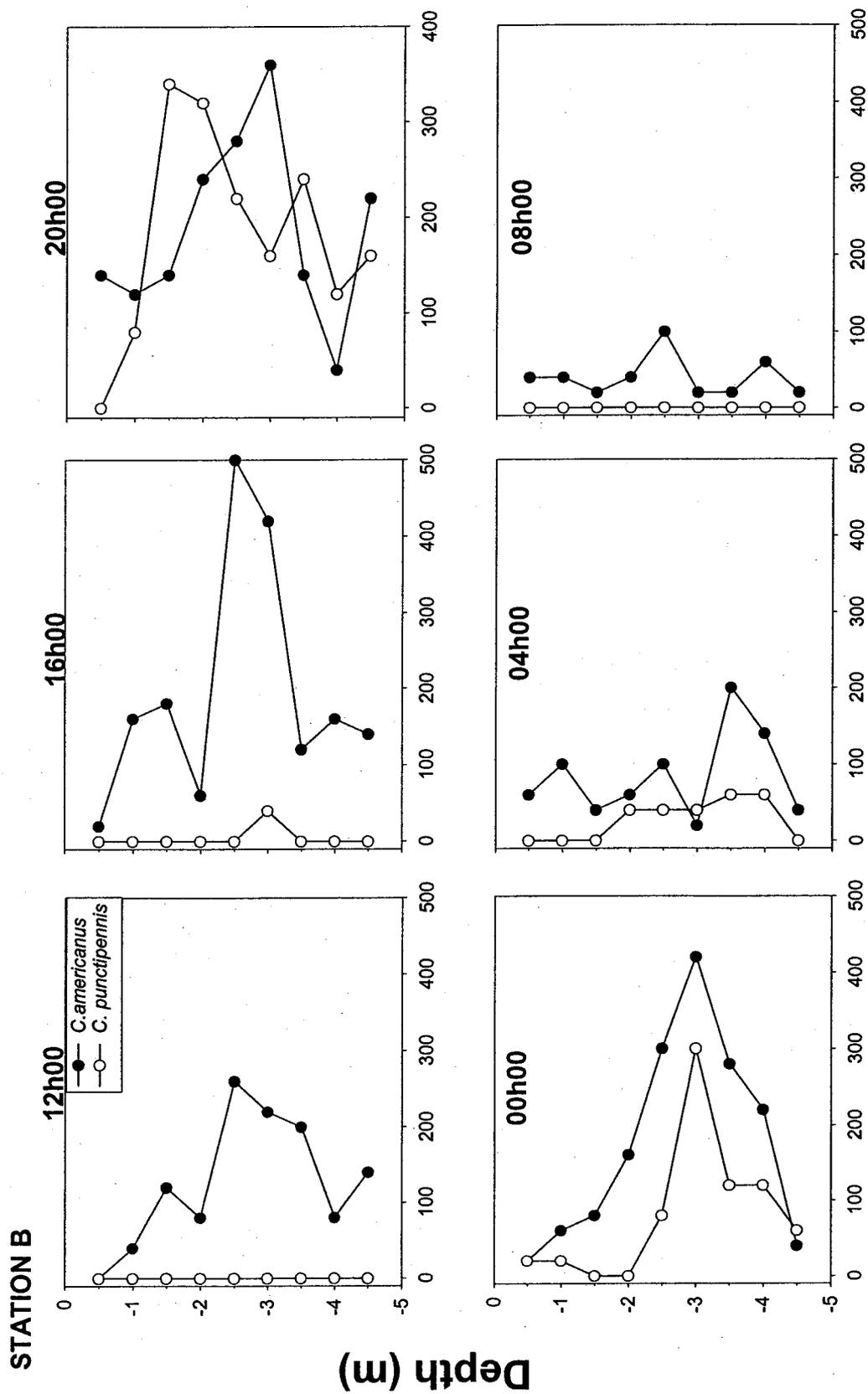
**Régime alimentaire de deux espèces *Chaoborus* dans un lac hautement acide et contaminé en métaux traces: le lac Turcotte**

## Figure Legends

- Annexe 1.** Diel changes in the vertical distribution of larvae of 2 *Chaoborus* species.
- Annexe 2.** Proportion of larvae of 2 *Chaoborus* species in the water column with food in their gut.
- Annexe 3a.** Comparison of *Chaoborus* vertical distributions with the biomass of their potential prey: rotifers.
- Annexe 3b.** Comparison of *Chaoborus* vertical distributions with the biomass of their potential prey: microcrustaceans.
- Annexe 3c.** Comparison of *Chaoborus* vertical distributions with the biomass of their potential prey: chironomids.
- Annexe 5.** Number et biomass of prey eaten by *Chaoborus*

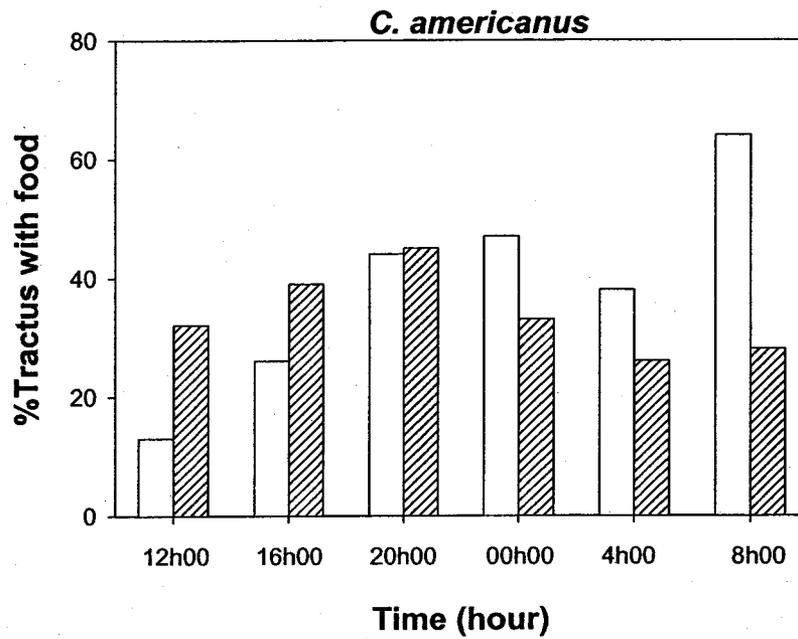
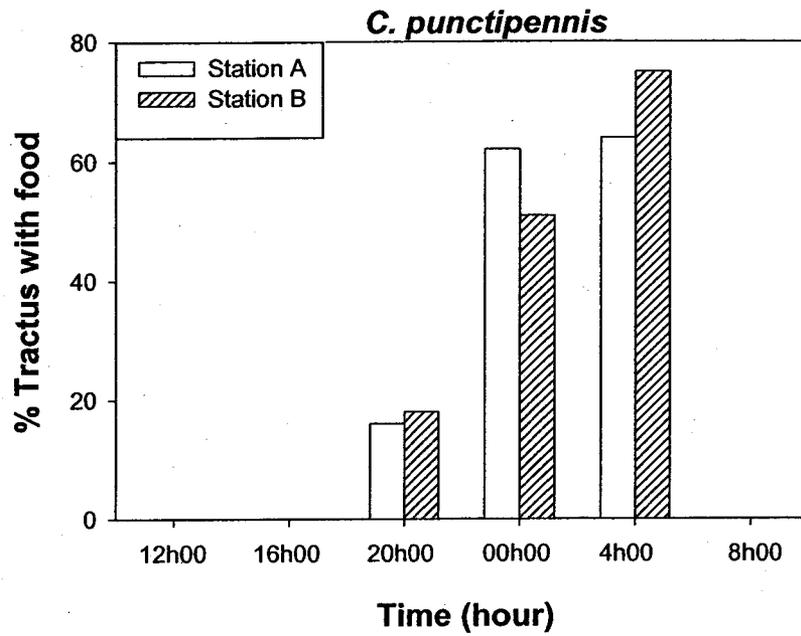


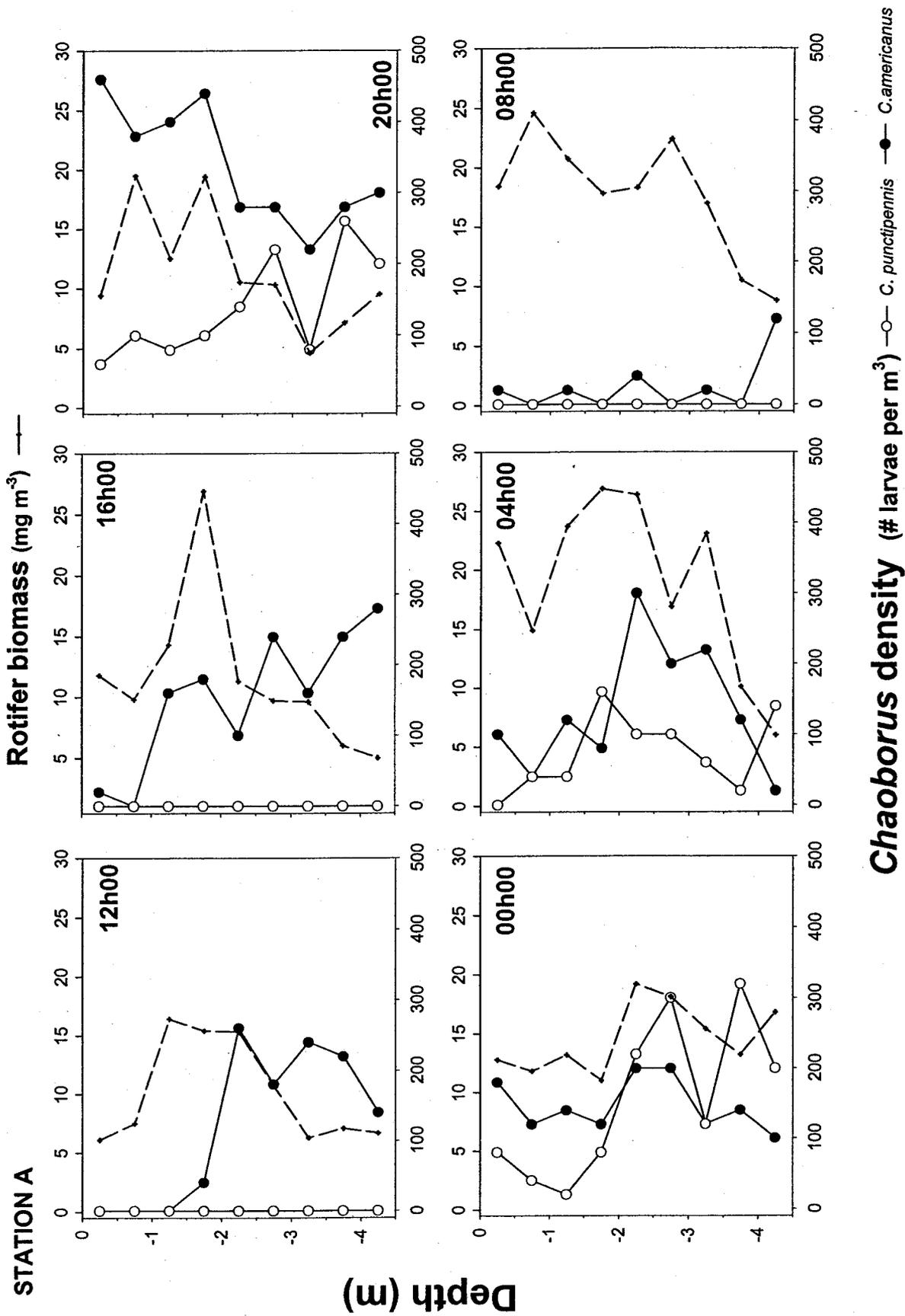
Annexe 1.



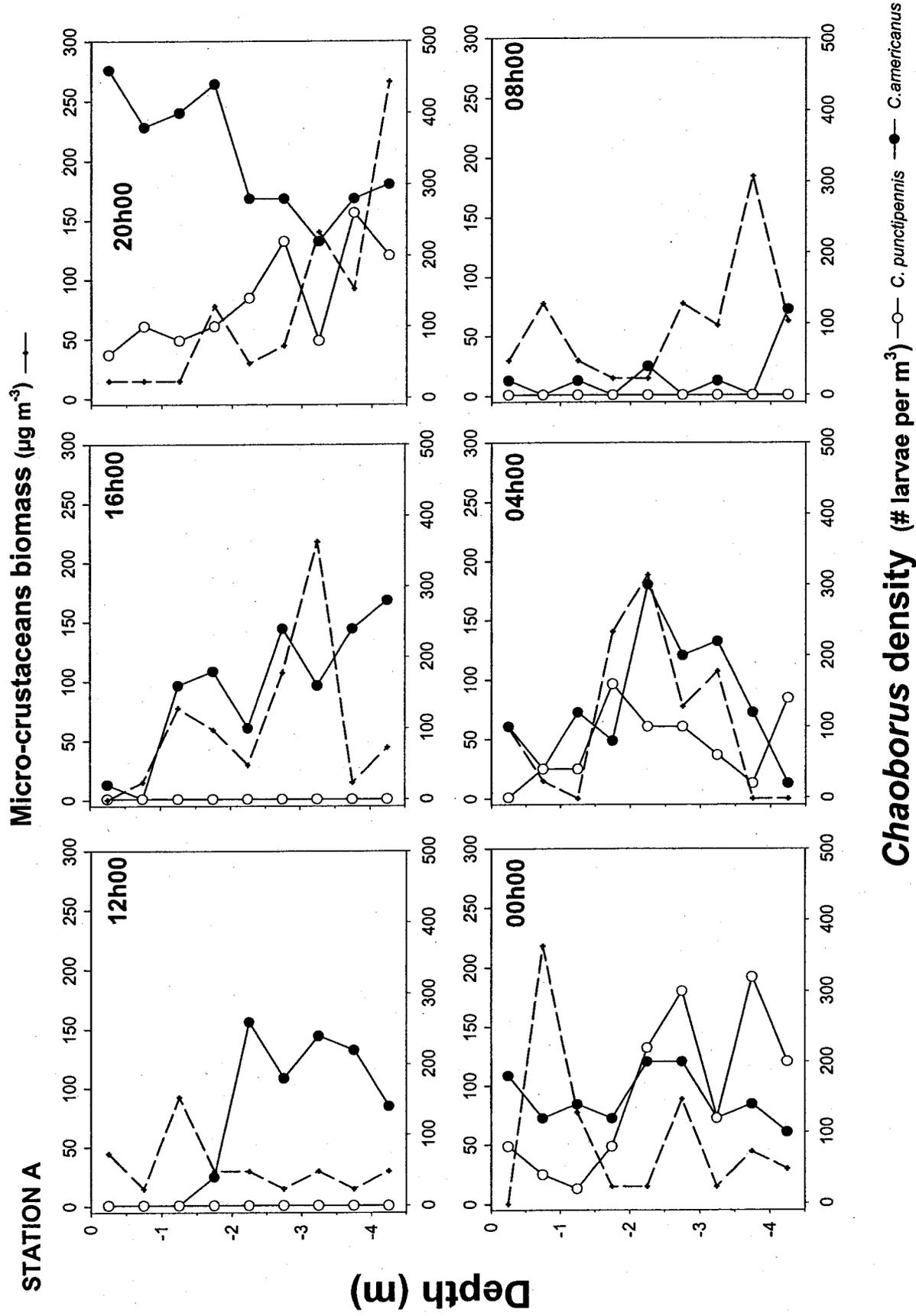
Density (# larvae per m<sup>3</sup>)

Annexe 1. Cond't...



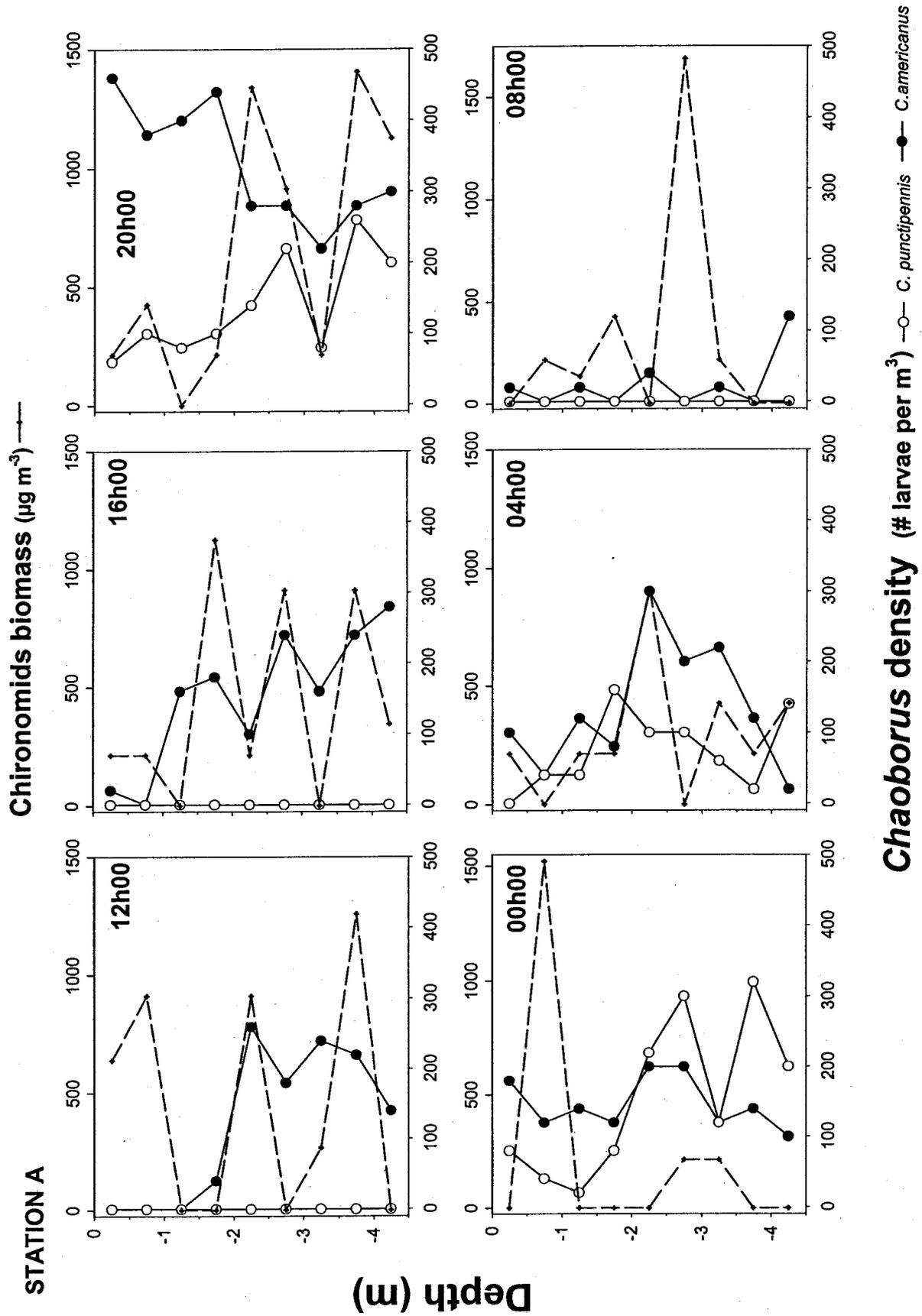


Annexe 3a.



**Chaoborus density (# larvae per  $\text{m}^3$ )** —○— *C. punctipennis* —●— *C. americanus*

Annexe 3b.



Annexe 3c.

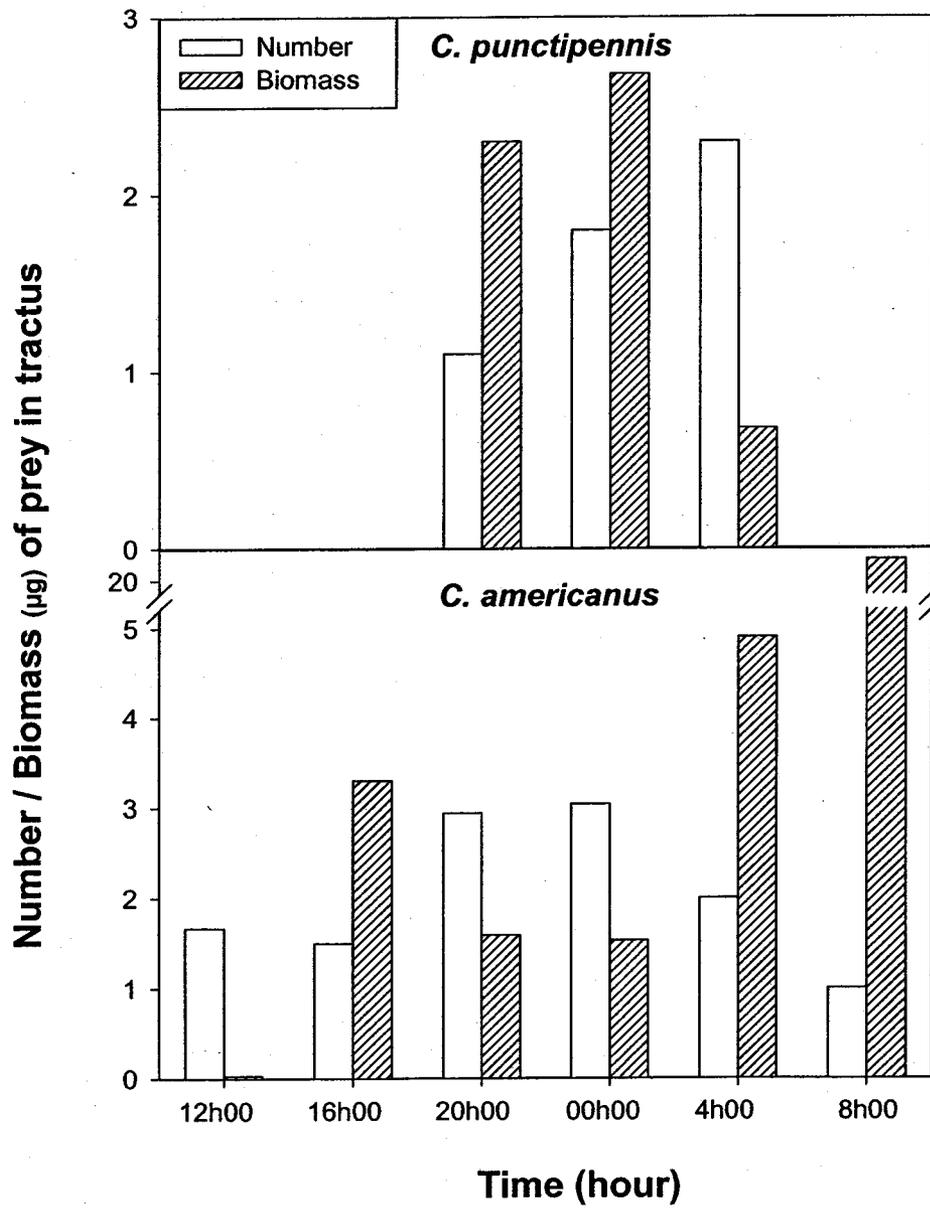
## Annexe 4. Ivlev selectivity index

Time	<i>Chaoborus</i>	Rotifera	Cladocera		Copepoda	Insecta
		Keratella	Bosmina	Daphnia	Cyclopoida	Chironomidae
12h00	<i>americanus</i>	-0.999	-1	---	-1	-1
12h00	<i>punctipennis</i>	-1	-1	---	-1	-1
16h00	<i>americanus</i>	-0.999	-0.988	-1	-0.739	-0.976
16h00	<i>punctipennis</i>	-1	-1	-1	-1	-1
20h00	<i>americanus</i>	-0.999	-0.955	-1	---	-0.969
20h00	<i>punctipennis</i>	-0.999	-0.977	-1	---	-0.995
0h00	<i>americanus</i>	-0.999	-0.965	-0.818	-1	-0.969
0h00	<i>punctipennis</i>	-0.999	-0.965	-0.739	-1	-0.917
4h00	<i>americanus</i>	-0.999	-0.970	-1	-1	-1
4h00	<i>punctipennis</i>	-0.999	-0.961	-0.928	-1	-1
8h00	<i>americanus</i>	-0.999	-1	-0.980	---	-1
8h00	<i>punctipennis</i>	-1	-1	-1	---	-1

L'index de sélectivité d'Ivlev (E) peut être défini selon l'équation suivante:

$$E = \frac{r_i - p_i}{r_i + p_i}$$

où  $r_i$  correspond à la biomasse d'un taxa dans le tractus de *Chaoborus* et  $p_i$  à la biomasse de ce même taxa dans l'environnement.



Annexe 5.