### INRS-EAU

# UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

# MÉMOIRE DE MAÎTRISE

## PRÉSENTÉ

### COMME EXIGENCE PARTIELLE

## DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'EAU

PAR

### SYLVAIN MARTIN

ÉTUDE DES FACTEURS INFLUENÇANT L'ACCUMULATION DE MÉTAUX TRACES (CADMIUM, CUIVRE ET ZINC) CHEZ DEUX ESPÈCES SYMPATRIQUES D'INSECTE AQUATIQUE (<u>CHIRONOMUS</u> GR. <u>PLUMOSUS</u>, spp).

NOVEMBRE 1992



#### AVANT-PROPOS

L'acheminement d'une étude comme celle-ci, à bon ou à mauvais port, dépend beaucoup des supports disponibles de notre entourrage immédiat. C'est maintenant, après la rédaction de ce mémoire, que je peux affirmer que j'ai eu, au cours des deux dernières années, un très bon encadrement. Ces supports me sont venus pour différents niveaux organisationnels: tant techniques, professionnels que moraux, et les gens qui m'ont aidé méritent quelques mots d'appréciation.

Tout d'abord, je voudrais remercier "mon oncle Doum" (René Rodrigue) pour être aussi souvent venu au lac St-Joseph et de partager avec moi, non seulement les maux de dos associés à chaque remontée de benne, mais aussi les coups de soleil des journées d'été sur le lac...

Mes remerciements vont aussi à des gens qui m'ont aidé à frayer un chemin soit dans le grand labo, dans le petit labo ou dans la salle de microscopie. Ainsi, je remercie les techniciens de l'INRS-Eau, Michelle Bordeleau et Bernard Veilleux, pour leurs nombreux conseils techniques. De même, je remercie Annie St-Louis, Frédéric Shooner, Céline Gauthier et Gaétan Roy pour avoir su au moins "entendre" autant de jokes plattes que mon imagination ait été capable de produire tout en me donnant un coup de main soit au labo ou sur le terrain.

Une autre partie des remerciements s'adresse à M. André Tessier qui a eu assez de patience pour lire à deux reprises ce texte et d'y apposer ses commentaires scientifiques d'une façon constructive.

Pareillement, je tiens à remercier Mme Leah Bendell-Young d'avoir agit comme examinatrice externe pour la correction de ce document. Finallement, je voudrais adresser la majeure partie des appréciations à mon directeur "non-officiel", M. Landis Hare, pour son aide, et ceci à plusieurs niveaux: tant sur le terrain (même sur la glace), au laboratoire ou pour discuter des aspects analytiques ou scientifiques que comporte ce projet. Je tient à le remercier pour avoir su m'introduire avec autant de pédagogie, ce qui est rare dans le domaine de la recherche universitaire, à cette science qu'est la bibitologie et à son aspect écotoxicologique. Ses conseils ainsi que sa compréhension aux points de vue personnels et scientifiques m'ont été d'un très grand aide et une source de grande motivation. <u>RÉSUMÉ</u>

Des larves benthiques de deux espèces du genre *Chironomus* gr. *plumosus* vivent en sympatrie dans une zone située entre 8 et 9 mètres de profondeur du lac St-Joseph. Les deux taxa sont distingués par une série de caractères morphologiques de leur corps et de leur pièces buccales. Une des deux présente des concentrations totales neuf fois et deux fois plus grandes que l'autre en cadmium et en zinc respectivement, les concentrations de cuivre étant égales. Les variations temporelles des concentrations se sont révélées absentes sauf pour le cuivre pour une des deux espèces et les écarts de concentrations entre les espèces se sont maintenues. Une étude de la distribution corporelle des métaux parmi différents tissus des larves a été faite et révèle que le cadmium et le cuivre sont accumulés de façon plus importante dans les tissus du tube digestif et que le zinc est concentré en majeure partie dans le corps.

Étant donné les divergences de concentrations, les variations inter-espèces deviennent importantes et compliquent la réponse que l'on obtiendrait d'une étude de bioindicateurs se référant à un groupe taxonomique "plus grand" que celui de l'espèce.

Trois aspects de la niche écologique des espèces ont été étudiés afin d'expliquer ces concentrations compte tenu des similitudes (écologiques, morphologiques, physiologiques etc..) reliant les deux espèces étudiées. Ceux-ci se situent au niveau du cycle de vie, du mode alimentaire et de la dynamique d'échange des métaux entre les larves et le milieu.

D'abord, les deux espèces se sont révélées univoltines. Le développement de l'une d'entre elles devance légèrement celui de l'autre pour une date donnée. Cette différence n'est probablement pas assez importante pour justifier les différences observées au niveau des concentrations.

L'une des espèces s'alimenterait de façon plus fréquente de sédiments oxiques de surface alors que l'autre se nourrirait de sédiments en partie anoxiques en profondeur. Les concentrations totales de métaux ne sont pas ou très peu différentes dans les contenus intestinaux, mais la fraction étudiée ne réfléte pas nécessairement la quantité biodisponible. Par ailleurs, les espèces ont toutes deux des comportements alimentaires du type "deposit feeder". Le taux de passage de la nourriture dans le tube digestif est plus rapide et plus régulier pour l'espèce qui s'alimente de sédiments anoxiques. L'autre espèce s'alimente de façon épisodique suggérant qu'elle pourrait être aussi filtreuse. Des éléments de réponse aux différences observées apparaîssent, compte tenu de leur mode alimentaire et des conditions du milieu où chacune d'elles se nourrit. Dans l'expérience de dynamique des métaux, l'espèce la plus concentrée en cadmium et en zinc dans le milieu naturel a accumulé légèrement plus de cadmium et beaucoup moins de zinc que l'autre espèce. Le facteur de bioconcentration calculé selon des données récoltées sur le terrain montre des valeurs d'un et deux ordres de grandeur plus grand pour le cadmium et le zinc respectivement pour cette même espèce comparativement au modèle de cinétique de premier ordre utilisé.

vi

# TABLE DES MATIÈRES

AVANT PROPOS	iii
RÉSUMÉ	v
TABLES DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	xii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.	1
<ul> <li>CHAPITRE 1. CARACTÉRISATION DU MILIEU</li> <li>1.1 Introduction</li> <li>1.2 Description du site d'étude du lac St-Joseph, Québec</li> <li>1.2.1 Situation géographique et influences sur le niveau trophique</li> <li>1.2.2 Site d'échantillonnage</li> <li>1.3 Physico-chimie et production primaire du lac</li> <li>1.3.1 Matériels et méthodes.</li> <li>1.3.2 Résultats</li> <li>1.3.3 Discussion</li> </ul>	11 11 12 12 13 13 13 15 18
CHAPITRE 2. CARACTERISATION DES ESPECES DE <i>CHIRONOMUS</i> SPP . 2.1 Introduction 2.2 Matériels et méthodes 2.3 Résultats 2.4 Discussion	27 27 28 31 33
CHAPITRE 3. CONCENTRATIONS DE MÉTAUX TRACES DES DEUX ESPÈCES DE CHIRONOMUS SPP. 3.1 Introduction. 3.2 Matériels et méthodes . 3.3 Résultats. 3.3.1 Concentrations totales des métaux dans les larves. 3.3.2 Variation temporelle des concentrations totales des larves 3.3.2 Distribution des métaux dans le corps des larves	41 41 42 46 46 46

3.4 Discussion	48
CHAPITRE 4. CYCLE DE VIE	53
4.1 Introduction	53
4.2 Matériels et méthodes	54
4.3 Résultats	55
4.4 Discussion	56
CHAPITRE 5. MODE ALIMENTAIRE	61
5.1 Introduction	61
5.2 Matériels et méthodes	63
5.3 Résultats	65
5.3.1 Présence de sédiments oxiques ou anoxiques dans les contenus	
intestinaux	65
5.3.2 Concentration de métaux traces dans les contenus intestinaux.	66
5.3.3 Taux de passage de la nourriture	66
5.4 Discussion	67
CHAPITRE 6. DYNAMIQUE D'ÉCHANGE DES MÉTAUX ENTRE LES	
LARVES ET LEUR MILIEU	77
6.1 Introduction	77
6.2 Matériels et méthodes	78
6.2.1 Accumulation de <sup>109</sup> cadmium et de <sup>65</sup> zinc	78
6.2.2 Dépuration des radioisotopes	82
6.2.3 Eau interstitielle	83
6.3 Résultats	84
6.3.1 Distribution des radioisotopes dans l'eau surnageante et dans l'	eau
interstitielle	84
6.3.2 Métaux sorbés sur la surface de l'exosquelette	84
6.3.3 Métaux bioaccumulés	85
6.4 Discussion	87
6.4.1 Sorption des métaux à la surface des larves	87
6.4.2 Métaux bioaccumulés	88
CONCLUSIONS	107
BIBLIOGRAPHIE	111

viii

#### LISTE DES TABLEAUX

### Tableau

page

- 2.1 Distinction des stades larvaires de *Chironomus* spp. selon 32 l'épaisseur (mm) de la tête mesurée au niveau des taches oculaires.
- 3.1 Nombre d'échantillons et nombre d'individus par échantillon pour 44 les dosages des métaux à chaque date de récolte.
- 3.II Concentration totale (moy. ± é.t.) de cadmium, cuivre et zinc 45 (μg/g poids sec) chez des larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. récoltées au site d'échantillonnage du lac St-Joseph le 19 février 1991. Pour l'espèce 1, n=10 échantillons de 10 individus et n=7 échantillons de 10 individus pour l'espèce 2.
- 5.I Poids sec (mg par contenu intestinal) des contenus intestinaux 68 (C.I.), quantités (mg pour 1000 individus), concentrations totales (μgg<sup>-1</sup> poids sec) de Cd, Cu, Fe et Zn dans les contenus intestinaux et rapport (espèce 1 /espèce 2) des moyennes de ces paramètres pour des larves de quatrième stade de deux espèces de Chironomus spp. Pour chaque espèce, n=5 échantillons de cinq individus chacun. \*:p<0.05, \*\*: p<0.025 (Mann-Whitney), n.s.=non significatif.</li>
- 5.II Tableau récapitulatif des différents paramètres discutés dans les 74 derniers chapitres.
- 6.I Valeurs calculées (moy. ± é.-t.) des variables utilisées par le 91 modèle de dynamique d'échange du <sup>109</sup>Cd et du <sup>65</sup>Zn pour des larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. F.B.\* et F.B. sont respectivement les facteurs de bioconcentration de l'expérience et du terrain.



#### LISTE DES FIGURES

### Figure

page

- 1.1 Carte géographique de la région du lac St-Joseph et localisation par 20 rapport à la province de Québec (en médaillon). Les lignes pointillées délimitent les municipalités.
- 1.2 Carte du lac St-Joseph montrant deux charges du lac, l'exutoire, les 21 deux villages, la station forestière, le site d'échantillonnage et la bathymétrie du lac. Les profondeur sont en pieds. \*= Site d'échantillonnage.
- 1.3 Température des sédiments au site d'échantillonnage à ~9 mètres de 22 profondeur au lac St-Joseph de février à novembre 1991.
- 1.4 Profils verticaux de paramètres physico-chimiques et de la 23 chlorophylle *a*, pourcentage de saturation d'oxygène en profondeur (sous la date) et transparence de l'eau au site d'échantillonnage du lac St-Joseph de mai à octobre 1991. Température (°C): , transparence (m) , conductivité ( $\mu$ S) , pH , oxygène dissous (mg/l) , et chlorophylle *a* ( $\mu$ g/l) . L'échelle du haut de chaque graphique réfère aux unités de température, de conductivité et d'oxygène dissous, celle du bas aux unités du pH et de la chlorophylle *a*.
- 1.5 a Concentration (μg/l) de métaux traces (Cd, Cu, Fe et Zn) dissous 24 dans l'eau intersticielle des sédiments de surface et dans l'eau surnageant les sédiments à proximité du site d'échantillonnage du lac St-Joseph, juin 1991. Les trois courbes représentent les profils des trois dialyseurs ( , , , ).
- 1.5 b Concentration de manganèse (μg/l), carbone organique (mg/l), 25 carbone inorganique (mM) et d'ion sulfate (μM) dissous dans l'eau intersticielle de surface et dans l'eau surnageant les sédiments à proximité du site d'échantillonnage du lac St-Joseph, juin 1991. Les trois courbes représentent les profils de trois dialyseurs différents ( , , , ).

- 2.1 Extrémité distale de l'abdomen des larves de quatrième stade des 36 deux espèces de Chironomus spp. étudiées montrant les tubuli latéraux au bout terminal du segment X de a) espèce 1 et b) espèce 2 (15x).
- 2.2 Noircissements de la capsule céphalique des larves de quatrième 37 stade des deux espèces de *Chironomus* spp.: clypeus (partie dorsale) de a) espèce 1, b) espèce 2, gula (partie ventrale) de c) espèce 1 et d) espèce 2 (15x).
- 2.3 Pièces buccales de l'espèce 1 (*Chironomus* sp., larve de quatrième 38 stade) montrant a) une mandibule, b) les plaques paralabiales, c) le mentum et d) le gula (100x).
- 2.4 Sillons des plaques paralabiales des larves de quatrième stade des 39 deux espèces de *Chironomus* spp.: a) espèce 1 et b) espèce 2 (400x).
- 2.5 Mandibule des larves de quatrième stade des deux espèces de 40 *Chironomus* spp. montrant la troisième dent latérale de la mandibule (flèche) de a) espèce 1 et b) espèce 2 (400x).
- 3.1 Shéma généralisé d'un tube digestif d'une larve du genre 50 Chironomus montrant les quatres divisions du tube et la valvule stomodéale. Seulement deux des quatre tubules de Malpighi sont dessinés (Tiré de Hare et al. 1991).
- 3.2 Variations temporelles de la concentration totale (moy. ± é.t.) de 51 cadmium, cuivre et de zinc. \*= les espèces ont des concentrations significativement différentes pour une date donnée (Kruskall-Wallis, p<0.05). L'espèce 2 n'a pas été retrouvée le 20 août.</li>
- 3.3 Larves de quatrième stade des deux espèces de Chironomus spp. récoltées au site d'échantillonnage du lac St-Joseph le 19 février 1991 (n=10 pour l'espèce 1 et n=7 pour l'espèce 2). Concentrations (μg · g<sup>-1</sup> poids sec) de différentes parties du corps en Cd, a); Cu, c); et Zn, e) importance relative des quantités, dans ces parties du corps, de: Cd, b); Cu, d); Zn, f); valeurs absolues g) et relatives h) des différentes parties du corp.

xii

52

- 4.1 Densité (nombre d'individu par mètre carré) des stades larvaires de 59 Chironomus sp, espèce 1, en fonction de la longueur totale du corps et température des sédiments (sous la date) au site d'échantillonnage du lac St-Joseph à cinq dates entre le 22 mai et le 22 octobre 1991. Le graphique du 19 septembre n'est pas à la même échelle verticale que les autres.
- 4.2 Densité (nombre d'individu par mètre carré) des stades larvaires de 60 Chironomus sp., espèce 2, en fonction de la longueur totale du corps et température des sédiments (sous la date) au site d'échantillonnage du lac St-Joseph à cinq dates entre le 22 mai et le 22 octobre 1991.
- 5.1 Photographies des sédiments anoxiques et oxiques retrouvés 75 respectivement dans les tubes digestifs de *Chironomus* spp.: a) espèce 1 et b) espèce 2. La flèche montre une intrusion de sédiments oxiques à travers les sédiments en partie anoxiques d'un tube digestif d'un individu de l'espèce 1 (15x).
- 5.2 Distance parcourue (mm; moy. ± é.-t.) par la nourriture en fonction 76 du temps dans le tube digestif des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. à 20°C. Le tube a été sous-divisé en dix unités égales: 0 et 10 correspondent aux extrémités antérieures et postérieures respectivement. Les données sont standardisées pour une larve dont la longueur du tube digestif est de 15 mm. Pour chaque point, n=10 pour l'espèce 1 et n=4 pour l'espèce 2.
- 6.1 Figure 6.1: Concentrations de radioisotopes de Cd et de Zn (DPM; 96 moy. ± é.-t.) en fonction du temps des filtres et de l'eau surnageante filtrée des microcosmes. L'eau avait été ajoutée dans les microcosmes huit jours avant l'introduction des larves.
- 6.2 Profils des concentrations de <sup>109</sup>Cd et <sup>65</sup>Zn dans l'eau intersticielle 97 en fonction de la profondeur dans les microcosmes. Les trois dialyseurs ( , , ) sont demeurés dans les sédiments pendant 12 jours à partir du jour 35 de l'expérience d'accumulation.

xiii

- 6.3 Sorption de <sup>109</sup>Cd et de<sup>65</sup>Zn à la surface du corps des larves de 98 quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. à 13°C: quantités brutes de radioisotope sorbé par individu (DPM par individu) et pourcentage de la quantité totale de radioisotope associé aux larves qui est présent sous forme sorbé à la surface. Les larves ont été en contact avec les sédiments radioactifs pendant 191 jours.
- 6.4 Concentrations (DPM · mg<sup>-1</sup> poids sec) de <sup>109</sup>Cd et <sup>65</sup>Zn (moy. ± 99 é.t., n=4, 3 au jours 191) en fonction du temps des contenus intestinaux des larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments radioactifs pendant 191 jours à 13°C.
- 6.5 Quantité (DPM par individu) et concentrations (DPM ⋅ mg<sup>-1</sup> poids 100 sec) de <sup>109</sup>Cd (moy ± é.t., n=4, 3 au jour 191) dans les corps, les tissus des tubes digestifs vidés et le sang des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments radioactifs pendant 191 jours à 13°C. Les courbes se référant aux concentrations dans les tubes digestifs et des animaux complets ont été générées de l'éq. (5) à partir des valeurs de k<sub>E</sub> calculées selon les données des jours 0-32 dans le cas des animaux complets et des jours 0-15 pour les tubes digestifs.
- 6.5 Quantité (DPM par individu) et concentrations (DPM ⋅ mg<sup>-1</sup> poids 101 sec) de <sup>65</sup>Zn (moy ± é.t., n=4, 3 au jour 191) dans les corps, les tissus des tubes digestifs vidés et le sang des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments radioactifs pendant 191 jours à 13°C. Les courbes se référant aux concentrations ont été générées de l'éq. (5) à partir des valeurs de k<sub>E</sub> calculées selon les données des jours 0-32 dans le cas des corps, des tubes digestifs et des animaux complets et des jours 0-8 pour le sang de l'espèce 1.
- 6.6 Répartition du poids total (moy., n=4, 3 à 191 jours) parmi trois 102 composantes du corps de larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. en fonction du temps pendant l'expérience d'accumulation.

xiv

- 6.7 Variation du rapport entre la quantité de <sup>109</sup>Cd et de <sup>65</sup>Zn mesurée 103 dans les tubes digestifs et celles du corps en fonction du temps pour des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues pendant 191 jours à 13°C dans des sédiments marqués.
- 6.8 Dépuration de <sup>109</sup>Cd (quantité: DPM par individu et concentration: 104
  a) DPM · mg<sup>-1</sup> poids sec, moy. ± é.t., n=4) du corps, des tissus du tube digestif, du sang et des animaux complets de larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments non-marqués à 13°C pendant 64 jours. Les larves avaient préalablement été maintenues dans des sédiments marqués pendant 66 jours. Les courbes se référant aux concentrations des tubes digestifs et des animaux complets ont été générées de l'éq. (2) selon les valeurs de k<sub>E</sub> calculées à partir des données des jours 0-32 dans le cas des animaux complets et des jours 0-15 pour les tubes digestifs.
- 6.8 Dépuration de <sup>65</sup>Zn (quantité: DPM par individu et concentration: 105
  b) DPM ⋅ mg<sup>-1</sup> poids sec, moy. ± é.t., n=4) du corps, des tissus du tube digestif, du sang et des animaux complets de larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments non-marqués à 13°C pendant 64 jours. Les larves avaient préalablement été maintenues dans des sédiments marqués pendant 66 jours. Les courbes se référant aux concentrations ont été générées de l'éq. (2) selon les valeurs de k<sub>E</sub> calculées à partir des données des jours 0-32 dans le cas des corps, des tubes digestifs et des animaux complets et des jours 0-8 pour le sang de l'espèce 1.

XV



### INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'industrialisation, plusieurs de nos cours d'eau se retrouvent avec d'importantes quantités de polluants. Parmi eux, on trouve les métaux traces tels le cadmium, le cuivre, le zinc, le mercure et l'aluminium qui, à des concentrations plus ou moins élevées, sont considérés comme toxiques.

On identifie deux sources majeures de métaux traces dans les milieux aquatiques: soit les apports indirects tels les rejets atmosphériques des métaux tels le cadmium et le zinc (Nriagu et Pacyma 1988) et soit les apports directs comme le ruissellement d'eau usée, de mines, d'industries ou de fonderies ou la remise en suspension de sédiments naturels (remise en circulation de l'aluminium par une baisse du pH de l'eau de ruissellement) ou déjà contaminés. Les sources naturelles de métaux traces (p.e. volcans, feux de forêts) sont, en général, d'importance mineure vis-à-vis les sources anthropogéniques (Nriagu 1989).

Mais quelqu'en soient leurs sources, une grande partie des métaux présents dans un milieu aquatique s'associent aux particules en suspension. C'est souvent sous cette forme qu'ils migrent vers les zones profondes des lacs où ils feront partie du sédiment. Ils auront alors l'opportunité de créer de nouveaux liens chimiques plus ou moins forts avec les différentes composantes de ce milieu.

Par ailleurs, les sédiments représentent un environnement fort dynamique et complexe au point de vue de la spéciation des métaux. En effet, les conditions de concentration de l'ion H<sup>+</sup> (pH) et de potentiel d'oxido-réduction (pE) sont variables dans la colonne de sédiment. Ainsi, la force des liens formés et donc la concentration de métal disponible pour les organismes sera variable non seulement en fonction du ligand partenaire (Tessier et al. 1984) mais aussi des conditions de pH (Bendell-Young et Harvey 1988; Campbell et Stokes 1985) et de potentiel d'oxydo-réduction (Luoma 1983).

Mais, qu'advient-il des organismes qui vivent dans ces milieux?...Et comment ferait-on pour savoir si un plan d'eau est en péril? Il est admis que les métaux dans le milieu deviennent toxiques à certaines concentrations (Hare 1993). De plus, nous savons que les apports anthropogéniques dérèglent le cycle géochimique de plusieurs éléments traces et que certains métaux s'accumulent dans différents compartiments de la chaine alimentaire aquatique ou terrestre. Mais les effets sur les organismes qui y vivent ainsi que la manière dont les cycles geochimiques sont influencés restent à connaître par les écotoxicologistes. Étant donné que ces milieux suscitent des intérêts économiques (pêche sportive, pleinair, consommation d'eau et de chair animale) et écologiques importants, on doit connaître leur "état de santé" et aussi les facteurs influençant la bioaccumulation par les organismes.

Un moyen de visualiser la gestion des métaux par les organismes vivant en association avec les sédiments (animaux benthiques) est d'imaginer une boîte noire d'où peuvent entrer et sortir les éléments traces. On énumère alors trois types d'entrées et quatre types de sorties. D'un côté l'ingestion de nourriture, la réaction avec les surfaces d'échange d'oxygène (branchies, peau), et l'adsorption à la surface du corps représentent les voies par lesquelles les métaux peuvent devenir une composante de l'organisme. Et de l'autre, les fèces, les surfaces d'échange d'oxygène, l'exuvie (exosquelette rejetté à la mue) et la désorption du corps sont les voies de dépuration. De ce point de vue, la bioaccumulation devient la

2

ŝ.

différence entre la somme des entrées et la somme des sorties des polluants par rapport au corps. La quantité de polluant à un temps précis représente l'ensemble des processus d'entrée et de sortie. C'est-à-dire qu'elle est l'intégration de l'influence des facteurs biotiques et abiotiques sur les échanges de métaux entre l'organisme et son environnement.

Du point de vue pratique, si on veut connaître le niveau de santé d'un cours d'eau, il est possible de mesurer les quantités de polluants directement dans le milieu, dans l'eau ou dans les sédiments, puis d'en faire un diagnostic. Cependant, cette méthode a le désavantage qu'on ne peut pas connaître la proportion de ce polluant disponible et potentiellement toxique pour l'animal par rapport à la quantité totale dans le milieu. Une autre façon de procéder est de doser les polluants dans un animal dont la concentration peut être ultérieurement reliée à un état de santé du milieu. Cette méthode consiste à utiliser des bioindicateurs. Elle a un certain avantage sur la précédente car la teneur en polluants retrouvée à l'intérieur même du bioindicateur représente non seulement la quantité disponible mais celle effectivement assimilée par les organismes.

Sachant que les sédiments des lacs jouent le rôle de réserve de métaux, on doit chercher un indicateur vivant dans ce milieu. Selon Butler et al. (1971) et Phillips (1980), un organisme est un bon indicateur si:

1- il accumule les polluants, ici les métaux, sans être tué par les quantités rencontrées,

2- il est sédentaire et donc représentatif du site,

3- il est abondant sur toute la surface d'étude,

4- il vit assez longtemps pour permettre l'échantillonnage sur une assez longue période de temps,

5- il est de taille raisonnable afin d'avoir suffisamment de tissus pour le dosage du ou des polluants,

6- il est facile à échantillonner et capable de survivre en laboratoire pour permettre la défécation avant l'analyse et pour des mesures de prise en charge de polluants,

7- on est capable de faire de simples corrélations entre la concentration de polluant dans le corps et la concentration moyenne du milieu,

8- tous les individus d'une même espèce faisant partie d'une étude de surveillance montrent une même corrélation entre la concentration corporelle et la concentration du milieu en toutes occasions et sous toutes les conditions.

Les larves d'insectes, de par leurs caractéristiques physiques et écologiques, remplissent la plupart de ces conditions, ce qui en ferait de bons indicateurs des milieux d'eau douce quant aux métaux. En effet, elles accumulent des concentrations allant de basses à modérées (Hare, 1993), elles sont sédentaires, souvent très abondantes, faciles à échantillonner et assez robustes pour survivre en laboratoire. De plus, leurs concentrations de métaux semblent être reliables aux concentrations du milieu (Bendell-Young et Harvey 1991; Hare, résultats nonpublié; Krantzberg et Stokes 1988) et les larves aquatiques d'insectes représentent un taxon des plus divers et des plus communs dans les milieux d'eau douce. Elles sont présentes sur une grande gamme de profondeurs et de pH, ce qui n'est pas le cas pour plusieurs autres groupes d'espèces (Hare 1993). Étant de croissance

4

rapide, leur utilisation se justifie dans les besoins d'études de "biomonitoring" à court terme.

Mais l'emploi de bioindicateurs fait face à certaines limitations de par le peu de connaissances sur l'influence des facteurs biotiques et abiotiques (Hare et Campbell 1992) qui, de concert, contrôlent l'accumulation nette de métaux traces chez les animaux benthiques d'eau douce. Il est possible de classer les facteurs biotiques selon trois niveaux d'organisation: soit la population, l'individu et sa physiologie. Sous le premier aspect, on retrouve l'influence de phénomènes tels le cycle de vie, la distribution spatiale de l'espèce, la compétition intra- ou interespèce, la prédation et les migrations. L'aspect individuel comprend: la taille et la croissance des individus, leur mode alimentaire, le taux de passage de la nourriture dans l'intestin. Finalement, le dernier volet regroupe les mécanismes cellulaires et moléculaires d'échange, de transport, d'accumulation et de dépuration de polluants entre le lumen, les cellules du tube digestif et les autres cellules du corps, le pH à l'intérieur du tube digestif, le rapport entre la surface d'échange et le volume de nourriture, la taille des particules ingérées etc..

L'accumulation nette de métaux par les organismes d'eau douce a été étudiée à plusieurs niveaux taxonomiques: par exemple chez le phytoplancton (Yan et Stokes 1978), les plantes aquatiques (Campbell et al. 1985), les poissons (Bendell-Young et Harvey 1989; Berg et Weiss 1975), les crustacés (van Hattum et al. 1989; Yan et Mackie 1989; Zauke 1982), les mollusques (Tessier et al. 1984; Tessier et al. 1992), les annélides (Klerks et Levinton 1989) et les insectes (Hare et al. 1991a et b; Darlington et Gower 1990). Plusieur niveaux de vie ont aussi été considérés: de la cellule (Darlington et Gower 1990; Aoki et al. 1989), au tissus (Seidman et al. 1986a et b), à l'organe (Hare et al. 1991a), à l'individu (Keenan et Alikhan 1991), à la population (Krantzberg et Stokes 1989) et à la communauté (Clements et al. 1990). Beaucoup de travaux ont été effectués au niveau de la communauté (Kimball et Levin 1985) où certaines espèces, p.e. les éphémères se sont révélés plus affectés que d'autres par la présence de métaux dans le milieu (Clements et al. 1990; Duzzin et al. 1988).

De plus, le domaine de recherche reliant les larves d'insectes aquatiques et les métaux s'étend sur plusieurs aspects. Tout d'abord, la distribution corporelle des métaux a été décrite entre autres par Darlington et Gower (1990) au niveau des granules du cytosol chez un trichoptère, par Seidman et al. (1986a et b) dans des tissus du tube digestif de *Chironomus thummi*, par Hare et al. (1991b) dans différents organes de chironomides, éphémère et mégaloptère et par Krantzberg et Stokes (1990) dans différents organes des larves du genre *Chironomus*. Par ailleurs, la dynamique d'échange des métaux a été étudiée par Hare et al. (1991b) chez *Hexagenia rigida* (éphémère), Timmermans et al. (1992) pour deux espèces de trichoptère et Timmermans (1991) pour *Chironomus riparius*. Finalement, les variations temporelles des concentrations de métaux traces ont aussi été mises en évidence pour maints taxa par Hare et Campbell (1992).

Plusieurs travaux sont des études de laboratoire où l'accent a surtout été mis sur les quantités ou les concentrations létales de métaux (Khangarot et Ray 1989; Pascoe et al. 1989) ou sur des effets toxiques des métaux sur: le cycle de vie (Palawski et al. 1989; Pascoe et al. 1989), l'émergence (Gerhardt 1990; Palawski et al. 1989; Pascoe et al. 1989), la locomotion (Gerhardt 1990), la survie ou la

6

tolérance (Gerhardt 1990; Yamamura et al. 1983), et le comportement alimentaire (Heinis et al. 1990).

Certains d'entre eux décrivent les concentrations de métal dans les larves d'insectes en fonction de facteurs biotiques tels l'âge et le poids des individus (Krantzberg 1989) ou le mode alimentaire (Smock 1983; Timmermans et Davids 1989) ou de facteurs abiotiques tels la température (Harvey 1971), le pH (Bendell-Young et Harvey 1988; Krantzberg et Stokes 1988), l'oxygène dissous (Bendell-Young et Harvey 1988) ou la spéciation des métaux dans les sédiments (Bendell-Young et Harvey 1991; Krantzberg et Stokes 1989; Timmermans et al. 1991).

Toutefois, des questions demeurent sans vraie réponse; par exemple, on cherche à déterminer si les animaux tirent les métaux de l'eau ou de la nourriture. En général les auteurs suggèrent des voies d'entrées possibles sans toutefois le démontrer (Hare et al. 1991b; Timmermans et al. 1992).

La littérature d'écotoxicologie comporte beaucoup d'exemples où on identifie les larves d'insectes au niveau de la famille (Bendell-Young et Harvey 1988 et 1991) ou du genre (Krantzberg et Stokes 1988, 1989 et 1990; Krantzberg 1989) dans des expériences sur l'accumulation de métaux traces. Mais des regroupements d'espèces comme ceux-ci peuvent inclure autant de réponses aux facteurs biotiques et abiotiques que cette unité de systématique comprend d'espèces. L'image que l'on obtient alors devient l'intégration de plusieurs cycles de vie, plusieurs modes alimentaires, plusieurs taux de passage etc.. et son interprétation devient alors difficile. Par contre, Ferraro et Faith (1992) montrent que, dans certains cas, le groupe taxonomique à utiliser qui serait "le moins

7

couteux" en temps pour une réponse stastistique tout aussi bonne, peut ne pas être celui de l'espèce.

De ce fait, une interrogation intéressante se soulève au point de vue du niveau taxonomique à utiliser afin que les études écotoxicologiques en tirent le maximum de profits. Le groupe systématique choisi doit minimiser d'un côté le temps investi au triage et à l'identification des espèces et maximiser de l'autre la précision de la réponse désirée.

#### **OBJECTIFS**:

L'objectif premier de cet ouvrage est de comparer la bioaccumulation de métaux traces chez deux espèces d'un même genre d'insecte aquatique, *Chironomus* (diptère, chironomide). Ces deux espèces vivent dans le même milieu (sympatrie). Des informations antérieures (Hare, résultats non-publiés) montrent que ces deux taxa ont des concentrations de cuivre (Cu) semblables mais ont des concentrations différentes en zinc (Zn) et surtout en cadmium (Cd). Ces informations suggèrent qu'il existe un ou plusieurs facteur(s) qui démarque(nt) les espèces au niveau de leur niche écologique et qui soit(ent) en mesure d'expliquer l'écart des concentrations de certains métaux traces dans leur tissus. Elles nous donne aussi accès à des aspects d'expérimentation et de discussion.

Des mesures doivent être prises tout d'abord afin de distinguer les espèces sur l'ensemble de leur cycle de vie et d'évaluer l'importance de certains facteurs biologiques dans la détermination de la concentration de métaux traces chez les deux espèces.

Trois facettes de la problématique pouvant expliquer les différences de concentrations dans les organismes seront étudiées. 1-Le premier aspect, se penchant sur l'aspect écologique, est que le cycle de vie de chacune des espèces est suffisamment différent pour causer ces différences. Par exemple, si le temps de génération est d'une année chez une espèce et de deux chez l'autre, des individus du même stade larvaire sont d'âge différents et peut-être de concentrations différentes en métaux traces. Les cycles biologiques seront décrits d'après des données récoltées sur le terrain. 2- Le comportement fouisseur et le mode alimentaire peuvent aussi être en mesure d'expliquer le phénomène et certains des aspects de ces paramètres seront vérifiés. 3- Finalement, les processus physiologiques contrôlant le taux d'échange des métaux entre les larves et le milieu aquatique pourraient également s'avérer responsables des différences de concentrations. Une expérience menée sur la dynamique d'échange de métaux traces où des radioisotopes de Cd et Zn seront ajoutés à des sédiments et accumulés par les larves sera effectuée en laboratoire.

Enfin, ce mémoire comprend six chapitres. Le premier décrit le site d'échantillonnage du lac St-Joseph. Le second fournit une description physique des espèces et décrit les efforts mis à l'identification des espèces. Une caractérisation de la distribution corporelle des métaux dans différents tissus des larves et une étude des variations temporelles des concentrations font l'objet du troisième chapitre. Finalement, la vérification de chacun des trois aspects à discuter décrits plus haut fait l'objet des trois derniers chapitres.

### CHAPITRE 1

### CARACTÉRISATION DU MILIEU

### **1.1 INTRODUCTION**

Ce premier chapitre a comme but de fournir une description du lac et plus précisément du site d'échantillonnage d'où proviennent les organismes étudiés ceci tant au point de vue de la localisation que des conditions environnementales prédominantes du site même. Tout d'abord, une brève description de la région et du lac sera faite. Cette partie sera suivie d'une caractérisation de différentes variables physico-chimiques et biologiques de la colonne d'eau au site. Finalement, des profils de concentration de métaux traces et de certain ions dissous dans l'eau interstitielle des sédiments de surface d'un site d'étude voisinant celui étudié ici seront analysés.

### 1.2 DESCRIPTION DU SITE D'ÉTUDE DU LAC ST-JOSEPH, QUÉBEC

1.2.1 SITUATION GÉOGRAPHIQUE ET INFLUENCES SUR LE NIVEAU TROPHIQUE

Cette étude a été menée au lac St-Joseph, Québec (46°53'N, 71°38'O). Celui-ci se trouve à environ 40 kilomètres au nord-ouest de la ville de Québec dans le comté de Portneuf (Fig. 1.1). Il est situé sur le bouclier canadien à environ 10 kilomètres de la région séparant le bouclier des basses terres du St-Laurent.

Deux villages (Fossambault-sur-le-lac et Lake-view) et la station forestière de Duschesnay bordent les rives du lac (Fig. 1.2). Les villages comptent moins de 1500 habitants chacun. Beaucoup de chalets et de maisons d'été sont construits sur tout le périmètre du lac.

La rivière aux Pins, tributaire de plusieurs ruisseaux de la région, et le ruisseau Le François, cours d'eau de premier ordre, sont les principaux cours d'eau qui se déversent dans le lac. Ils s'y jettent à l'extrémité nord dans le cas du ruisseau Le François et à la hauteur de Lake-view pour la rivière aux Pins (Fig. 1.2). La rivière Ontaritzi, qui se jette dans la rivière Jacques-Cartier à la hauteur de Ste-Catherine-de-la-Jacques-Cartier joue le rôle d'exutoire du lac (Fig. 1.2).

Les sources de métaux ne peuvent être qu'atmosphériques (sauf peut-être dans le cas de l'aluminium) et d'origines domestiques puisqu'aucune usine n'est construite sur les berges. Aussi, les tributaires du lac sont d'ordre très petit et la plupart de la superficie du bassin versant est constituée de zones forestières.

12

### 1.2.2 SITE D'ÉCHANTILLONNAGE

Le site d'échantillonnage se résume à la zone de profondeur s'échelonnant entre 8 et 9 mètres, à l'extrémité sud-ouest du lac (\*, Fig. 1.2). Il s'agit d'une étendue d'environ 0.025 km<sup>2</sup> située dans la baie menant à l'exutoire. Il s'agit d'une zone où il est connu que les espèces faisant l'objet de ce travail sont toutes deux retrouvées.

### **1.3 PHYSICO-CHIMIE ET PRODUCTION PRIMAIRE DU LAC**

### 1.3.1 MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les paramètres physico-chimiques ont été mesurés au site d'échantillonnage entre 10H00 et 12H00 à cinq différentes journées de mai à octobre 1991. Au cours de cette année, le lac a été sans couverture de glace entre le 29 avril et le début de décembre. Les données se rapportant aux paramètres pour lesquels des profils devaient être faits selon la profondeur, ont été récoltées à 0, 2, 4, 6, 8 et 9 mètres de la surface.

Dans le but de caractériser le cycle thermique du milieu, la température des sédiments et de l'eau a été prise soit par lecture directe d'un thermomètre ou par mesure à l'aide d'une sonde (YSI modèle 5739). La température des sédiments a été lue à chaque sortie sur le terrain en insérant directement le thermomètre dans les premiers centimètres des sédiments de surface remontés à l'aide d'une benne.

La transparence de l'eau a été estimée comme étant la profondeur à laquelle un disque blanc de 30 cm de diamètre était visible.

L'eau faisant l'objet de mesures de pH, de conductivité et de chlorophylle a a été récoltée avec un échantillonneur d'eau du type Van Dorn à partir duquel des bouteilles de 500 ml (Nalgene) ont été remplies. Ces bouteilles avaient préalablement été lavées (HNO<sub>3</sub>, 15 %) et rincées avec de l'eau ultra-pure (système Milli-Q3RO/Milli-Q2, Millipore Corp.). Les bouteilles ont ensuite été déposées au noir dans une glacière et ramenées au laboratoire. De cette eau, 250 ml ont été filtrés pour la détermination fluorométrique de la chlorophylle a en présence de phéophytine a (Strickland et Parsons 1968) avec l'aide d'un fluorimètre (Turner 10, Turner Designs Fluorometer). Le pH était tout de suite mesuré dans le volume restant des échantillons. Des aliquotes étaient ramenées à 25°C pour les mesures de conductivité. Un pHmètre (Radiometer) et un conductivimètre (Radiometer, Type CDM 2e) ont servi pour les mesures en laboratoire le 19 septembre et le 22 octobre tandis qu'un pHmètre (Fisher Accumet, Mini pHMeter Model 640A) et un conductivimètre (Conductivitymeter Hanna Instruments, HI 8033) ont été utilisés sur le terrain (22 mai, 16 juillet et 21 août).

L'oxygène dissous a été mesuré sur le terrain uniquement à cinq reprises avec un oxymètre YSI modèle 50 muni d'une sonde YSI 5739 et d'un fil de longueur suffisante pour prendre des mesures jusqu'au fond. Afin de connaître les conditions de saturation en oxygène dans l'eau surnageante, près des sédiments, la concentration d'oxygène dissous la plus profonde de chaque échantillonnage a été transformée en pourcentage de saturation selon la table de convertion construite par Mortimer (1981).

14

Des profils de concentrations de métaux traces ainsi que d'autres ions dissous dans l'eau interstitielle des sédiments de surface ont été faits par Tessier (non-publié). L'eau interstitielle a été échantillonnée par dialyse (Hesslein 1976; Carignan et al. 1985) en juin 1991 tout près du site d'échantillonnage.

### 1.3.2 RÉSULTATS

1.3.2.1 TEMPÉRATURE DES SÉDIMENTS ET PROFILS DE TEMPÉRATURE

La température des sédiments passe d'un minimum de 4°C en février pour atteindre un maximum de 20°C au mois d'août (Fig. 1.3). Elle ne demeure cependant à ce maximum que pendant une courte période de temps. Elle redescend progressivement vers 5°C au cours de l'automne.

On observe, pendant la saison 1991, une stratification thermique dès le mois de mai, celle-ci se brisant en juillet (Fig. 1.4). Par après, des températures uniformes sur toute la colonne d'eau sont rencontrées: i.e., à 20°C, 17°C et 9°C en août, septembre et octobre respectivement. La colonne d'eau, tout comme les sédiments, se réchauffent graduellement au printemps et se refroidissent à l'arrivée de l'automne.

#### **1.3.2.2 TRANSPARENCE**

La visibilité estimée est relativement grande (~5m) au début de la saison, diminue jusqu'à un minimum de 3.5 m en août et réaugmente à l'automne (Fig. 1.4).

### 1.3.2.3 CONDUCTIVITÉ

Les faibles conductivités mesurées sont typiques des valeurs des lacs du bouclier canadien puisque la donnée maximale observée pendant la saison est de 35  $\mu$ S et elle varie généralement entre 19 et 30  $\mu$ S (Fig. 1.4). On ne peut observer de variation verticale marquée qu'en juillet avec un maximum de conductivité à environ 3 m.

### 1.3.2.4 CONCENTRATION D'ION H+ (pH)

Les valeurs de pH mesurées pendant toute la saison se situent entre 6 et 7 (Fig. 1.4). Il y a stratification verticale en juillet avec un maximum vers 2 m. Les valeurs sont constantes sur toute la colonne d'eau en mai, août, septembre et en octobre.

### 1.3.2.5 OXYGÈNE DISSOUS

Au cours de la saison, l'oxygène dissous dans l'eau du lac varie en fonction de la température de l'air, i.e. qu'il diminue généralement d'un maximum d'environ 11 mg/l en profondeur en mai pour atteindre un minimum d'environ 8 mg/l en août et réaugmente vers 10,5 mg/l en octobre (Fig. 1.4). D'autre part, on observe une stratification en juillet avec un minimum dans la zone profonde et une autre très légère en septembre dans la zone profonde. En d'autres temps i.e. en mai, août et en octobre les valeurs sont homogènes sur l'ensemble de la profondeur. Les résultats montrent fréquemment une baisse à 9 mètres, la sonde s'enfonçait probablement dans le sédiment. En début de saison estivale, l'oxygène dissous est presque à saturation, il s'éloigne de celle-ci au moment où il y a stratification thermique et s'y rapproche par la suite en automne.

#### 1.3.2.6 CHLOROPHYLLE "a"

Les données de chlorophylle *a* n'ont été récoltées que deux fois pendant la saison (Fig. 1.4). Le 16 juillet, le profil nous montre une variation verticale marquée avec un maximum à 6 mètres de profondeur comme pour plusieurs des paramètres physico-chimiques. Le 21 août, les données sont plutôt constantes sur la colonne d'eau. Ces valeurs sont typiques de celles d'un lac oligomésotrophe (Likens, 1975).

# 1.3.2.7 CONCENTRATION DE MÉTAL ET DE CERTAINS IONS DANS L'EAU INTERSTITIELLE

Pour tous les métaux étudiés sauf le cuivre, les concentrations augmentent avec la profondeur dans les sédiments (Fig. 1.5, a et b). Cette augmentation débute à environ 1 cm sous la surface des sédiments. Elles semblent atteindre un maximum à quelques centimètres plus profond. La concentration de cuivre est invariable selon la distance dans les sédiments sauf pour un dialyseur où les teneurs sont très élevées à 1.5 cm au dessus de la zone de contact sédiment-eau et à 0.5 cm sous cette zone de contact (probablement non-représentatif du milieu).

La concentration de carbone organique dissous augmente avec la profondeur dans l'eau intersticielle d'un seul dialyseur, les autres valeurs demeurent à peu près égales aux concentrations de l'eau surnageante, mais la concentration de carbone inorganique pour les trois dialyseurs augmentent avec la profondeur. Pour ce qui est des ions sulfates, la concentration dans l'eau surnageante est constante, tout comme le carbone organique et inorganique, mais elle diminue dans un seul des dialyseurs sous la surface des sédiments.

#### **1.3.3 DISCUSSION**

On observe, pendant la saison, un comportement de circulation verticale de toute la colonne d'eau (mai) suivi d'une période de stratification (juillet) et d'une remise en circulation (août, septembre et octobre). Ce brassage amène les différents paramètres physico-chimiques et biologiques à être homogènes sur l'ensemble de la profondeur. En effet, on remarque au printemps une grande valeur de transparence (peut être due à une faible biomasse algale) et une homogénéité des paramètres. La température est alors en voie de réchauffement en surface et l'oxygène dissous est près de la saturation. En début de saison estivale, il y a stratification de tous les paramètres et un éloignement de la saturation d'oxygène. Mais l'été 91 a été très chaud et très venteux et l'eau au niveau du site d'échantillonnage est probablement un mélange d'eau de surface et de profondeur causé par la remontée du fond à proximité de l'exutoire. Ces deux facteurs pourraient provoquer l'instabilité de l'ensemble de la colonne d'eau au site d'échantillonnage dès le mois d'août. Il est intéressant de remarquer que les hautes températures des sédiments notées au cours de cette saison sont probablement causées par les mêmes phénomènes. Le refroidissement de l'air et les vents d'automne ont eu comme effet de conserver la colonne en circulation tout en diminuant la température de l'eau et en augmentant l'oxygène dissous (et le pourcentage de saturation) ainsi que la transparence.

Les organismes vivant au fond du lac en association avec les sédiments réagissent devant ces variables physico-chimiques. L'augmentation de température estivale au niveau des sédiments peut augmenter la vitesse de l'ensemble des réactions chimiques et des activités métaboliques d'ectothermes comme les larves d'insectes. Ceci dit, la vitesse d'échange des métaux traces entre les organismes et leur milieu peut aussi être augmentée. Donc, si des espèces occupent le site à différentes périodes, leur accumulation nette de métaux peut en être affectée. Par ailleurs, les métaux en solution dans l'eau interstitielle peuvent aussi être un indicateur des concentrations dans les organismes. En supposant que la plupart des métaux bioaccumulés sont d'origine aqueuse, les résultats suggèreraient que les animaux benthiques peuvent accumuler les métaux à des concentrations variables selon la profondeur dans les sédiments (Fig. 1.5).

Le pourcentage de saturation de l'oxygène dissous s'éloigne du 100% en été mais probablement pas suffisamment pour provoquer des conditions d'anoxie au niveau de l'interface eau-sédiments et une disponibilité différente des métaux à cet endroit.

La composition de la diète des larves benthiques s'alimentant de sédiments de surface est qualitativement variable dans le temps selon les taxons de phytoplancton en croissance dans la colonne d'eau (Ali, 1990; Johannsson et Beaver, 1983); ceci peut aussi amener des animaux de différents modes alimentaires présents dans le milieu à montrer des concentrations divergentes en métaux traces si elles ne se nourissent pas de la même nourriture. Pour une étude plus complète, une caractérisation des valeurs de matière organique ainsi que des oxydes de fer et de manganèse en fonction de la profondeur auraient été utiles, mais ces données n'étant pas disponibles, elles n'ont pas été présentées ici.



Figure 1.1: Carte géographique de la région du lac St-Joseph et localisation par rapport à la province de Québec (en médaillon). Les lignes pointillées délimitent les municipalités.


Figure 1.2: Carte du lac St-Joseph montrant deux tributaires du lac, l'exutoire, les deux villages, la station forestière, le site d'échantillonnage et la bathymétrie du lac. Les profondeurs sont en pieds. \*= Site d'échantillonnage.



Figure 1.3: Température des sédiments au site d'échantillonnage situé à ~9 mètres de profondeur du lac St-Joseph de février à novembre 1991.

22





Figure 1.4: Profils verticaux de paramètres physico-chimiques et de la cholrophylle *a*, pourcentage de saturation d'oxygène en profondeur (sous la date) et transparence de l'eau au site d'échantillonnage du lac St-Joseph de mai à octobre 1991. Température (°C) +, transparence (m) -, conductivité ( $\mu$ S) -, pH -, Oxygène dissous (mg/l) -, et Chlorophylle *a* ( $\mu$ g/l) - . L'échelle du haut de chaque graphique réfère aux unités de température, de conductivité et d'oxygène dissous, celle du bas aux unités du pH et de la chlorophylle *a*.



Figure 1.5 a: Concentration  $(\mu g/l)$  de métaux traces (Cd, Cu, Fe et Zn) dissous dans l'eau interstitielle des sédiments de surface et dans l'eau surnageant les sédiments à proximité du site d'échantillonnage du lac St-Joseph, juin 1991. Les trois courbes représentent les profils des trois dialyseurs ( $-\Delta$ ,  $-\Box$ ,  $-\Theta$ -).



Figure 1.5 b: Concentration de manganèse ( $\mu$ g/l), carbone organique (mg/l), carbone inorganique (mM) et d'ion sulfate ( $\mu$ M) dissous dans l'eau intersticielle de surface et dans l'eau surnageant les sédiments à proximité du site d'échantillonnage du lac St-Joseph, juin 1991. Les trois courbes représentent les profils des trois dialyseurs ( $-\Delta$ -,  $-\Theta$ -,  $-\Theta$ -).

#### CHAPITRE 2

# CARACTÉRISATION DES ESPÈCES DE CHIRONOMUS SPP.

#### 2.1 INTRODUCTION

Les espèces étudiées dans le cadre de ce travail sont toutes deux du genre *Chironomus*; celui-ci fait partie de la famille des chironomidae (insectes, diptère). Toutes les espèces de ce genre ont un cycle de vie constitué de quatre stades larvaires, d'un stade pupaire et d'un stade adulte. Les individus de tous les stades larvaires sont aquatiques et seulement ceux du premier stade larvaire sont planctoniques. Les autres sont benthiques. La larve de quatrième stade se métamorphose en pupe; ce stade est d'une durée relativement courte et il est aussi benthique. De cette pupe, émerge un adulte terrestre.

Acton (1956) différencie, avec l'aide de deux critères morphologiques, les larves de cinq espèces Nord-Américaines. Cependant, des clés plus élaborées ont été fabriquées pour identifier les adultes ou encore des larves européennes du genre *Chironomus* (Geiger et al. 1978; Webb et Scholl 1985; Webb et al. 1985). L'identification sans équivoque à l'état larvaire est souvent fondée sur l'analyse de patrons des stries de chromosomes géants des glandes salivaires (Acton et Scudder 1971; Hirvenoja et Michailova 1991; Wülker et Butler 1983; Wülker 1991).

Une différentiation fiable des deux taxa est indispensable dans le cadre de cette étude, même si on ne peut les identifier de façon sûre. Pour ce faire, des critères valides doivent être mis en évidence afin de distinguer les trois stades larvaires benthiques des deux espèces. De plus, le nom des espèces est inconnu et la différenciation des deux espèces n'est basée que sur un seul critère morphologique, celui-ci étant variable parmi les individus de la population.

L'objet de ce chapitre est donc de présenter les moyens utilisés pour chercher à identifier les taxa au niveau de l'espèce. Des explications seront fournies sur les efforts investis pour élever les larves jusqu'à l'émergence des adultes et, pour fournir des critères morphologiques afin de les discriminer entre elles. Une énumération des critères de distinction des espèces sera donnée, celle-ci étant basée sur la morphologie et la coloration externe des larves et des pièces buccales.

#### 2.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

Dans le but d'identifier les taxa étudiés au niveau de l'espèce, on a procédé à l'élevage de larves en laboratoire afin d'obtenir des insectes adultes. Sur le terrain, des sédiments ont été triés avec un tamis et un filet à benthos de grandeur de maille de 500  $\mu$ m. Les insectes ont alors été mis dans l'eau à l'intérieur de sacs de plastique et ramenés au laboratoire. Les larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp. étaient ensuite triées et placées séparément dans des aquaria où des sédiments et de l'eau du lac avaient été préalablement déposés, ainsi qu'un aérateur. Ces montages étaient placés dans un réfrigérateur maintenu à 10°C. Les sédiments étaient tamisés périodiquement de façon à vérifier la présence d'individus prêts à émerger i.e. les larves dont les trois segments thoraciques sont hypertrophiés par le développement alaire. Dans le cas où l'un de ces individus était rencontré, il était alors isolé des autres dans un contenant de 125 ml d'eau du lac oxygénée à l'aide d'un aérateur jusqu'à son émergence. Finalement, on recueillait les exuvies de la larve et de la pupe ainsi que le corps de l'adulte du même individu.

Pour la discrimination des espèces à partir de critères morphologiques "grossiers" nécessitant l'utilisation d'un binoculaire, des larves de quatrième stade étaient récupérées des aquaria et observées sans préparation avec un binoculaire Wild M5A (système et appareil photographique: Wild Photoautomat MPS55 et Wild MPS51, respectivement). Des observations étaient faites au niveau des tubuli latéraux (excroisssances latérales à l'extrémité terminale du dixième segment), de patrons de noircissement de la tête, de la longueur totale et de l'épaisseur de la tête. Ces deux derniers critères ont été mesurés avec un oculaire gradué. Des conversions avaient été faites à l'aide d'une lame étalon dans le but d'utiliser différents grossissements. La longueur totale mesurée était celle s'étendant de l'extrémité antérieure de la tête jusqu'au bout des appendices anaux tandis que l'épaisseur de la tête était mesurée à la hauteur des taches oculaires.

Quelques individus ont été montés sur lame pour l'observation de critères morphologiques des pièces buccales. Les larves étaient tout d'abord fixées dans la

solution de Kahle (56% d'eau, 30% d'éthanol, 12% de formol et 2% d'acide acétique, v:v:v:v). La tête était ensuite séparée du reste du corps et placée dans un petit bécher contenant une solution de KOH (10%), le corps étant tout de suite étendu sur une lame où une goutte d'une solution de baume du Canada (baume et dipropylène glycol monométhyléther) avait été déposée. Puis, les béchers contenant les têtes ont été mis à l'étuve pendant 12 heures à 50°C afin que les tissus de l'intérieur de la capsule céphalique soient digérés. On changeait, par la suite, la solution de KOH par l'acide acétique dans le but de neutraliser la base et, on laissait baigner pendant 5 à 10 minutes. On mettait les têtes à tour de rôle dans l'éthanol 70% pour une période de 5 minutes et dans l'éthanol à 95% avant les dissections. Ces dernières se pratiquaient avec l'aide d'un binoculaire sous lequel une lame était placée et sur laquelle quelques gouttes de solution de baume du Canada avaient été déposées. Une mandibule et une antenne étaient retirées de la capsule céphalique et étendues chacune sous une lamelle. La tête était ensuite découpée en ses parties ventrales et dorsales, ces deux dernières étant placées ensemble sous une même lamelle. Les lames étaient alors étuvées à 40°C pendant 3 jours ou jusqu'à ce que le baume ait durci.

L'observation microscopique des pièces buccales a été faite avec un microscope de marque Zeiss Axioplan muni d'un système photomicrographique Zeiss MC 63 A et d'un appareil photographique Zeiss M 35 W.

Les poids ont été mesurés à l'aide d'une microbalance électronique (Mettler ME30).

#### 2.3 RÉSULTATS

Très peu de larves dont les segments thoraciques étaient hypertrophiés ont été retrouvées lors de l'élevage; de plus, presque tous les individus placés dans les contenants sont décédés avant leur émergence. Seulement quelques individus d'une des deux espèces ont pu être élevés jusqu'au stade adulte. D'autres efforts sont présentement mis par l'équipe du Dr. Hare pour identifier ces espèces.

Au quatrième stade larvaire, les espèces se distinguent par: (i) la longueur des tubuli latéraux; (ii) le patron de pigmentation du gula (partie ventrale de la capsule céphalique) et du clypeus (partie dorsale de la capsule céphalique); (iii) la longueur totale; (iv) le poids des individus; (v) les plaques paralabiales et (vi) la troisième dent latérale des mandibules.

Les tubuli latéraux sont plus longs chez l'espèce 2 que chez l'espèce 1 (Fig. 2.1). Cependant, on note que ces appendices sont de taille variable entre les individus de la même espèce mais que malgré leur variabilité, la longueur des tubuli des deux espèces n'est jamais semblable. Par ailleurs, l'étude du cycle de vie révèle que ce critère est fiable également pour les individus de troisième stade larvaire. Mais, ils ne sont cependant pas assez développés chez les larves de deuxième stade pour les utiliser en tant que critère de distinction.

La capsule céphalique de l'espèce 1 est marquée d'une tache noire sur sa partie dorsale, elle est de même forme que le clypeus (Fig. 2.2, a). Également, son gula est noir sur presque toute sa surface ventrale et ce noircissement s'étend latéralement sur la tête(Fig. 2.2, c). Celle de l'espèce 2 n'a pour sa part aucune tache noire du côté dorsal (Fig. 2.2, b) et son gula n'est noir que sur son contour et ce noircissement ne s'étend pas (Fig. 2.2, d).

Stade larvaire	Épaisseur de la tête	écart-type	n
	(mm)	(mm)	
2	0.121	0.015	45
3	0.230	0.017	60
4	0.400	0.028	36

Tableau 2.I: Distinction des stades larvaires de Chironomus spp. selon l'épaisseur (mm) de la tête mesurée au niveau des taches occulaires.

A une date donnée, par exemple celle du 22 octobre, la longueur totale des larves de l'espèce 2 (20,3  $\pm$  3,3 mm; n=20) est généralement supérieure à celle de l'espèce 1 (13,5  $\pm$  2,4 mm; n=50).

De même pour le poids, selon l'échantillonage du 19 février, celui des larves de l'espèce 2  $(1,37 \pm 0,15 \text{ mg/individu}; n=70)$  est supérieur à celui de l'espèce 1  $(0,963 \pm 0,112 \text{ mg/individu}; n=60)$ .

L'épaisseur de la tête est la même pour les deux espèces mais elle est différente et très discrète d'un stade larvaire à l'autre (Tab. 2.I).

Du côté des observations faites sur les pièces buccales, deux distinctions sont mises à jour. La première se retrouve à l'endroit des plaques paralabiales, parties chitinisées devançant les mandibules avec lesquelles les larves filent leurs soies (Fig. 2.3). Celles de l'espèce 1 ont un rebord lisse, les rainures qui partent de la base s'associent et fournissent une division irrégulière au niveau du rebord (Fig. 2.4, a). Le contour extérieur des plaques paralabiales de l'espèce 2, lui, n'est pas lisse. Les sillons de la base ne se rejoignent pas, ce qui donne au rebord une allure dentelée (Fig. 2.4, b). Par ailleurs, la troisième dent latérale de l'espèce 1 est arrondie à son apex et elle est de forme différente de la deuxième (Fig. 2.5, a). Celle de l'espèce 2 est pointue à son extrémité et elle a la même apparence que la deuxième dent latérale (Fig. 2.5,b).

#### 2.4 DISCUSSION

La littérature sur l'identification des larves de ce genre est peu abondante. Néanmoins, Webb et Scholl (1985) ont fabriqué une clé pour des larves de 26 espèces européennes basée uniquement sur la structure des plaques paralabiales d'où l'intérêt à les observer dans le cas des espèces 1 et 2. Webb et al. (1985) ont aussi fait une autre clé d'identification de ces larves en utilisant des critères microscopiques externes mais cette fois-ci impliquant plusieurs caractéristiques morphologiques du corps dont les tubuli latéraux, la pigmentation du clypeus et du gula. Selon cette dernière clé, l'espèce 1 pourrait être soit Chironomus aberratus ou C. sororius et l'espèce 2 pourrait être Chironomus luridus, pseudothummi ou uliginosus. Cependant, ces affirmations doivent être considérées avec nuances puisqu'il s'agit d'une classification d'espèces européennes. Finalement, la clé d'identification des larves du genre Chironomus d'Amérique du nord proposée par Acton (1956) est basée sur la pigmentation de la tête et la présence d'appendices latéraux sans porter d'attention à la longueur de ceux-ci. L'espèce 2 ne correspond à aucune description de cette clé mais l'espèce 1 pourrait être soit: Chironomus annularius, C. tentans ou C. pallidivittatus. Par la présence des tubuli latéraux, les espèces 1 et 2 feraient partie d'un groupe à l'intérieur du genre *Chironomus* qui est appelé plumosus (Acton 1955).

Un autre élevage est présentement en cours afin de faire émerger des larves. Si ces essais se révélaient vains une fois de plus, recupérer les chromosomes des glandes salivaires et les faire identifier par des spécialistes serait une solution à envisager. Étant donné qu'on n'a pu identifier rigoureusement les deux espèces, les termes "espèce 1" et "espèce 2" devront être utilisés pour la suite de ce travail.

La longueur des tubuli latéraux peut servir pour discriminer de façon rapide les individus de troisième et quatrième stade malgré une certaine variation de longueur d'un individu à l'autre d'une même espèce. D'autre part, l'occurence ou non d'une tache noire sur le côté dorsal de la capsule céphalique ainsi que d'un gula complètement noir est une base de discrimination plus fiable que la présence de tubuli latéraux. En plus d'être évidents lors d'observations, ces paramètres sont très peu variables car la tête des larves d'insectes aquatiques est fortement chitinisée et morphologiquement peu susceptible aux changements. A travers le développement de l'espèce 1, ces critères de distinction n'apparaissent qu'après la mue entre le troisième et le quatrième stade, ce qui ne permet donc pas de discriminer les individus de troisième et de deuxième stade larvaire en se basant sur le patron de pigmentation de la tête.

La longueur totale et le poids des larves sont différents d'une espèce à l'autre. Par contre, il n'est pas possible de différencier les espèces en se servant seulement de ces caractéristiques. Il serait alors préférable de ne les utiliser comme base supplémentaire de distinction que lorsque l'on a échantillonné les espèces en un même temps puisque des tailles et des poids égaux peuvent être rencontrés non seulement pour des dates différentes d'échantillonnage mais à un temps donné.

Les tubuli latéraux, la pigmentation de la tête et la longueur totale sont des critères pratiques quand on doit manipuler des animaux vivants. Ils sont très bien visibles et rapidement repérables au binoculaire. Il devient possible de minimiser le temps de stress dû aux manipulations, mais ceci moyennant une certaine expérience avec ces larves.

Les nuances reliées aux pièces buccales sont, elles aussi, très fiables et très peu variables d'un individu à un autre car il s'agit aussi de parties chitinisées. Mais on ne peut se servir de ces distinctions que lors de travaux impliquant des individus montés sur lame ou quand les animaux sont fixés, donc déjà morts. Par contre, ces distinctions pourraient s'avérer utiles pour différencier des espèces à de jeunes stades larvaires.

Finalement, l'épaisseur de la tête ne peut pas être utile pour différencier les espèces mais elle est une mesure très fiable pour différencier les stades larvaires.



Figure 2.1: Extrémité distale de l'abdomen des larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp. étudiées montrant les tubuli latéraux au bout terminal du segment X de a) espèce 1 et b) espèce 2 (15X).



Figure 2.2: Noircissements de la capsule céphalique des larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp.: clypeus (partie dorsale) de a) espèce 1, b) espèce 2, gula (partie ventrale) de c) espèce 1 et d) espèce 2 (15X).



Figure 2.3: Pièces buccales de l'espèce 1 (*Chironomus* sp., quatrième stade larvaire), montrant a) une mandibule, b) les plaques paralabiales, c) le mentum et d) le gula (100X).



Figure 2.4: Sillons des plaques paralabiales des larves de quatrième stade de *Chironomus* spp.: a) espèce 1 et b) espèce 2 (400X).



Figure 2.5: Mandibule des larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* spp. montrant la troisième dent latérale de la mandibule (flèches) de a) espèce 1 et b) espèce 2 (400X).

# **CHAPITRE 3**

# CONCENTRATIONS DE MÉTAUX TRACES DES DEUX ESPÈCES DE CHIRONOMUS SPP.

#### 3.1 INTRODUCTION

Chez les larves d'insectes aquatiques, on rencontre des concentrations de métaux traces allant de faibles à modérées (Hare 1993); ces concentrations peuvent être variables puisque chez plusieurs groupes d'invertébrés benthiques, des variations temporelles des concentrations de métaux sont associées soit à des changements dans le poids des organismes. dans leur métabolisme, dans leur développement etc. Il devient important de connaître si de telles variations sont possibles pour les deux espèces afin de déterminer si les écarts de concentrations sont respectés en tout temps. Le tout premier but du chapitre est donc de caractériser les espèces par leurs concentrations totales de métaux traces. Ensuite,

une étude des variations temporelles des concentrations sera effectuée. Finalement, les espèces seront aussi caractérisées par la distribution interne des métaux parmi différentes parties de leur corps.

#### 3.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les organismes de quatrième stade larvaire ont été d'abord tamisés sur le terrain le 19 février 1991, mis dans des sacs de plastique avec de l'eau du lac St-Joseph, placés dans une glacière et ramenés au laboratoire. Les larves étaient déposées, sans dépuration puisque les tubes digestifs étaient déjà vides, sur des morceaux de feuilles minces de Teflon<sup>R</sup>, prépesés et immobilisés dans des boîtes de Petri à l'aide de demi-tube de Teflon<sup>R</sup> (Hare et al. 1989). Les pièces de Teflon<sup>R</sup> avaient été préalablement lavées avec de l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) (Fisher trace metal) et rincées abondamment à l'eau ultra-pure (Milli-Q3RO/Milli-Q2 system, Millipore Corp.). Les boîtes de Petri avaient été lavées dans HNO<sub>3</sub> (15%) et rincées de la même façon avant d'y déposer les morceaux de Teflon<sup>R</sup>.

L'étude des variations temporelles des concentrations de cadmium, de cuivre et de zinc a été rendue possible grâce à une compilation des données de travaux effectués par Hare (non-publié). En effet, tous les échantillonnages sauf un, celui du 19 février 1991, ont été effectués dans le cadre des recherches du Dr. Hare. A toutes les dates, les concentrations totales des animaux ont été mesurées. Cependant, si les tubes digestifs contenaient de la nourriture, les animaux étaient placés dans des aquaria ne contenant que de l'eau aérée à l'aide d'un aérateur jusqu'à ce qu'on ne puisse plus voir de contenu dans l'intestin (2-3 jours).

Un certain nombre de larves récoltées le 19 février 1991 ont été disséquées dans le but de connaître la distribution corporelle des métaux. Une première incision était pratiquée derrière la capsule céphalique de façon à la détacher du reste du corps et une autre au niveau du onzième segment. L'intestin était dégagé des parois du corps en insérant une aiguille dans l'ouverture faite par l'incision pratiquée à la partie distale de l'animal. A l'aide de pinces, le tube digestif était retiré de son milieu en tirant sur l'oesophage d'une part et en retenant le corps par la cuticule de l'autre. Puis, l'intestin était vidé de son contenu en brisant quelque peu ses tissus à la hauteur de la valvule stomodéale (jonction de l'oesophage et du mésentéron antérieur, Fig. 3.1) et en tirant d'un côté par l'oesophage et par le proctodéum de l'autre. Le contenu, retenu par la membrane péritrophique était, par la suite, détaché de l'oesophage. L'ensemble des tissus du tube digestif, le corps et le sang du même individu étaient tous déposés sur des pièces de Teflon<sup>R</sup> différentes, tel que décrit plus haut.

Les larves entières ou en parties, étaient ensuite congelées à -40°C pendant 30 minutes, lyophilisées pour une durée d'au moins 12 heures et pesés à deux reprises (ou jusqu'à l'obtention d'un poids stable) avec une période de lyophilisation d'un minimum de 10 heures entre chaque mesure. Les poids étaient mesurés avec une microbalance électronique Mettler ME30. Le matériel séché était alors mis dans des vials de Teflon<sup>R</sup> propres (lavés de la même façon que les morceaux de feuille de Teflon<sup>R</sup>) et digéré dans 100  $\mu$ l de HNO<sub>3</sub> concentré (Aristar) par mg de tissus sec. La digestion a été effectuée dans un autoclave sous une pression de 15 psi (121°C) pendant au moins 4 heures. Deux aliguotes (16.65 et 22.23 d'hépatopancréas mg) de homard TORT-1 (CNRC) ont

Date (1990)	Nb d'échantillons		Nb d'individus/échan.	
	Espèce 1	Espèce 2	Espèce 1	Espèce 2
10 mai	4	7	3	5
5 juin	3	5	3	4
3 juillet	5	5	5	4
26 juillet	4	4	3	2
20 août	5	0	4	0
19 février	10	7	10	10

Tableau 3.I: Nombre d'échantillons et nombre d'individus par échantillon pour les dosages de métaux à chaque date de récolte.

été également digérées et serviront à vérifier la qualité des valeurs obtenues lors des dosages. Le volume de chaque échantillon y compris ceux de TORT-1 a été réajusté jusqu'à un rapport final de 16.6% HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O (5:1, V:V) avec de l'eau ultra-pure. Le cadmium et le cuivre ont été dosés avec un spectrophotomètre à absorption atomique Varian AA-1275 muni d'un four au graphite Varian GTA-95 (graphite tube atomiser). Le zinc a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre à flamme d'acétylène Varian AA-575.

L'abondance de chacune des espèces change au cours de l'année, ce qui a amené une certaine variation dans le nombre d'échantillons analysés et dans la quantité d'individus par échantillon (Tab. 3.I).

Espèce	Cadmium (µg/g)	Cuivre (µg/g)	Zinc (μg/g)
1	$0.20 \pm 0.05$	14.1±1.1	77.6±10.9
2	4.21 <u>+</u> 0.28	14.1±1.0	141.5±10.4
TORT-1 valeur mesurées	23.79 25.82	394 375	176 170
valeur certifiées	26.3±2.1	439±22	177 <u>+</u> 10

Tableau 3.II: Concentration totale (moy  $\pm$  é.t.) de cadmium, cuivre et zinc ( $\mu g/g$  poids sec) chez des larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. récoltées au site d'échantillonnage du lac St-Joseph le 19 février 1991. Pour l'espèce 1, n= 10 échantillons de 10 individus et n=7 échantillons de 10 individus pour l'espèce 2.

Des tests statistiques non-paramétriques de Kruskall-Wallis ont été utilisés pour comparer les concentrations des espèces entre elles pour chaque date. Dans le but de comparer les concentrations d'une seule espèce pour l'ensemble des échantillonnages et de mettre en évidence les variations temporelles, les données ont été transformées en leur logarithme (base 10) afin qu'elles aient une distribution normale (test: "C" de Cochran, Bartlett et Hartley); ensuite un test paramétrique d'analyse de variance à un critère (ANOVA) a été fait. Dans ce dernier test, les valeurs correspondant à la date du 19 février n'ont pas été retenues puisqu'il s'agit probablement des organismes d'une génération ultérieure Dans le seul cas où il y avait variation temporelle, un test de comparaison multiple de Scheffe a été fait afin de faire ressortir les groupes de concentrations homogènes.

#### 3.3 RÉSULTATS

3.3.1 CONCENTRATIONS TOTALE DES MÉTAUX DANS LES LARVES

Les concentrations des échantillons de TORT-1 respectent les valeurs certifiées du zinc et du cadmium (sauf pour un échantillon qui est tout juste sous les valeurs acceptables), cependant les valeurs pour le cuivre sont toutes deux sous cette limite.

Les larves de quatrième stade de l'espèce 2 sont respectivement environ 20 et 2 fois plus concentrées en cadmium et en zinc que l'espèce 1. Les concentrations en cuivre sont égales pour les deux taxa (Tableau 3.II).

# 3.3.2 VARIATION TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS TOTALES DES LARVES

Pour toute les sorties sur le terrain sauf une, des quantités suffisantes de tissus ont pu être récoltées dans le but d'en faire les analyses de Cd, de Cu et de Zn. Le 20 août, les larves de l'espèce 2 n'ont pas été rencontrées dans les bennes et celles de l'espèce 1 n'y étaient présentes qu'en petite quantité, probablement à cause de leur récente émergence.

Les résultats de l'étude de variations temporelles pour les trois métaux et le poids des animaux sont montrés à la Figure 3.2. Pour le cadmium, le cuivre et le zinc, les concentrations sont constantes (ANOVA, p < 0.05) tout au long de l'année sauf pour le cuivre qui est soumis à une variation temporelle dans les tissus de l'espèce 2. Évidemment, les valeurs du poids moyen des larves varient aussi

46

temporellement étant donné les émergences et l'arrivée de larves des nouvelles générations.

L'espèce 2 contient toujours au moins huit fois plus de cadmium par mg de poids sec que l'autre espèce et environ deux fois plus de zinc. Les concentrations de cuivre sont égales sauf le 20 mai où la concentration de l'espèce 1 est légèrement plus élevée et le 26 juillet où celle de l'espèce 2 est légèrement supérieure. L'espèce 1 montre des poids par individus plus élevés que l'espèce 2 le 5 juin mais plus petits les 3 et 26 juillet ainsi que le 19 février.

# 3.3.3 DISTRIBUTION DES MÉTAUX DANS LE CORPS DES LARVES

La Figure 3.3 résume les résultats se rapportant à la distribution corporelle. Ils sont exprimés sous forme de concentration de métal et de pourcentage de la quantité totale de métal dans les trois parties du corps étudiées. La distribution du poids parmi ces composantes est aussi exposée.

Evidemment, le corps représente la plus grande part du poids (Fig 3.3, g), l'intestin et le sang n'occupant que moins de 20% chacun. Les deux espèces ont des distributions à peu près semblables du poids.

Les concentrations de cadmium et de cuivre sont plus élevées dans les tissus du tube digestif que dans les autres parties étudiées du corps des deux espèces (Fig. 3.3, a et c). Également pour ces deux métaux, le pourcentage le plus élevé de la quantité totale de métal est rencontré à ce même endroit (Fig 3.3, b et d). Cependant, l'espèce 2 est près de 35 fois plus concentrée en Cd que son espèce sympatrique au niveau des intestins et respectivement 2 et 3 fois plus pour le sang et le corps. La repartition du Cu est sensiblement la même pour les deux espèces sauf au niveau du sang où l'espèce 2 en contient près de deux fois plus.

Les concentrations de zinc sont à peu près égales dans les tubes digestifs des deux espèces (Fig. 3.3, e). Par contre, le sang et les corps de l'espèce 2 sont approximativement 15 et 2 fois plus concentrés que l'espèce 1 respectivement. La distribution des quantités de zinc ressemble beaucoup à celle du poids si on omet la quantité rencontrée dans le sang (Fig 3.3, f).

#### 3.4 DISCUSSION

Les deux espèces ont des concentrations totales de Cd et de Zn différentes, quoique la différence au niveau du Zn soit moins marquée que pour le Cd. Les concentrations de Cu sont semblables. Malgré les variations de poids, les concentrations de Cd et de Zn ne semblent pas subir de variations temporelles. De plus, ces écarts (Cd et Zn) et l'égalité (Cu) des concentrations de métaux entre les deux espèces sont respectés tout au long de l'année, ce qui soulève des questions intéressantes puisqu'il s'agit de deux espèces du même genre, impliquant un certain degré de ressemblance tant au niveau morphologique, écologique que physiologique. Aussi, les deux espèces vivent en sympatrie, i.e. qu'elles se trouvent dans le même lac, à la même profondeur et dans les mêmes sédiments. Cette observation d'écarts et de similitudes des concentrations de métaux traces suggère qu'il existe, entre les taxa étudiés, une (ou des) différence(s) dans leurs niches écologiques. La biologie des espèces doit donc être mise en évidence pour tenter d'expliquer ce phénomène. Les trois derniers chapitres représentent l'étude de trois aspects reliées à cette problématique. Lorsque la distribution de la quantité de métal entre les différentes parties du corps (Fig. 3.3) est identique à celle du poids, les concentrations en métaux dans les parties du corps devraient être égales. Ici, ce n'est le cas pour aucun métal. Le zinc est plus concentré dans les corps de l'espèce 2, le sang et les tubes digestifs de cette espèce ont des concentrations égales. L'espèce 1 a des concentrations égales dans les tubes digestifs et dans les corps, et celle du sang est plus petite que celle des autres parties des larves. Les répartitions du Cd et du Cu étant différentes de celle du poids, elles montrent une accumulation proportionellement plus élevée au niveau de l'intestin et suggèrent que le lieu d'entrée de ces métaux est le tube digestif via la nourriture, et ceci surtout pour le Cd dans l'espèce 2.

Des études de la distribution des métaux à l'intérieur des larves ont été faites par Krantzberg et Stokes (1990) et Hare et al. (1991b) pour le genre *Chironomus* spp., Sumi et al. (1984) chez *Chironomus yoshimatsui*, et Seidman et al. (1986 a et b) pour *Chironomus thummi*. La plupart d'entre elles s'entendent sur le fait que le cadmium est surtout accumulé dans le tube digestif, plus précisément dans le mésentéron postérieur. Le cuivre serait plus concentré dans l'intestin et le zinc distribué également dans le corps (Hare et al. 1991a).

Le cuivre et le zinc sont des éléments essentiels et des mécanismes cellulaires de transport sont déjà en place pour leur gestion. Le zinc semble passer très bien au niveau de l'intestin et se distribue dans le reste du corps, ce qui n'apparait pas être le cas pour le cuivre. Le cadmium est non-essentiel et aucun

49

mécanisme de transport cellulaire spécifique n'est connu. Il s'accumule surtout dans l'intestin.

La distribution interne de chacun des métaux étant sensiblement la même pour les deux espèces, aucune différence au niveau des voies d'entrée, d'entreposage et de "gestion interne" différente pour les deux taxons n'est suggérée par les résultats.



Figure 3.1: Shéma généralisé d'un tube digestif d'une larve du genre *Chironomus* montrant quatre divisions et la valvules stomodéale. Seulement deux des quatre tubules de Malpighi sont dessinés. (Tiré de Hare et al., 1991).



Figure 3.2: Variations temporelles de la concentration totale (moy.  $\pm$  é.t.) de cadmium, cuivre et de zinc. \*= les espèces ont des concentrations significativement différentes pour une date donnée (Kruskall-Wallis, p<0,05). L'espèce 2 n'a pas été retrouvée le 20 août. Les lettres minuscules sous la courbe du Cu montre les groupes de concentrations homogènes pour l'espèce 2 (ANOVA, p<0.05).



Figure 3.3: Larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. récoltées au site d'échantillonnage du lac St-Joseph le 19 février 1991 (n=10 pour l'espèce 1 et n=7 pour l'espèce 2). Concentrations ( $\mu g \cdot g^{-1}$  poids sec) de différentes parties du corps en: Cd, a); Cu, c) et Zn, e); importance relative des quantités, dans ces parties du corps, de: Cd, b); Cu, d); Zn, f) valeurs absolues g) et relatives h) du poids des différentes parties du corps.

#### **CHAPITRE 4**

#### CYCLE DE VIE

#### **4.1 INTRODUCTION**

Dans le genre *Chironomus*, le temps requis pour une génération afin de compléter le cycle de vie (temps de génération) peut s'échelonner sur une période de temps variable pour différentes espèces, allant de mérovoltines (moins de 1 génération par année) à multivoltines (plus d'une par année). À nos lattitudes, la plupart des espèces de *Chironomus* sont univoltines. Des périodes de développement de trois et sept ans ont été mises en évidence respectivement par Butler et Anderson (1990) pour une espèce du Wisconsin et Butler (1982) pour deux espèces d'Alaska. Aussi, pour des espèces différentes, la durée du développement peut être la même mais s'effectuer avec un retard saisonnier, i.e., à des époques où les métaux peuvent être plus ou moins disponibles soit pour des raisons d'oxygénation au niveau des sédiments, de pH, de la qualité de la nourriture (variation saisonnière dans la composition du phytoplancton). Ainsi, des différences dans le temps de génération et dans les saisons d'apparition de

nouvelles générations pourraient expliquer des écarts de quantités de métaux associés aux animaux puisque des larves du même stade mais de génération différente peuvent accumuler des métaux pendant des périodes de temps différentes (Hare et Campbell 1992). Puisque le cycle de vie des espèces est un paramètre où une différence dans leur niche écologique pourrait être en mesure d'expliquer les concentrations, ce chapitre se veut alors un compte-rendu du première aspect biologique à vérifier selon la problématique expliquée au chapitre précédent. Il a comme but de caractériser les deux espèces de *Chironomus* spp. au point de vue de leur cycle biologique et de mettre en évidence des différences majeures à ce niveau.

### **4.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES**

L'étude du cycle de vie des espèces s'est effectuée à partir de cinq échantillonnages étalés dans l'année 1991, soit le 22 mai, le 16 juillet, le 21 août, le 19 septembre et le 22 octobre. Pour chacune des dates, dix échantillons ont été récoltés à l'aide d'une benne Ekman (15 X 15 X 22.5 cm). Chaque échantillon a été tamisé dans un filet à benthos de grandeur de maille de 300  $\mu$ m et ensuite conservé dans une bouteille de plastique par une solution de formaldéhyde 10%. Dans le but de faciliter le tri, 0.2 g de rose de bengal était ajouté par litre de solution quelques jours avant le triage, afin de colorer selectivement les animaux présents. Les organismes ont été, par la suite, retirés du sédiment. Sachant que l'épaisseur de la capsule céphalique est discrète et peu variable pour un stade larvaire donné de ces espèces (Tab. 2.1), ce critère a été utilisé pour distinguer les différents stades larvaires. La pigmentation sur le côté dorsal de la tête (Fig. 2.2) et la longueur des tubuli latéraux (Fig. 2.1) ont servi de critère pour différencier les espèces au quatrième stade; seule la longueur des tubuli latéraux a été utilisée pour les individus de troisième stade larvaire. Les larves ont été mesurées selon la méthode décrite au chapitre 2. Finalement, les larves de deuxième stade n'ont pas été séparées et ont toutes été reconnues comme des individus de l'espèce 1. Pour l'échantillonnage du 19 septembre une légère proportion des larves fait probablement partie de l'espèce 2.

#### 4.3 RÉSULTATS

Le rapport de densité observé globalement pendant le cycle annuel est d'environ sept individus de l'espèce 1 pour un seul de l'espèce 2 (350:50 = 7:1). Cependant, ce quotient diminue jusqu'à 10:4 dans certains échantillons.

L'espèce 1 est présente en très grand nombre au site d'échantillonnage pendant toute l'année sauf au mois d'août (Fig. 4.1). Le plus grand nombre d'individu (350/m<sup>2</sup>) est observé en septembre. Selon ces résultats, il n'y a qu'une seule émergence par année et celle-ci s'effectuerait entre la mi-juillet et la fin du mois d'août. Pour ces larves, les mois d'août et septembre semblent être une période où la plupart du développement se réalise puisque les individus passeraient de l'oeuf au troisième stade larvaire en moins de deux mois. On rencontre des larves de troisième stade dès la fin août. La majeure partie de la mue démarquant le troisième et le quatrième stade larvaire se fait au mois d'octobre et il reste, rendu à l'hiver quelques animaux toujours au troisième stade. Les individus de quatrième stade sont fréquents jusqu'en août, indiquant un certain chevauchement des générations. Enfin, l'espèce 2 ne s'exprime qu'à de faibles densités d'individus (Fig. 4.2). Le maximum se trouve au mois de septembre et il est de moins de 50 animaux par mètre carré. Selon ces résultats, il semble ici aussi qu'il n'y ait qu'une seule période d'émergence par année s'étendant de mai à juillet. La plupart du développement s'accomplierait entre la fin août et la mi-septembre. La durée du troisième stade larvaire semble au maximum d'un mois (entre la fin août et la fin septembre). La mue entre les deux derniers stades larvaires se complète en octobre et tous les organismes passent l'hiver sous forme de quatrième stade. Cette dernière étape avant l'émergence s'échelonne sur environ huit mois.

#### **4.4 DISCUSSION**

L'espèce 1 et l'espèce 2 sont univoltines, i.e., qu'il n'y a qu'une seule génération par année. À une date donnée, le développement des individus de l'espèce 2 devance (stade larvaire différents et longueur totale légèrement supérieure) celui de l'espèce 1. Enfin, cette dernière émerge en été tandis que l'espèce 2 émerge plutôt au printemps.

La petite quantité de larves dénombrées en été pour l'espèce 2 pourrait être expliqué non seulement par l'émergence de la population mais aussi par une migration horizontale des larves dans le lac, ce qui causerait un biais dans l'interprétation de son cycle de développement. La lumière peut être faite à ce sujet en échantillonnant sur un transect qui déborde de part et d'autre la baie où est situé le site de récolte des larves (analyses en cours).

La période de forte croissance de l'espèce 2 semble précéder légèrement pendant la saison celle de l'espèce 1, elle se ferait donc à une température plus
chaude (Fig. 1.3) où le taux métabolique et où les échanges de métal pourraient être plus rapides entre les larves et le milieu. Ceci pourrait expliquer en partie une différence de concentration de métaux traces entre les espèces. Mais ce facteur ne semble pas suffisant pour justifier les écarts observés puisque les concentrations de Cd et de Zn ne montrent pas d'augmentation en automne ni de patrons saisonniers (Fig. 3.2). De plus, l'égalité des concentrations de cuivre n'est pas expliquée par ce phénomène. Enfin, l'entrée et la sortie des métaux sont toutes deux fonction de la température, alors on ne peut être formel sur le rôle que la température joue sur la concentration nette de métal dans un organisme.

Pour une espèce vivant dans un milieu donné, les facteurs biologiques reliés au cycle de vie qui peuvent expliquer les variations de concentrations de métaux sont l'âge (ou stade larvaire), la formation des gonades et la taille (Hare 1993). Par contre, le développement des gonades ne peut influencer dans ce cas-ci car il ne s'effectue pas lorsque les animaux sont à l'état larvaire (Hare 1993). Plusieurs travaux ont démontré des liens entre la concentration de métal et le poids (Krantzberg 1989 (*Chironomus* spp.); Hare et Campbell 1992 (insectes d'eau douce); Boyden 1977 (Mollusque marins)). On peut être porté à croire que l'âge et la taille (ou le poids) sont liés très intimement, cependant des variations de poids peuvent intervenir lorsque les animaux cessent de se nourrir pour diverses raisons (p.e. au cours d'une mue ou à l'émergence) ou qu'ils subissent des baisses d'activités (p.e. suite à une baisse de la température). Ces variations de poids sont associées à un découplement du lien entre l'âge et le poids, et ces deux paramètres deviennent corrélés individuellement à la concentration de métal (Strong et Luoma 1981; Krantzberg 1989; Yan et al. 1990). Dans le cadre de cette étude, si on voulait déterminer la part de responsabilité qu'a le cycle de vie dans la détermination de teneurs en métal, il faudrait effectuer des expériences tenant compte de l'ensemble de ces variables. Cependant, si on voulait montrer que le cycle de vie est le facteur qui explique la différence de concentration entre les deux espèces, il faudrait mettre à l'épreuve une foule d'autres paramètres comme leur mode d'alimentation, le taux de passage de la nourriture dans le tube digestif, le taux d'assimilation des métaux, la température ambiante, etc...



Figure 4.1: Densité (nombre d'individu par mètre carré) des stades larvaires de *Chironomus* sp., espèce 1, en fonction de la longueur totale du corps et température des sédiments (sous la date) au site d'échantillonnage du lac St-Joseph à cinq dates entre le 22 mai et le 22 octobre 1991. Le graphique du 19 septembre n'est pas à la même échelle verticale que les autres.



Figure 4.2: Densité (nombre d'individu par mètre carré) des stades larvaires de *Chironomus* sp., espèce 2, en fonction de la longueur totale du corps et température des sédiments (sous la date) au site d'échantillonnage du lac St-Joseph à cinq dates entre le 22 mai et le 22 octobre 1991.

#### **CHAPITRE 5**

#### MODE ALIMENTAIRE

#### **5.1 INTRODUCTION**

Il existe, parmi les invertébrés benthiques, une foule de modes alimentaires (prédation, filtration, broutage, râtelage etc.. (Cummins 1973; Walshe 1951b)). Dans le genre *Chironomus*, certains de ces modes ont été mis en évidence: filtreur (Burtt 1940; Chauduri et Nandi 1982; Walshe 1951a), râteleur de dépôts de surface (deposit feeder) (Rasmussen 1984; Timmermans 1991). Aussi, plusieurs ouvrages décrivent la diète des chironomides et les facteurs qui l'influencent en tenant compte de leur mode alimentaire (Ali 1990; Chauduri et Nandi 1982; Johannsson et Beaver 1983; Johnson 1987; Kajak et Warda 1968). La forme des tubes qu'ils fabriquent semble reliée à leur mode alimentaire et à la profondeur où ils sont construits dans les lacs (McLachlan 1977), et leur distribution ainsi que leur densité

semblent reliées aux caractéristiques des sédiments (Johnson 1984; Rasmussen 1985).

Les quantités de métal associées aux invertébrés sont variables, non seulement en fonction de leur mode alimentaire (Timmermans et Davids 1989; Timmermans et al. 1989; Smock 1983), mais aussi, pour un même mode alimentaire, selon la façon dont ils manipulent la nourriture (Timmermans et al. 1992).

Deux espèces taxonomiquement rapprochées peuvent contenir des quantités différentes de métal par unité de poids en ayant des modes alimentaires divergents. La disponibilité des métaux peut être en effet différente selon la nourriture ingérée, que ce soit des particules en suspension filtrées de l'eau ou des dépôts recueillis dans les sédiments. C'est le deuxième aspect biologique à expérimenter pouvant expliquer la problématique des concentrations de métal entre les espèces, c'est aussi le but du cinquième chapitre. Cet aspect sera étudié sous trois faces. Tout d'abord, on examinera la coloration des contenus des tubes digestifs révélant la présence de sédiments de surface ou de profondeur (zone oxique ou anoxique des sédiments). Ensuite, les concentrations totales de métaux traces des contenus intestinaux seront analysées. La troisième face sera vue sous l'angle du taux de passage de la nourriture à l'intérieur des tubes digestifs.

#### 5.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

# 5.2.1 PRÉSENCE DE SÉDIMENTS OXIQUES OU ANOXIQUES DANS LES CONTENUS INTESTINAUX

Des larves de quatrième stade des deux espèces ont été récoltées sur le terrain (site d'échantillonnage du lac St-Joseph) le 12 juin 1991, mises dans des sacs de plastique, où de l'eau du lac avait été préalablement déposée, et ramenées au laboratoire dans des glacières. Elles étaient disséquées dans la même journée (détails de la dissection à la section 3.2). Au cours des dissections, une coloration caractéristique des contenus intestinaux a été notée. Certains présentaient une couleur brune-rouge, présumément due à la présence d'oxydes de fer; et d'autres gris, correspondant présumément à un mélange de sédiments oxiques et anoxiques (Fig. 5.1). Un mode de quantification de la coloration a été créé ad hoc afin de discriminer les espèces sur ce point de vue. Une note arbitraire de 0 à 5 a été attribuée pour chaque contenu intestinal pour 25 individus de chacune des deux espèces: 0 indique un contenu complètement gris (sédiments de la couche anoxique) et 5, un contenu uniquement rouge-brun. Seulement les animaux dont au moins la moitié du tube digestif était plein ont été analysés, les autres ont été éliminés. Les données ont été compilées et des tests non-paramétriques de Mann-Whitney ont été utilisés pour comparer statistiquement la coloration des contenus intestinaux des espèces.

# 5.2.2 CONCENTRATION TOTALE DE CADMIUM, CUIVRE, FER ET ZINC DANS LES CONTENUS INTESTINAUX

Suite aux dissections décrites à la section précédente, le contenu des tractus digestifs était déposé sur des morceaux de feuilles de Teflon<sup>R</sup> pour l'analyse des métaux traces. Les méthodes de pesage, de digestions et d'analyses sont les mêmes qu'à la section 3.2. Cinq échantillons, chacun composés de contenus intestinaux de cinq individus ont été analysés.

#### 5.2.3 TAUX DE PASSAGE DE LA NOURRITURE

Les animaux manipulés au cours de cette expérience ont été récoltés le 22 octobre 1991, ramenés au laboratoire et déposés dans des aquaria contenant déjà des sédiments et de l'eau du lac. Seulement des larves de quatrième stade ont été utilisées. Une période d'acclimatation d'environ une semaine à la température de la pièce (21°C) a précédé le début des essais. Entre temps, des sédiments étaient colorés (Hare, non-publié) avec l'aide d'un colorant fluorescent (Radian Fluorescent Pigment JST-300, Chartreuse) et du dispersant Kodak (Photo-Flo) afin de distribuer également le colorant dans l'eau (dans un rapport de 1g de colorant, 0.25 ml de dispersant et 90 ml d'eau pour 1 litre de sédiment). Approximativement 0.8 litre de ce mélange était mis dans des récipients de 1.5 litre, puis l'eau du lac était ajoutée en la faisant couler sur une rondelle de Styrofoam<sup>®</sup>, de même largeur que le contenant, et déposée à la surface des sédiments, pour remettre le minimum de particules en suspension. Un aérateur était mis en marche pour chaque contenant avant le début de l'espèce 2 étaient placés ensemble dans chacun des

microcosmes qui étaient maintenus au noir en les recouvrant d'un sac de plastique opaque. Les animaux étaient retirés à différents intervalles de temps des sédiment et triés selon l'espèce. Leur tube digestif était enlevé par dissection (section 3.2). Pour quantifier le taux de passage des sédiments le long du tractus digestif, une échelle de 0 à 10 avait été établie, 0 et 10 correspondant respectivement au début de l'oesophage et à la partie distale du proctodéum (Fig. 3.1). Cette longueur a été uniformisée pour un animal standard pour lequel cette distance correspond à 15 mm. Ainsi, on obtient des valeurs en distance parcourue en fonction du temps. On a choisi de calculer le taux de passage au point où les sédiments ont parcouru la moitié du tube digestif (7,5 cm). Le taux de passage était obtenu en dérivant l'équation qui respectait le mieux les données. Les tubes digestifs isolés étaient observés à l'aide d'une lampe à longueurs d'ondes Ultraviolettes Black-Ray B-100A (Ultra Violet Products, inc.) rendant visibles les sédiments colorés. Les endroits où se situaient la coloration étaient notés sur un croquis du tube digestif préalablement dessiné.

#### 5.3 RÉSULTATS

5.3.1 PRÉSENCE DE SÉDIMENTS OXIQUES OU ANOXIQUES DANS LES CONTENUS INTESTINAUX

Selon les observations visuelles de la couleur des sédiments des contenus intestinaux, l'espèce 2 consommerait beaucoup plus de sédiments oxiques présumément riches en oxydes de fer que l'espèce 1. Les valeurs estimées (moy.  $\pm$  é.-t., n=25) sont de 1.2  $\pm$  1.0 pour l'espèce 1 et de 4.4  $\pm$  0.6 pour l'espèce 2 selon l'échelle arbitraire visuelle s'échelonnant de 0 à 5. Des observations faites

sur le terrain et au laboratoire indiquent que ces couleurs concordent avec les couches oxiques et anoxiques des sédiments de surface.

# 5.3.2 CONCENTRATION DE MÉTAUX TRACES DANS LES CONTENUS INTESTINAUX.

Les quantités de Cd, Fe et de Zn par contenu intestinal de l'espèce 1 sont significativement plus grandes que celles de l'espèce 2 (Tab. 5.I). Cependant, le poids moyen des contenus intestinaux de l'espèce 1 est à peu près le double de ceux de l'espèce 2. Donc, les concentrations de Cd ne sont pas significativement différentes pour les deux espèces, les concentrations de Cu et de Fe sont plus élevées dans les contenus intestinaux de l'espèce 2 et celles de Zn sont plus élevées dans les contenus intestinaux de l'espèce 1.

#### 5.3.3 TAUX DE PASSAGE DE LA NOURRITURE

L'espèce 1 met peu de temps (environ 1.5 heure) avant de commencer à s'alimenter de sédiments colorés (Fig. 5.2). On a noté que l'espèce 1 laisse peu d'espace (transversalement et longitudinalement) entre les particules de sédiments dans les contenus intestinaux, que les sédiments se compactent dans le tube digestif et que la ligne de transition entre les deux types de nourriture (colorée et non-colorée) est bien démarquée. Le passage de la nourriture se fait progressivement et non pas en dent de scie comme pour l'espèce 2. Après une durée de huit heures, tous les animaux (10 individus sur 10) observés n'ont que des sédiments colorés dans leur intestin. La variabilité entre les individus est à son maximum environ à la moitié du temps requis par la nourriture pour traverser le tube digestif (environ à 3

heures). Finalement, le taux de passage de l'espèce 1 estimé serait d'environ 2,4 mm/heure.

Dans le cas de l'espèce 2, les animaux mettent plus de 6 heures avant de commencer à s'alimenter dans ce nouveau milieu (Fig. 5.2). Ils démontrent une grande variabilité entre individus et entre les échantillonnages, et on n'a observé que rarement des individus où les intestins étaient remplis de sediments colorés. La variabilité entre les individus était due en partie au petit nombre de larves observées. On note aussi que les tubes digestifs contiennent souvent peu de matériel. Etant donné cette grande variabilité, le taux de passage moyen ne peut pas être estimé précisément mais il est sûrement plus faible que celui de l'espèce 1.

#### **5.4 DISCUSSION**

Du point de vue de l'animal benthique, la concentration du métal dans ses tissus dépend de la concentration de métal dans la nourriture et du taux d'assimilation des métaux. La concentration de métal dans la nourriture peut être reliée à i) la taille et ii) la qualité des particules ingérées (disponibilité des métaux de ces particules). Le taux d'assimilation est fonction i) des conditions à l'intérieur du lumen du tube digestif (pH, pE ou surface d'échange de l'épithélium), ii) du taux de passsage de la nourriture et iii) des sites de prise en charge des métaux. Ici, trois de ces aspects seront discutés, soit le type de sédiment (oxique ou partiellement anoxique) ingéré en fonction du mode alimentaire, la concentration des métaux dans la nourriture et dans l'eau interstitielle des sédiments de surface et, le taux de passage.

Tableau 5.1: Poids sec (mg par contenu intestinal) des contenus intestinaux (C.I.), quantités (mg pour 1000 individus), concentrations totales ( $\mu g.g^{-1}$  poids sec) de Cd, Cu, Fe et Zn dans les contenus intestinaux et rapport (espèce 1/espèce 2) des moyennes de ces paramètres pour deux espèces du genre *Chironomus* spp. Pour chaque espèce, n=5 échantillons de cinq individus chacun. \*: p<0.05, \*\*: p<0.025 (Mann-Whitney), n.s.=non significatif.

		Cadr	nium	Cu	ivre	F	er	Zi	nc
Espèce	Poids des C.I.	Qté/ 1000ind	Conc.	Qté/ 1000ind	Conc.	Qté/ 1000ind	Conc.	Qté/ 1000ind	Conc.
	(mg)	(mg)	(µg/g)	(mg)	(µg/g)	(mg)	(µg/g)	(mg)	μg/g)
1	0.34 ±0.08	0.55 ±0.09	1.62 ±0.21	8.93 ±2.85	26.66 ±8.83	22.89 ±4.6	67.44 ±11.0	110 ±30	320 ±40
	*	**	n.s.	n.s.	**	**	*	**	**
2	0.15 ±0.03	0.29 ±0.12	1.88 ±0.55	7.04 ±2.33	47.99 ±11.08	13.63 ±4.3	91.19 ±14.2	30 ±10	240 ±20
sp1/sp2	2.3	1.9	0.9	1.3	0.6	1.7	0.7	3.7	1.3

Timmermans et Davids (1989) ont comparé l'influence de différents modes alimentaires de chironomides sur leurs concentrations en métaux traces. L'ensemble des filtreurs contenait 4 fois moins de cadmium et légèrement moins de cuivre et de Zn que les râteleurs de surface (deposit feeders). Les espèces étudiées ici ne semblent pas strictement filtreuses ni brouteuses ce qui ne met pas les résultats en contradiction directe avec cette étude.

Au niveau de la nourriture ingérée, les individus de l'espèce 2 semblent s'alimenter principalement de sédiments oxiques relativement riches en oxyhydroxydes de fer, tandis que les larves de l'espèce 1 semblent se nourrir de sédiments anoxiques plus pauvres en oxyhydroxydes de fer. Les sédiments oxiques

se retrouvent soit dans la couche superficielle des sédiments de surface ou soit le long des parois des tubes des larves. Or, on ne doit pas conclure que l'espèce 2 s'alimente uniquement dans la couche oxique parce que les individus peuvent créer une circulation d'eau rendant oxiques les sédiments de la paroi de leurs trous grâce à des mouvements répétitifs (Frenzel 1990). Selon Leuchs et Neumann (1990), le comportement alimentaire typique des larves du genre Chironomus se caractérise par: 1- la fabrication, par rotation de leur corps, d'un tube avec au moins une entrée à la surface des sédiments, et 2- par des intervalles d'activités où les larves alternent entre le râtelage des parois du tube et des activités alimentaires en surface. Ces chercheur ont placé les larves dans des tubes de verre facilitant ainsi l'observation directe des animaux. Ce type de comportement alimentaire est rapporté aussi dans la littérature par Heinis et al. (1990) chez Glytotendipes pallens. Selon les observations faites en laboratoire, les deux taxa s'alimentent à la couche superficielle des sédiments. Mais, on a aucune évidence du comportement de râtelage des parois du tube; ce comportement demeure cependant possible pour les deux espèces.

La couleur des contenus intestinaux suggère que l'espèce 1 s'alimenterait sous la zone de formation des oxyhydroxydes de fer. Elle pourrait aussi, selon le mode alimentaire décrit plus haut, provoquer moins fréquemment de circulation d'eau que l'espèce 2 dans son tube (étude du temps de passage), ou encore, elle passerait une bonne partie du temps à un comportement fouisseur où la larve ne se préoccuppe que d'ingérer et de remuer les sédiments anoxiques. Elle serait alors constamment en contact avec ces sédiments et l'eau interstitielle et ne s'alimenterait que rarement en surface (comportement de râtelage de surface observé en laboratoire). Pour l'espèce 2, cette période de contact avec les sédiments en partie anoxiques et l'eau interstitielle serait restreinte au temps où la larve fabrique son trou puisqu'elle met près de sept heures avant de s'alimenter (Fig. 5.2). Le peu de matériel dans le tube digestif suggère des activités fréquentes de circulation d'eau dans le réseau de tubes et d'arrêt de l'alimentation, et donc un comportement de filtrage. Les sédiments oxiques retrouvés dans leur tubes digestifs suggèrent qu'elle s'alimenteraient soit: tout près de la surface (entre 0,5 cm et l'interface eausédiments) ou sur les parois des trous qu'elles fabriquent.

Il est bon de noter ici que la couleur des sédiments est un critère subjectif puisque rien ne démontre avec certitude que les couleurs, rouge-brun et gris, correspondent respectivement à des sédiments oxiques et anoxiques. Une quantification du souffre élémentaire parallèlement dans les contenus intestinaux et dans les sédiments serait plus appropriée.

Selon Frenzel (1990), les sédiments de la paroi des tubes des chironomides ne demeurent oxiques que pendant une courte période de temps si la larve arrête la circulation d'eau. Devant les conditions de presqu'anoxie, les larves troquent leur métabolisme aérobie, basé sur le transport d'oxygène par l'hémoglobine, pour entrer dans une phase anaérobique (Walshe 1951a; Zebe 1991) où les métabolites acides (p.e. l'acide lactique, résultat d'activités anaérobies) s'accumulent dans le corps. Par ailleurs, la concentration d'hémoglobine chez les larves de chironomides est variable entre autres selon l'espèce et la quantité d'oxygène dissous dans l'eau (Leyko et Osmulski 1985). Selon l'hypothèse que l'espèce 1 s'alimente plus profondément et qu'elle se nourrit de sédiments moins oxiques que l'espèce 2, l'espèce 1 ferait face à des variations de conditions entraînant de façon plus fréquente des changements de métabolisme. Selon Fagerström (1977), la dynamique d'échange de contaminant organiques entre les animaux et leur environnement peut être fonction de leur métabolisme. S'il en est de même pour les métaux, l'espèce 1 pourrait être avantagée par un métabolisme anaérobique entraînant une baisse du pH sanguin et une remise en circulation des métaux dans le corps pour être excrété au niveau des tubules de Malpighi d'où une accumulation nette moins importante.

Le tableau 5.I indique que le cuivre se retrouve en plus grande concentration dans les contenus intestinaux de l'espèce 2 et que le zinc est en concentration plus importante chez ceux de l'espèce 1. Mais les concentrations corporelles ne respectent pas ces tendances puisqu'elles sont égales dans le cas du Cu et deux fois plus grandes pour l'espèce 2 dans le cas du Zn. Enfin, le Cd est en concentration égale dans les contenus intestinaux des deux espèces mais au moins huit fois plus élevé dans les larves complètes de l'espèce 2 suggérant que les concentrations totales des contenus intestinaux ne sont pas représentatives des concentrations retrouvées dans les larves.

A posteriori, il semble que les espèces se distinguent par la quantité relative d'oxyhydroxydes de fer dans leur nourriture. La quantité de métal associée à cette phase du sédiment peut représenter une partie importante de la somme totale ou de la quantité disponible. Des relations peuvent être établies entre la concentration de métal associée à différentes phases du sédiments et la concentration des animaux benthiques (Bendell-Young et Harvey 1991; Tessier et al. 1984; Tessier et al. 1992). La digestion utilisée lors du présent travail a mis en solution la majeure partie des métaux présent dans les sédiments, ne mettant pas en évidence ceux sorbés à la surface des oxyhydroxydes de fer et de manganèse, typiques des sédiments oxiques, ni à des phases plus labiles du sédiment.

Tous les métaux étudiés, sauf le cuivre, voient leur concentrations dans l'eau interstitielle des sédiments de surface atteindre un maximum entre environ 2 et 4 cm sous l'interface eau-sédiments (Fig. 1.5). Ces concentrations concordent avec celles des larves dans le cas du cuivre puisque les concentrations de ce métal ne varient pas en fonction de la profondeur dans les sédiments et que les concentrations des deux espèces sont égales. Elles ne correspondent cependant pas avec celles du Zn et du Cd car les concentrations sont plus élevées là où l'espèce 1 s'alimenterait, i.e. plus profond qu'au moins 0,5 cm. L'espèce 2, qui pourrait s'alimenter plus fréquemment en surface des sédiments, ne ferait face qu'à de plus faibles concentrations de Cd et de Zn en solution que l'espèce 1.

Pour le taux de passage, les larves de l'espèce 2 tardent à fournir une réponse aux manipulations, une grande variabilité inter-échantillions au niveau de la quantité de coloration retrouvée dans les intestins et un taux de passage difficilement mesurable mais probablement plus lent que celui de l'espèce 1. L'ampleur du temps de réponse fournirait suffisamment de temps aux larves afin de se fabriquer un tube, de l'oxygéner et de s'alimenter ensuite. La périodicité de l'alimentation (comportement possiblement filtreur) expliquerait les variations temporelles des quantité de coloration dans les tubes digestifs et le fait que des larves soient souvent retrouvées avec peu de matériel dans leur tube digestif. D'autre part, le temps de réponse des larves de l'espèce 1, presqu'inexistant, et un taux de passage d'environ 2.4 mm/heure suggèrent que les larves commencent à se

nourrir dès qu'elles sont mises dans les microcosmes et qu'elles le font sans arrêt. Si le temps de passage de l'espèce 2 est plus lent que celui de l'espèce 1 et que la nourriture est moins compactée dans les tubes digestifs de l'espèce 2 que dans ceux de l'espèce 1, comme il a été donné d'observé en laboratoire; la période de contact et la grandeur de la surface d'échange entre les contenus intestinaux et les parois du tube digestif (nourriture peu compactée) seraient alors plus importantes chez l'espèce 2. Ceci fournirait plus de temps et une plus grande surface pour l'absorption des métaux par les tissus des tubes digestifs. Le taux de passage permettrait une forme d'explication de l'écart des concentrations entre les espèces, mais reste à connaître s'il est capable à lui seul d'expliquer les concentrations observées. Une étude de l'assimilation des métaux traces serait ici de grand intérêt.

En conclusion: 1- Le comportement alimentaire des deux espèces est très différent malgré qu'elles se nourrissent toutes deux de sédiments. 2- L'espèce 1 s'alimenterait de façon continue de sédiments partiellement anoxiques plus profondément qu'au moins 0,5 cm de l'interface eau-sédiments. Le taux de passage de la nourriture dans son tube digestifs est d'environ 2.4 mm/heure. 3- L'espèce 2 s'alimenterait de façon épisodique de sédiments oxiques tout près de l'interface eau-sédiments. Son taux de passage demeure inconnu mais il est probablement plus lent que celui de l'espèce 2. 4- Les concentrations de métaux traces dans les contenus intestinaux et celles de l'eau interstitielle des sédiments de surface ne peuvent expliquer les concentrations totales des larves quoiqu'elles ne représentent probablement pas la portion disponible exacte des métaux.

73

Afin de mieux cerner l'ensemble des similitudes et des différences entre les espèces, le Tableau 5.II récapitule l'ensemble des paramètres reliant les deux espèces et qui ont été discutés dans les derniers chapitres.

Tableau 5.II: Tableau récapitulatif des différents paramètres discutés dans les derniers chapitres.

Paramètre	Espèce 1		Espèce 2
Tache sur la tête (Clypeus)	oui		non
Tubuli latéraux	court		long
4 <sup>e</sup> dent mandibulaire	arrondie		pointue
Stries des plaques paralabiales	ramifiées		continues
Cycle de vie	univoltine (1 an)		univoltine (1 an)
Concentration totale:	*		
Cadmium	1	<<	2
Cuivre	1	=	2
Zinc	1	<	3
Localisation:			
Cadmiun	tube digestif		tube digestif
Cuivre	tube digestif		tube digestif
Zinc	corps		corps
Taux de passage	2,4 mm/heure		-
Nourriture	anoxique		oxique



Fig. 5.1: Photographies des sédiments en partie anoxiques et oxiques retrouvés respectivement dans les tubes digestifs de larves de quatrième stade de *Chironomus* spp.: a) espèce 1 et b) espèce 2. La flèche montre une intrusion de sédiments oxiques à travers les sédiments anoxiques d'un tube digestif d'un individu de l'espèce 1. (15X)



Fig. 5.2: Distance parcourue (mm, moy.  $\pm$  é.t.) par la nourriture en fonction du temps dans le tube digestif de larves de quatrième stade des deux espèces de *Chironomus* à 20°C. Le tube digestif a été sous-divisé en dix unités égales: 0 et 10 correspondant aux extrémités antérieure et postérieure respectivement. Les données sont standardisées pour une larve dont la longueur du tube digestif est de 15 mm. Pour chaque point, n=10 pour l'espèce 1 et n=4 pour l'espèce 2.

## CHAPITRE 6

# DYNAMIQUE D'ÉCHANGE DES MÉTAUX ENTRE LES LARVES ET LEUR MILIEU

#### 6.1 INTRODUCTION

La problématique formulée au troisième chapitre a montré des concentrations différentes de cadmium et de zinc mais semblables en cuivre pour les deux espèces. Une étude de la dynamique d'échange des métaux entre les larves et leur milieu pourrait indiquer si ces relations sont expliquées par des taux d'accumulation plus grands chez l'espèce qui présente les plus grandes concentrations de Cd et de Zn, ou par des taux de dépuration plus petits pour cette même espèce.

D'un certain point de vue, la concentration des métaux dans les organismes représente l'intégration des processus d'accumulation et de dépuration à un temps donné. Elle peut être vue comme étant la différence entre ces deux processus (Hare 1993). Le but de ce dernier chapitre est donc de déterminer si la dynamique d'échange des métaux est capable d'expliquer les différences entre les deux espèces de *Chironomus* au niveau des concentrations de métaux traces. Cet aspect sera vérifié en utilisant un modèle de cinétique de premier ordre tel que décrit par Hare et al. (1991b). L'expérience a été menée en laboratoire où maints paramètres écologiques et climatiques ont été contrôlés (entre autres la température, lumière, densité et rapport entre les espèces). La dynamique a été caractérisée par une expérience d'accumulation et une autre de dépuration de radioisotopes traceurs de cadmium et de zinc mélangés aux sédiments.

Aussi, la dynamique a été suivie dans différentes parties du corps des larves de quatrième stade afin d'avoir une indication de la (des) voie(s) d'entrée des métaux dans ces animaux.

#### 6.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

# 6.2.1 ACCUMULATION DE <sup>109</sup>CADMIUM ET DE <sup>65</sup>ZINC

Des sédiments ont été récoltés du lac St-Joseph le 26 septembre 1991. A 82 litres de ceux-ci étaient ajoutés 1.5 mCi de  $^{65}$ Zn et moins de 100  $\mu$ Ci de  $^{109}$ Cd dès le lendemain. Ils ont été mélangés à trois reprises (27 septembre, 30 septembre et 10 octobre) à l'aide d'une perceuse munie d'une hélice. A la dernière date, dix échantillons ont été récoltés et comptés afin de vérifier l'homogénéité du mélange. Tous les comptes se situent dans un intervalle de 6.1% et 1.3% autour de la moyenne pour le cadmium et le zinc respectivement. Les manipulations des sédiments ont toutes été faites à la température de la pièce (~ 21°C); ensuite , les sédiments étaient placés dans une chambre environnementale maintenue à 13°C. La

température utilisée ici correspond à la température moyenne rencontrée dans le milieu d'où provenaient les organismes. Étant donné que le développement larvaire est relativement lent à cette température, l'expérience peut ainsi se dérouler sur une assez longue période de temps sans qu'il n'y ait émergence et le laps de temps nécessaire pour les manipulations (environ 2 jours) lors d'un échantillonnage reste acceptable. Les radioisotopes ont d'abord été mis en contact avec les sédiments pendant 40 jours afin que leur spéciation s'approche de celle des métaux "froids" (non radioactifs) déjà présents. Au bout de ce temps, environ 0.8 L de sédiments radioactifs a été placé dans 36 microcosmes de 2 L (Frig-O-Seal, 12 cm de diamètre et 20 cm de hauteur, en plastique), fournissant en moyenne une épaisseur de 7.5 cm de substrat pour les animaux. Parallèlement, le même volume de sédiments non-radioactifs a été déposé dans 28 autres de ces contenants. Le volume de tous les microcosmes a été complété à 2 L avec de l'eau du lac en utilisant une rondelle de mousse de polystyrène dans le but d'éviter la remise en suspension de particules dans l'eau. L'ensemble des microcosmes a été placé à 13°C dans une chambre environnementale et tenu au noir avec des sacs de plastique opaque. L'oxygène dissous a été maintenu près de la saturation (entre 95 et 100%) avec un système d'aération. Huit jours d'attente ont précédé l'ajout des organismes de façon à ce qu'il se forme une couche oxique à la surface des sédiments. Le pH s'est maintenu entre 6.5 et 7 pendant toute l'expérience.

Par ailleurs, le 12 novembre, des larves de quatrième stade des deux espèces ont été récoltées sur le terrain, mises dans des sacs de plastique avec une certaine quantité d'eau du lac, ramenées au laboratoire et triées selon leur espèce en vérifiant la presence d'une tache noire sur la partie dorsale de la capsule céphalique (voir chapitre 2). Elles ont été ensuite mises dans l'eau du lac à 13°C jusqu'à ce qu'elles soient déposées dans les microcosmes. Le 14 novembre, soit deux jour plus tard, l'échantillonnage du jour zéro de l'expérience d'accumulation a été fait, et, dans la même journée, les larves triées ont été déposées dans les sédiments radioactifs. Les sédiments non radioactifs ont été gardés pour l'expérience de dépuration. Ainsi, dans le but de respecter les densités maximales observées sur le terrain et le rapport de l'abondance des espèces, dix individus de l'espèce 1 et quatre de l'espèce 2 ont été placés dans chaque microcosme. Étant donné la grande gamme de taille chez l'espèce 2, les individus de cette espèce ont été visuellement triés selon leur taille; trois grosses larves et une petite ont été utilisées afin que chaque microcosme ait approximativement le même poids d'animaux. Les larves de l'espèce 1 étaient visuellement toutes semblables.

Quatre microcosmes étaient sacrifiés à chaque échantillonnage. Tout d'abord, un premier volume de 10 ml d'eau était échantillonné de chacun et filtré à l'aide d'un filtre Millipore (grandeur nominale des pores de 0.4  $\mu$ m). Les métaux adsorbés sur les particules plus petites que 0.4  $\mu$ m sont considérés comme étant en solution. Les organismes étaient récupérés des sédiments et triés au niveau de l'espèce avec un binoculaire muni d'une lampe à fibre optique dans le but de minimiser le stress thermique. Une brève vérification de la surface des larves suivait le tri afin d'enlever les traces possibles de sédiments adhérant aux parois de l'exosquelette. Finalement, un bain de 25 minutes dans 5 ml d'un chélateur, l'EDTA (acide éthylène-diamine-tétraacétique) 10<sup>-2</sup> M, avait comme but de déterminer les concentrations des métaux sorbés à la surface des larves.

Les animaux étaient ensuite disséqués. Le tube digestif était enlevé et son contenu vidé. Les manipulations de cette dissection sont expliquées en détails à la section 3.2. L'ensemble des intestins, des corps, des contenus intestinaux et du sang récupéré à la fin de chaque série de dissection, pour une mème espèce, était placé sur des pièces de feuilles de Teflon<sup>\*</sup> inviduelles prélavées, prépesées et déposées dans des boîtes de Pétri tel que décrits par Hare et al. (1989). Tous les échantillons étaient à tour de rôle congelés, lyophylisés, pesés à deux reprises de la même manière que pour le dosage des métaux traces.

Les radioisotopes étaient finalement mesurés à l'aide d'un compteur de particules gamma ("LKB Wallac" 1282 Compugamma, NaI(T1)). Celui-ci a été programmé de façon à compter à l'intérieur de fenêtres d'énergie comprenant au moins 80% des comptes totaux des pics d'énergie du <sup>109</sup>Cd (environ entre 21 et 32 keV) et du <sup>65</sup>Zinc (environ entre 1050 et 1190 keV). Au préalable, des étalons de ces radioisotopes avaient été comptés dans le but de quantifier le recouvrement inter-isotope. Ainsi, 2.70% des comptes totaux de 65Zn doivent être soustraits de ceux du <sup>109</sup>Cd et inversement les comptes totaux de <sup>109</sup>Zn doivent être soulagés de 0.01% des comptes totaux de <sup>109</sup>Cd. Une dizaine d'échantillons témoins (blancs) ont été comptés afin d'estimer le bruit de fond; seulement les échantillons avant des nombres de comptes plus élevés que la moyenne des blanc plus un écart-type sont considérés. Des corrections ont été effectuées en premier lieu pour la perte d'activité depuis le début de l'expérience et pour l'efficacité de comptage. Cette dernière étant de 60% pour le <sup>109</sup>Cd et de 9% pour le <sup>105</sup>Zn, les comptes par minutes ont été ainsi transformés en désintegrations par minutes. Le temps de comptage a été fixé à 4 heures ou jusqu'a 2500 comptes par fenêtre de façon à obtenir une erreur plus petite que 2% sur les comptes bruts. Dans les cas où le besoin le justifiait, l'activité a été divisée par le poids du tissus afin d'obtenir des résultats en désintégration par minute par mg de poids sec. La concentration totale d'un radioisotope dans les larves est la somme des quantités retrouvées dans les corps, les tubes digestifs et le sang divisée par le poids total des animaux.

Afin de mettre en évidence toute variation de la concentration de métal reliée au poids des larves, des régressions entre les concentrations de métaux et le poids des organismes ont été calculées mais aucune d'elles ne s'est révélée significative.

#### 6.2.2 DÉPURATION DES RADIOISOTOPES

Pour l'expérience de dépuration des radioisotopes, 50 microcosmes ont été préparés de la même manière que dans la partie ACCUMULATION. Les organismes sont d'abord demeurés dans les sédiments radioactifs pour une période 66 jours à partir du 31 janvier 1992 dans les proportions et les conditions décrites à la section 6.2.1. Le 6 avril, le premier échantillonnage (t=0 jour) a été fait avec les larves qui étaient, à ce moment, dans les sédiments radioactifs. Dans la même journée, le tri des animaux des microcosmes a été fait toujours de la même manière que pour l'expérience d'accumulation (section 6.2.1). Les animaux morts, ceux-ci étant peu abondants, ont été rejetés. Les larves vivantes ont été déposées dans les 28 microcosmes préparés dès le début de l'expérience d'accumulation avec les sédiments auquels aucun radioisotopes n'avait été ajouté. La proportion entre les espèces, les conditions de pH et d'oxygène dissous respectees lors de l'expérience d'accumulation étaient celles utilisées ici.

A chaque échantillonnage, toutes les manipulations étaient les mêmes que pour l'expérience précédente sauf que des aliquotes d'eau n'ont pas fait l'objet d'analyse.

#### 6.2.3 EAU INTERSTITIELLE

La concentration des métaux radioactifs dans l'eau surnageante et interstitielle des sédiments des microcosmes a été estimée par la méthode de dialyse telle que décrite par Hesslein (1976) et Carignan (1985). Les dialyseurs propres, nettoyés dans HNO<sub>3</sub> 15% et rincés à l'eau déminéralisée et à l'eau ultra-pure (Milli-Q3RO/Milli-Q2 System, Millipore Corp.) avaient auparavant passé une semaine dans un cylindre remplis d'azote. A leur sortie, ils ont été tout de suite mis dans un bain d'eau déminéralisée et la membrane à dialyse (Gelman HT-200, grandeur de maille nominale de 0.2  $\mu$ m) y a été déposée de façon à ce que les dialyseurs ne viennent en contact avec l'air ambiant que pendant un temps minimum. Ils ont été recouverts ensuite d'un chiffon propre et humide et placé dans un sac de plastique contenant de l'azote. Le gaz a été renouvelé quelques fois pour minimiser la quantité d'oxygène dans les sacs. Après être demeurés 24 heures dans ces conditions, ils ont été insérés verticalement dans les sédiments des microcosmes pendant 12 jours, soit du 19 au 31 décembre. A leur sortie, des échantillons d'environ 0.7 ml étaient rapidement récoltés des cellules des dialyseurs en perçant la membrane à l'aide d'une seringue propre. L'eau interstitielle retirée a été déposée dans des petites bouteilles prélavées où les quantités de HNO<sub>3</sub> (Aristar 1N, 7 µl) avaient été pipettées. Ces échantillons étaient alors prêts pour le comptage gamma.

## 6.3 RÉSULTATS

6.3.1 DISTRIBUTION DES RADIOISOTOPES DANS L'EAU SURNAGEANTE ET DANS L'EAU INTERSTITIELLE

Une vingtaine de jours après le début de l'expérience, les métaux étaient surtout associés aux particules en suspension. Par la suite, la quantité récupérée par les filtres diminuait considérablement (Fig. 6.1) pour les deux métaux suggérant que l'introduction des larves provoquait une remise en suspension de particules (fabrication du réseau de tubes) mais par la suite l'activité alimentaire régulière ne mettait en suspension que des particules très fines. Les quantités de métaux en solution augmentaient avec le temps (Fig. 6.1).

Dans l'eau interstitielle, les concentrations de <sup>109</sup>Cd et de <sup>65</sup>Zn augmentent dans le premier centimètre sous l'interface eau-sédiment mais diminuent plus bas à des valeurs presque nulle dans le cas du zinc et sous la limite de détection pour le cadmium (Fig. 6.2). Les valeurs élevées observées dans la cellule la plus profonde de certains dialyseurs sont probablement causées par des sédiments ou particules récoltés par erreur lors de l'échantillonnage.

## 6.3.2 MÉTAUX SORBÉS SUR LA SURFACE DE L'EXOSQUELETTE

La dynamique d'adsorption sur l'exosquelette des larves semble rapide puisque dès les premiers jours de l'expérience, les quantités maximale observées (sauf le cadmium pour l'espèce 2) sont déjà associées aux larves (Fig. 6.3). A l'état stationnaire, l'espèce 2 a environ trois fois plus de <sup>109</sup>Cd lié à la surface de son corps que l'espèce 1. Les quantités de <sup>65</sup>Zn deviennent non-détectables à 191 jours d'expérimentation et les deux espèces semblent compter des quantités égales de <sup>65</sup>Zn à la surface de leur exosquelette.

Le cadmium radioactif lié à la surface extérieure de l'exosquelette des larves représente de façon constante, même au début de l'expérience, des valeurs entre 20% et 40% de la quantité totale de <sup>109</sup>Cd associée aux larves, l'espèce 2 ayant toujours une proportion légèrement plus élevée (Fig 6.3). Le zinc adsorbé sur le corps représente la presque totalité de ce métal associé aux larves des deux espèces dans les premiers jours de l'expérience (Fig 6.3). Cette proportion diminue très rapidement pour rejoindre des valeurs près de 20% pour l'espèce 2 et de 5% pour l'espèce 1 dans le reste de l'expérience (sauf pour le jour 191).

#### 6.3.3 MÉTAUX BIOACCUMULÉS

Les concentrations des contenus intestinaux (Fig. 6.4) atteignent leur maximum avant celles du sang, des tissus des tubes digestifs et des restes des corps (Fig. 6.5) puisque les valeurs plafonnent dès les premiers jours d'accumulation. Elles sont les mêmes chez les deux espèces.

Pour le <sup>109</sup>Cd et le <sup>65</sup>Zn, l'accumulation se fait graduellement dans les différentes parties du corps jusqu'à l'obtention de plateaux en quantité et en concentration (Fig. 6.5). Ces derniers sont moins clairement définis dans le cas du cadmium, ces imprécisions sont probablement causées par la trop faible quantité de <sup>109</sup>Cd mélangée au sédiments et par la faible accumulation de ce métal par les larves elles-mêmes. En général, les teneurs en <sup>109</sup>Cd sont sensiblement supérieures chez l'espèce 2, tandis que celles de <sup>65</sup>Zn sont au moins sept et six fois plus élevées chez l'espèce 1 dans les corps et les tubes digestifs respectivement (Fig. 6.5, b).

Les concentrations de <sup>65</sup>Zn dans le sang des deux espèces sont dificilement comparables car ce radioisotope devient non-détectable dans le sang de l'espèce 2 à partir de 97 jours. Finalement, la dynamique d'accumulation dans les larves complètes (intestin, corps et sang) montre des courbes semblables à celles des intestins, les tubes digestifs comptant la majeure parties de radioisotopes. L'espèce 1 est environ cinq fois plus concentrée en <sup>65</sup>Zn, mais l'est deux fois moins en <sup>109</sup>Cd.

La proportion du poids total des larves représentée par chacune des parties pendant l'expérience est montrée à la figure 6.6. Ces proportions sont très stables dans le temps. Le corps est toujours responsable de la majeure partie du poids total, soit environ 70%. Le sang et les tubes digestifs ne prennent qu'entre 15% et 20% chacun du poids total des larves.

Pour les deux métaux, le rapport entre les quantités de radioisotopes obtenues des intestins et celles des corps augmentent dès les premiers jours de l'expérience et diminuent ensuite (Fig. 6.7). Ceci suggère que les métaux sont tout d'abord accumulés dans les tubes digestifs avant de pénétrer dans le corps et que l'intestin est le site principal d'entrée du <sup>109</sup>Cd et du <sup>65</sup>Zn.

La dépuration du <sup>65</sup>Zn (Fig. 6.8, b) est rapide puisque la présence du radioisotope ne devient plus détectable après 8 jours dans le sang des 2 espèces et après 32 jours dans les intestins et les corps de l'espèce 2. La dépuration du <sup>109</sup>Cd est souvent peu marquée (Fig. 6.8, a) et les points sont affectés d'une grande erreur. Ceci est peut-être dû au fait qu'on a pas assez ajouté de <sup>109</sup>Cd dans les sédiments et que les tissus n'avaient pas accumulé suffisamment de ce radioisotope avant de procéder à l'étude de la dépuration. Les écarts de concentrations entre les

espèces demeurent sensiblement les mêmes, i.e. que l'espèce 1 contient toujours légèrement moins de <sup>109</sup>Cd que l'espèce 2 mais beaucoup plus de zinc.

#### 6.4 DISCUSSION

## 6.4.1 SORPTION DES MÉTAUX À LA SURFACE DES LARVES

À un temps donné, la quantité de métal sorbée en surface du corps peut représenter, surtout dans le cas du Cd, une partie non-négligeable de la quantité totale. Tel que suggéré par cette étude, cette proportion devrait être prise en considération car ces métaux ne sont pas réellement bioaccumulés et n'affectent probablement pas la santé des organismes.

La quantité de métal adsorbé à la surface du corps des invertébrés est un paramètre souvent discuté dans la littérature (Krantzberg et Stokes 1988; Timmermans 1991) mais il semble que les résultats varient en fonction de la méthode employée. Krantzberg et Stokes (1988) étudient l'adsorption de métaux (en présence de sédiments) sur des animaux morts par ébullition, mais suite à ce stress les tissus ne conservent surement pas leur intégrité cellulaire et l'échange de métaux peut être biaisé. Timmermans (1991) étudie l'adsorption de métaux en présence de papier filtre au lieu de sédiments sur des animaux tués dans une sollution d'uréthane. Ce dernier substrat n'occasionne surement pas la même dynamique d'échange qu'entre les sédiments et le corps des invertébrés. La méthode employée ici comporte aussi ses impertections par le fait que les larves avaient l'occasion de déféquer dans la solution d'HDTA où elles étaient déposées pendant une période de 25 minutes. Les métaux radioactits associés à ces sédiments peuvent causer un biais dans les résultats également su la verification visuelle des

échantillons n'est pas assez efficace pour mettre en évidence de très petites particules. Cette méthode pourrait être améliorée en filtrant la solution d'EDTA ou en attachant les larves au niveau de l'avant-dernier segment de façon à bloquer la sortie des sédiments.

#### 6.4.2 MÉTAUX BIOACCUMULÉS

Dans le but de décrire et de comparer la cinétique de l'accumulation et de la dépuration des deux espèces, une équation tiré du modèle utilisé par Hare et al. (1991) a été reprise ici. Ce modèle fait appel à des réactions de premier ordre pour l'accumulation et la dépuration:

(1) 
$$\frac{d[*M]_{\star}}{dt} = k_{\star} \cdot [*M]_{\star} - k_{\star} \cdot [*M]_{\star}$$

(accumu.) (dépura.)

où [\*M]<sub>a</sub> est la concentration de radioisotopes dans le tissus de l'animal,  $k_I$  est la constante du taux d'entrée, [\*M]<sub>e</sub> la concentration de radioisotope dans l'environnement de l'organisme (sédiments) et  $k_E$  la constante de vitesse de dépuration. Par intégration de l'équation (1) en supposant que la concentration de radioisotopes dans le milieu est nulle au début de l'expérience de dépuration, on obtient:

(2) 
$$[*M]_{a} = [*M]_{c} e^{4i\pi}$$

où  $[*M]_a^0$  est la concentration de radioisotope dans le tissu de l'animal au temps 0 de la dépuration.

A partir de cette équation, des valeurs de  $k_E$  (pente le la régression de  $ln[*M]_a$  vs t) ainsi que du temps de demi-vie  $(t_{1/2})$  des radioisotopes à l'intérieur des tissus peuvent être calculées (Hare et al. 1991b) (Tab. 6.I).

La constante apparente du taux d'entrée, k'<sub>I</sub> peut être estimée à partir des données obtenues au début de l'expérience d'accumulation de radioisotopes, i.e. où les valeurs de  $[*M]_a$  dans l'équation (1) sont suffisamment petites pour que le deuxième terme de droite de l'équation (1) soit négligeable devant le premier. L'équation (1) devient alors:

(3) 
$$\frac{d[*M]_a}{dt} = k_I[*M]_e = k_I$$

en considérant le fait que  $[*M]_e$  demeure constant tout au long de l'expérience puisque les larves ne prennent en charge qu'une petite fraction des radioisotopes ajouté au système. Après intégration, l'équation (3) est exprimée sous la forme:

(4) 
$$[*M]_a = k_I \cdot t$$

où k'<sub>I</sub> est alors la pente des courbes d'accumulation au début de l'expérience. Les valeurs de ces pentes sont les estimés de k'<sub>I</sub> montrés au Tableau 6.I. Les courbes montrées au figures 6.6 et 6.8 ont été calculées à partir de k'<sub>I</sub> et k<sub>E</sub> du tableau 6.I et des valeurs appropriées de  $[M]_a^0$  telles que calculées par l'équation :

(5) 
$$[*M]_{a} = \frac{k_{I}}{k_{E}} - \left(\frac{k_{I}}{k_{E}} - [*M]_{a}^{0}\right) e^{-kEt}.$$

À l'état stationnaire, la concentration de métal dans l'animal est constante, alors l'équation (1) devient égale à 0 et l'expression suivante est trouvée.

(6) 
$$k_{I} \cdot [*M]_{e} = k_{E} [*M]_{a}^{ss}$$

où [\*M]<sub>a</sub><sup>ss</sup> est la concentration de métal dans l'animal à l'état stationnaire. En isolant [\*M]<sub>a</sub><sup>ss</sup> de cette équation, on obtient:

(7) 
$$[*M]_a^{ss} = \frac{k_I}{k_E}.$$

Un facteur de bioconcentration des radioisotopes (F.B.\*) peut aussi être calculé à partir de ces données en divisant la concentration à l'état stationnaire trouvée avec l'équation (7) ci-dessus par la concentration à l'état stationnaire des contenus intestinaux:

(8) 
$$F.B.^* = \frac{[*M]_a^{ss}}{[*M]_{Cl}^{ss}}$$

où  $[*M]_{Cl}^{ss}$  est la concentration des radioisotopes dans les contenus intestinaux à l'état stationnaire.

L'ensemble de ces valeurs ainsi que celles de facteurs de bioconcentration calculés à partir de données récupérées sur le terrain (F.B.) sont montrées au Tableau 6.I.

Pour les deux espèces, l'entrée de <sup>65</sup>Zn telle que décrite par k'<sub>I</sub> (Tableau 6.I) est plus rapide dans les tubes digestifs que dans le corps. Le <sup>65</sup>Zn entre près de dix fois plus vite dans les corps de l'espèce 1 que dans ceux de l'espèce 2, moins de quatre fois plus vite dans les tubes digestifs et six fois plus vite dans les animaux complets comparativement à ceux de l'espèce 2. Le zinc mettrait plus de temps à dépurer chez l'espèce 1 que chez l'espèce 2 ( $k_E$ , Tab. 6.I). Aucune différence importante n'a été mise en évidence quant au cadmium probablement à cause de la faible accumulation et de la grande variabilité. Le temps de demi-vie

Tableau 6.1: Valeurs calculées (moy  $\pm$  é.t.) des variables utilisées par le modèle de dynamique d'échange du <sup>109</sup>Cd et du <sup>65</sup>Zn pour des larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. F.B.\* et F.B. sont respectivement les facteurs de bioconcentration de l'expérience et du terrain.

Variable	Symbole			Ç∕	DMIC	JM							ZINC				
(Unite)		Corps sp-1	sp-2	Intestin sp-1	sp-2	Sang sp-1	sp-2	Total sp-1	sp-2	Corps sp-1	sp-2	Intestin sp-1	sp-2	Sang sp-1	sp-2	Total sp-1	sp-2
Constante apparente du taux d'entrée <sup>a</sup> (jour <sup>-1</sup> )	<u>_x</u>		•	0.37 ±0.31	0.21 ±0.11	.	.	0.146 ±0.127	0.084 ±0.070	3.38	0.35	10.54	3.02	1.53 ±0.35	0.46 ±0.07	3.91 ±0.54	0.64
Constante du taux de dépuration (DPM·mg <sup>-1</sup> ·jour <sup>-1</sup> )	κ <sub>e</sub>	0.048 ±0.023	0.154 ±0.090	0.108 ±0.110	0.016 ±0.011	0.025 ±0.004	0.097 ±0.129	0.058 ±0.052	0.032 ±0.022	0.041 ±0,032	0.055 ±0.023	0.11 ±0.05	0.19 ±0.09	0,44 ±0.23		0.053 ±0.034	0.126 ±0.05
Temps de demi-vie biologique (jour)	s. S	14.3	4.5	6.4	42.4		•	11.9	22.0	14.9	12.7	6.6	3.7	1.6		13.2	5.5
Concentration à l'état stationnaire (DPM <sup>.</sup> mg <sup>-1</sup> .jour <sup>.1</sup> )	k' <sub>i</sub> ⁄k <sub>E</sub>	9		3.4	9.1	್ಕ	-	2.51	2.7	72.4	6.3	100.8	16.0	3.5	•	74.3	5.1
Facteur de bioconcentration de l'expérience	F.B.*	e.	2	0.48	1.79	10	8	0.35	0.37	0.27	0.02	0.38	0.06	0.01		0.28	0.02
Facteur de bioconcentration du terrain <sup>e</sup>	F.B.	0.01	0.06	0.2	7.5	0.05	0.10	0.09	1.79	0.25	0.70	0.29	0.44	0.26		0.22	0.56
a: Les valeurs d 12 et 24 pour le n'est associé au b: Les données : c: Données corr	e k' <sub>1</sub> se référar s intestins. Les s valeurs se raj supérieures à 1 igées pour les	nt au cadh s valeurs pportant a valeurs quantité	mium on pour le z à une seu du jours es adsort	t ćté calc inc sont ile date d o de déj écs à la s	ulées à p calculées l'échantill puration : surface di	artir des à partir ( lonnage, ainsi que u corp. L	données d'une (jou Dans la J les donn les donn es tissus	des jours ur 2) ou o plupart d lées où le et les co	s d'échanti deux (jour es cas, les es métaux ntenus int	llonnage 2 s 2 et 7) da métaux sc sont indéte estinaux o	et 7 pou ates d'éch int indéte octables c int été ré	r les ani nantillon ectables a ont été ex coltés le	maux co nage. Au vant 2 jc clus du c 19 févric	mplets e cun écar ours. calcul de calcul de	tt 2, 7, rt-type s k <sub>E</sub> , 2 juin		

1991 respectivement.

91

 $(t_{1/2}, Tab. 6.I)$  nous indique que ce dernier métal demeurerait en général plus longtemps que le zinc dans les tissus de l'espèce 2.

Dans un cadre plus large, les métaux sont séquestrés en plus grande concentration dans certains tissus du corps de larves d'insectes plutôt que d'autres (Hare et al, 1991; Krantzberg et Stokes 1990). Plus précisément, Seidman et al. (1986a) ont montré que le Cd est accumulé dans le mésentéron postérieur des larves de *Chironomus thummi*. Le zinc serait distribué également parmi les parties du corps (Hare et Campbell 1992). La dynamique d'échange varierait alors selon: 1- le métal en question (Hare et al. 1991; Timmermans et al. 1992); 2- le tissus (Hare et al. 1991) et 3- le mode alimentaire (Timmermans et al. 1992).

Les écarts entre les espèces au niveau de la concentration de radioisotopes à l'état stationnaire ne sont pas ceux attendus d'après les mesures de métaux froids (Tableau 3.II). En effet, la concentration totale de <sup>109</sup>Cd dans l'espèce 2 n'est que légèrement supérieure à celle de l'espèce 1; celle de <sup>65</sup>Zn est plus de dix fois plus petite pour l'espèce 2 que pour l'espèce 1. Les facteurs de bioconcentration sont de même ordre de grandeur pour cette expérience que ceux calculés à partir de valeurs obtenues sur le terrain pour l'espèce 1 sauf pour le zinc dans le sang et le cadmium dans l'organisme entier. Par contre, ils sont souvent, pour cette expérience en microcosmes, un ou deux ordres de grandeur plus petit dans le cas de l'espèce 2 pour le zinc, et légèrement inférieur pour le cadmium; ceci indique que cette espèce pourrait ne pas accumuler autant de métal dans les microcosmes qu'elle ne le fait sur le terrain.
Ce phénomène peut s'expliquer premièrement par les larves elles-mêmes. On avait noté que l'espèce 2 est plus fragile que l'espèce 1 aux manipulations des individus hors de l'eau où dans l'eau moins oxygénée. Les larves des deux espèces ont pu réagir différemment face aux conditions de l'expérience. Les individus de l'espèce 2 ont pu être affectés au point d'accumuler beaucoup moins de métaux qu'ils ne le feraient en conditions naturelles.

D'autre part, l'espèce 2 semblerait au moins partiellement filtreuse (profil du taux de passage) et voit la quantité de métal associée aux particules en suspension diminuer quelques jours après le début de l'expérience, contribuant peut-être à un plafonnement prématuré des concentrations de métal dans ces tissus (Fig. 6.1). Aucune donnée n'a été récoltée du terrain sur les quantités de métal sorbées sur les particules en suspension près de l'interface eau-sédiments afin de comparer ces résultats.

Aussi, par le mélange des sédiments dans la préparation des microcosmes, la qualité de la nourriture pour l'espèce 2 a probablement changé puisqu'elle s'alimenterait, dans le milieu, au moins en partie de sédiments de surface "fraîchement" déposés ou encore de particules en voie de sédimentation donc relativement riches en matière organique. L'espèce 1 ne verrait aucune différence dans la qualité de sa nourriture dans les microcosmes puisqu'elle se nourrirait en profondeur. Finalement, ce type d'approche en microcosmes décrirait mieux le cas des espèces fouisseuses comme *Hexagenia rigida* (Hare et al. 1991b) ou l'espèce 1 de cette expérience que des espèces filtreuses comme le serait l'espèce 2. L'utilisation du modèle de cinétique de premier ordre a permis de caractériser les échanges de Cd et de Zn dans les différents tissus des deux espèces. Cependant, l'utilisation de microcosmes n'a pas permis de mettre en évidence les différences de concentrations de Cd et de Zn observées en nature pour les deux espèces. Le mode alimentaire de chacune des espèces permet d'expliquer en partie le phénomène, quoi que le manque de certitude envers ce paramètre devient encore ici un facteur limitant vis-à-vis l'étude de la gestion des métaux par les organismes benthiques. Il devrait être pris en considération dans de telle études.

La dynamique d'échange mesurée par cette expérience est difficilement comparable avec d'autres études publiées impliquant des larves d'insectes puisque celles-ci ont été faites soit à d'autres températures (20°C: *Hexagenia rigida*, Hare et al. 1991; 21, 26, 31 et 35°C: *Glyptotendipes paripes*, 20, 23, 26 et 29°C: *Chironomus plumosus*, Harvey 1971) ou à concentrations croissantes des métaux dans les sédiments (Timmermans 1991: *Chironomus riparius* et Timmermans et al. 1992: *Mystacides* sp.). Par contre, Harvey conclut que la température de l'eau influence le développement des larves mais n'a pas d'influence majeure sur l'accumulation des radioisotopes pour deux espèces de Chironomides.

Par ailleurs Hare et al. (1991b) avaient aussi comparé des facteurs de bioconcentration obtenus à partir de l'équation (8) avec ceux obtenus d'organismes (*Hexagenia rigida*) récoltés sur le terrain. Tout comme dans le cas présent, les facteurs de bioconcentration des radioisotopes montraient des valeurs plus petites que celles du terrain. Ces divergences pourraient être expliquées par un stress chez les larves résultant en une plus faible accumulation (résultats de tissus en non-équilibre avec le milieu après 191 jours). Les facteurs de bioconcentration plus

petits dans cette expérience pourraient aussi être expliqués par une concentration de métaux biodisponibles plus grande dans la nourriture des microcosmes que dans le milieu naturel. Ce n'est probablement pas le cas puisque la période de mise en contact des sédiments et des radioisotopes était de dix mois dans l'expérience de Hare et al. (1991) et que la plupart des métaux n'avaient pas eu assez de temps pour s'associer aux formes les moins labiles.

Finalement, un soin particulier devrait être porté à la fraction disponible des métaux du milieu en fonction du mode alimentaire des organismes non seulement dans le calcul des facteurs de bioconcentration mais dans les études de transfert des métaux dans la chaîne alimentaire (Luoma et al. 1992).

Le fait que les résultats tirés du terrain ne soient pas en accord avec ceux recueillis du laboratoire nous montrent jusqu'à quel point la compréhension des facteurs influençant la bioaccumulation chez les invertébrés benthiques est réduite et nécessite plus d'étude tant au point de vue de l'écologie des espèces que de la spéciation des métaux dans les sédiments si on veut utiliser ces organismes comme indicateurs. Il nous montre aussi l'importance de l'appui des résultats pris sur le terain pour renforcer les arguments montés à partir de données de laboratoire.



Figure 6.1: Concentrations (moy.  $\pm$  é.-t.) de radioisotopes de Cd et de Zn en fonction du temps des filtres et de l'eau surnageante filtrée des microcosmes. L'eau avait été ajoutée dans les microcosmes huit jours avant l'introduction des larves.



Figure 6.2: Profils des concentrations de <sup>109</sup>Cd et <sup>65</sup>Zn dans l'eau interticielle en fonction de la profondeur dans les microcosmes. Les trois dialyseurs ( $-\Delta$ ,  $-\bigcirc$ ,  $-\bigcirc$ ) sont demeurés dans les sédiments pendant 12 jours à partir du jour 35 de l'expérience d'accumulation.



Figure 6.3: Sorption de <sup>109</sup>Cd et de <sup>65</sup>Zn à la surface du corps des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. à 13°C: quantité brutes de radioisotopes sorbé par individu (DPM par individu) et pourcentage de la quantité totale de radioisotope associé aux larves qui est présent sous forme sorbé à la surface. Les larves ont été en contact avec les sédiments radioactifs pendant 191 jours.



Figure 6.4: Concentration (DPM  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> poids sec) de <sup>109</sup>Cd et <sup>65</sup>Zn (moy  $\pm$  é.t., n=4, 3 au jour 191) en fonction du temps des contenus intestinaux de larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. maintenues dans des sédiments radioactifs pendant 191 jours à 13°C.



Figure 6.5 a): Quantités (DPM par individu) et concentrations (DPM  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> poids sec) de <sup>109</sup>Cd (moy  $\pm$  é.t., n=4, 3 au jour 191) dans les corps, les tissus des tubes digestifs vidés et le sang des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues pendant 191 jours à 13°C dans des sédiments radioactifs. Les courbes se référant aux concentrations dans les tubes digestifs et les animaux complets ont été générées de l'éq.5. à partir des valeurs de k<sub>E</sub> calculées des données des jours 0-32 dans le cas des animaux complets et des jours 0-15 pour les tubes digestifs.



Figure 6.5 b): Quantité (DPM par individu) et concentrations (DPM  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> poids sec) de <sup>65</sup>Zn (moy  $\pm$  é.t., n=4, 3 au jour 191) dans les corps, les tissus des tubes digestifs vidés et le sang des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues pendant 191 jours à 13°C dans des sédiments radioactifs. Les courbes se référant aux concentrations ont été générées de l'éq.5 à partir des valeurs de k<sub>E</sub> calculées des données des jours 0-32 dans le cas des corps, des tubes digestifs et des animaux complets et des jours (0-8) pour le sang de l'espèce 1.



Figure 6.6: Répartition du poids (moy., n=4, 3 au jour 191) parmi trois composantes du corps de larves de quatrième stade de deux espèces du genre *Chironomus* spp. en fonction du temps pendant l'expérience d'accumulation.



Figure 6.7: Variation du rapport entre la quantité de  $^{109}$ Cd et de  $^{65}$ Zn (moy  $\pm$  é.t., n=4, 3 au jour 191) mesurée dans les tubes digestifs et celle du corps en fonction du temps pour des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues pendant 191 jours à 13°C dans des sediments marqués.



## Dépuration-Cd

Figure 6.8 a): Dépuration de <sup>109</sup>Cd (quantité: DPM par individu et concentration: DPM  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> poids sec, moy  $\pm$  é.t., n=4) du corps, du tissus des tubes digestifs, du sang et des animaux complets des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues à 13°C pendant 64 jours dans des sédiments non-marqués. Les larves avaient préalablement été maintenues dans des sediments marqués pendant 66 jours. Les courbes se référant aux concentrations des tubes digestifs et des animaux complets ont été générées de l'éq.(2) selon les valeurs de k<sub>E</sub> calculé à partir des données des jours 0-32 dans le cas des animaux complets et des jours 0-15 pour les tubes digestifs.



## Dépuration-Zn

Figure 6.8 b): Dépuration de  $^{65}$ Zn (quantité: DPM par individu et concentration: DPM  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> poids sec, moy  $\pm$  é.t., n=4) du corps, du tissus des tubes digestifs, du sang et des animaux complets des larves de quatrième stade de deux espèces de *Chironomus* spp. maintenues à 13°C pendant 64 jours dans des sédiments non-marqués. Les larves avaient préalablement été maintenues dans des sedments marqués pendant 66 jours. Les courbes se référant aux concentrations ont été générées de l'éq.(2) selon les valeurs de k<sub>E</sub> calculées à partir des données des jours 0-32 dans le cas des corps, des tubes digestifs et des animaux complets et des jours 0-8 pour le sang de l'espèce 1.



## CONCLUSIONS

Les deux espèces du genre *Chironomus* spp. vivent en sympatrie mais présentent des concentrations différentes en cadmium et en zinc. Leurs concentrations de cuivre sont semblables. Malgré leurs ressemblances (écologiques, morphologiques, physiologiques...), il existe une ou plusieures divergence(s) au niveau de leurs niches écologiques qui soit(ent) en mesure d'expliquer les concentrations de métaux traces.

La description des espèces donnée au chapitre 2 a permis de les différencier de façon très claire. Les distinctions se situent au niveau des tubuli latéraux, de la pigmentation de la capsule céphalique, de la longueur totale, du poids, des dents mandibulaires et des plaques paralabiales. De surcroît, les caractères énumérés étant fréquemment utilisés dans les clés d'identification de ce genre, ils pourront être réutilisés ultérieurement pour identifier les larves. Pour l'instant, un certain nombre de nom d'espèces tirés de clés assez complètes d'espèces européennes et d'une clé peu élaborée d'espèces nord-américaines sont suggérés.

Les écarts de concentrations entre les espèces semblent constants au cours de l'année et aucun patron de variations temporelles n'a été observé (sauf pour le cuivre pour une des deux espèces). Dans le but d'éliminer la variation inter-espèce lors d'étude de bioindicateurs impliquant ces espèces sans les différencier, le niveau taxonomique à utiliser serait le plus simple i.e. l'espèce.

La distribution des métaux dans le corps suggère que le cadmium et le cuivre entrent dans le corps par le tube digestif via la nourriture. Le cadmium étant non-essentiel, rencontrerait certaines difficultés à passer dans d'autres tissus que celui du tube digestif. Le cuivre rencontrerait aussi certaines limitations au niveau du tube digestif malgré qu'il soit essentiel. Cependant, la répartition du zinc, lui aussi essentiel, ne suggère aucune voie d'entrée. Cet élément est probablement d'avantage sujet à un contrôle cellulaire.

Trois points de discussion ont été avancés pour potentiellement expliquer les écarts de concentrations de métaux énoncés plus haut, entre les deux espèces. Celui du cycle de vie n'est probablement pas en mesure de l'expliquer, malgré l'observation de quelques différences au niveau de la saison de développement. Le mode alimentaire représente l'hypothèse la plus plausible pour expliquer les divergences de teneurs en métaux lourds existant entre les espèces. L'une d'entre elles rencontre fort possiblement des conditions anoxiques plus fréquemment que l'autre dans le milieu où elle se nourrit. Enfin, les résultats de la dynamique des métaux ne respectent pas le rapport des concentrations observées en milieu naturel. Les conditions présentes dans les microcosmes n'étaient probablement pas représentatives de celles du site d'échantillonnage malgré l'ensemble des facteurs que cette expérience a pris en considération et met en évidence le peu de connaissance que nous avons des facteurs biotiques et abiotiques influençant la bioaccumulation des métaux traces par les animaux benthiques

En conclusion, cette étude permet d'énumérer trois recommandations pour l'utilisation de bioindicateurs, la première étant le niveau taxonomique employé. Puisqu'il est possible de rencontrer des espèces sympatriques contenant des concentrations différentes en metaux traces (surtout pour le cadmium), une attention particulière devrait être portée aux espèces impliquées en fonction de la précision de la réponse attendue. Deuxièmement, le mode alimentaire aussi devrait être étudié en detail avant de les utiliser comme indicateurs puisque les concentrations totales de métaux sont probablement fonction de ces activités. Ils devrait aussi être étudiés dans le but de connaître la source des métaux bioaccumulés: 1- pour déterminer la proportion d'un élément trace bioaccumulé venant de l'eau ou de la nourriture; ou encore 2- pour connaître à quelle fraction des sédiments ou des particules en suspension est-ce qu'il faut relier les concentrations des animaux afin d'obtenir de bonnes corrélations entre ces composantes. Finalement, une étude de bioindicateurs où l'utilisation de sédiment est essentielle devrait tenir compte des quantités de métaux disponibles dans les différentes fractions des sédiments afin qu'elles soient représentatives de celle du milieu. Elles sont variables entre autres selon l'état d'oxydation des sédiments amenant possiblement un biais dans l'estimation des concentrations de métaux traces bioaccumulés en laboratoire.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- ACTON, A. B., 1955, "Larval groups in the subgenus Chironomus Meigen" Arch. f. Hydrobiol., 50(1), 64-75.
- ACTON, A. B., 1956, "The identification and distribution of the larvae of some species of *Chironomus* (Diptera)", <u>Proc. R. Ent. Soc. Lond.</u>, (A) 31, 161-164.
- ACTON, A. B., SCUDDER, G. G. E. 1971, "The zoogeography and races of *Chironomus* (= *Tendipes*) *tentans* Fab." Limnologica (Berlin), 8(1), 83-92.
- ALI, A., 1990, "Seasonal changes of larval food and feeding of *Chironomus* crassicaudatus (Diptera: Chironomidae) in a sub tropical lake", <u>J. Am.</u> <u>Mosq. Control Assoc.</u>, 6(1), 84-88.
- AOKI, Y., HATAKEYAMA, S., KOBAYASHI, N., SUMI, Y., SUZUKI, T., SUZUKI, K. T., 1989, "Comparison of cadmium-binding protein induction among mayfly larvae of heavy metal resistant (*Baetis thermicus*) and susceptible species (*B. yoshinensis* and *B. sahoensis*)", <u>Comp. Biochem.</u> Physiol., 93C(2), 345-347.
- BENDELL-YOUNG, L., HARVEY, H. H., 1988, "Metals in *Chironomidae* larvae and adults in relation to lake pH and lake oxygen deficiency", <u>Verh. Internat.</u> <u>Verein. Limnol.</u>, 23, 246-251.
- BENDELL-YOUNG, L., HARVEY, H. H., 1989, "Concentrations and distribution of Fe, Zn, and Cu in tisues of the white sucker (*Catastomus commersoni*) in relation to elevated levels of metals and low pH", <u>Hydrobiol.</u>, 176/177, 349-354.
- BENDELL-YOUNG, L., HARVEY, H. H., 1991, "Metal concentrations in Chironomids in relation to the geochemical cahracteristics of surficial sediments", <u>Arch. Environ. Contam. Toxicol.</u>, 21, 202-211.
- BERG, A. R., WEISS, G. M., 1975, "Le transfert de Zinc-65 de sédiments à des larves de chironomides et à un poisson d'eau douce et l'effet du cadmium sur ce transfert", dans <u>Impact of Nuclear Energy Releases into the Aquatic</u> <u>Environment</u>, Vienne, Autriche: Int. Atomic Energy Agency, 1975, 121-132.
- BOYDEN, C. R., 1977, "Effect of size upon metal content of shellfish", J. Mar. Ass. U. K., 57, 675-714.

- BURTT, E. T., 1940, "A filter-feeding mechanism in a larva of the *Chironomidae* (Diptera: Nematocera)", Proc. R. Ent. Soc. Lond. A, 15, 113-123.
- BUTLER, M. G., 1982, "A 7- year life cycle for two *Chironomus* species in arctic Alaskan tundra ponds (Diptera: Chironomidae)", <u>Can. J. Zool.</u>, 60, 58-70.
- BUTLER, M. G., ANDERSON, D. A., 1990, "Cohort structure, biomass, and production of a merovoltine *Chironomus* population in a Wisconsin bog lake", J. N. Am. Benthol. Soc., 9(2), 180-192.
- BUTLER, P. A., ANDRÉN, L., BONDE, G. J., JERNELOV, A., REISH, D. J., 1971, "Monitoring organisms", dans: <u>FAO Technical Conference on marine</u> <u>Pollution and its Effects on Living Resourses and Fishing</u>, Suppl. 1: Report of the Seminar on Methods of Detection, Measurement and Monitoring of Pollutants in the marine environment, FAO Fisheries Repoort no. 99, Suppl. 1, 101-120
- CAMPBELL, P. G. C., STOKES, P., 1985, "Acidification and toxicity of metals to aquatic biota", <u>Can. J. Fish. Aquatic Sci.</u>, 42(12), 2034-2049.
- CAMPBELL, P. G. C., TESSIER, A., BISSON, M., BOUGIE, R., 1985, "Accumulation of copper and zinc in the yellow water lily, *Nuphar variegatum*: relationships to metal partitionning in the adjacent lake sediments", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 42(1), 23-32.
- CARIGNAN, R., RAPIN, F., TESSIER, A., 1985, "Sediment porewater sampling for metal analysis: A comparison of techniques", <u>Geochim. Cosmochim. Acta</u>, 49, 2493-2497.
- CHAUDURI, P. K., NANDI, S. K., 1982, "Food and feeding habits of the larvae of *Chironomus* Meigen (Diptera: Chironomidae)", <u>Science and Culture</u>, 48(6), 212-213.
- CLEMENTS, W. H., CHERRY, D. S., CAIRNS, J. Jr, 1990, "Macroinvertebrate community responses to copper in laboratory and field experimental streams", <u>Arch. Environ. Contam. Toxicol.</u>, 19, 361-365.
- CUMMINS, K. W., 1973, "Trophic relations of aquatic insects", <u>Annual Rev.</u> <u>Entomol.</u>, 18, 183-206.
- DARLINGTON, S. T., GOWER, A. M., 1990, "Location of copper in larvae of *Plectrocnemia conspersa* (Curtis) (Trichoptera) exposed to elevated metal concentrations in a mine drainage stream", <u>Hydrobiol.</u>, 196, 91-100.

- DUZZIN, B., PAVONI, B., DONNAZZOLO, R., 1988, "Macroinvertebrate communities and sediments as pollution indicators for heavy metals in the river Adige (Italy)", <u>Wat. Res.</u>, 22(11), 1353-1363.
- FAGERSTRÖM, T. 1977, "Body weight, metabolic rate, and trace substances turnover in animals", <u>Oecologia</u>, 29, 99-104.
- FERRARO, S. P., FAITH, A. C., 1992, "Taxonomic level sufficient for assessing a moderate impact on macrobenthic communities in Puget Sound, Washington, USA", Can. J. Fish. Aquat. Sci., 49, 1184-1188.
- FRENZEL, P., 1990, "The influence of chironomid larvae on sediment oxygen microprofiles", Arch. Hydrobiol., 119(4), 427-437.
- GEIGER, H. J., RYSER, H. M., SCHOLL, A., 1978, "Bestimmungsschlüssel für die larven von 18 Zuckmückenarten des gattung *Chironomus* Meig. (Diptera, Chironomidae)", <u>Mitt. Naturforsch. Ges. Bern.</u>, 89-106.
- GERHARDT, A., 1990, "Effects of subacute doses of cadmium on pH-stressed Leptophlebia marginata (L.) and Baetis rhodani Pictet (Insecta: Ephemeroptera)", Environ. Pollut., 67, 29-42.
- HARE, L., 1993, "Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation and toxicity", <u>Critical Reviews in Toxicology</u>, sous presse.
- HARE, L., CAMPBELL, P. G. C., 1992, "Temporal variations of trace metals in aquatic insects", Freshwater Biol., 27, 13-27.
- HARE, L., TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C., 1991a, "Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 48(8), 1481-1491.
- HARE, L., CAMPBELL, P. G. C., TESSIER, A., BELZILE, N., 1989, "Gut sediments in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to trace element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 46(2), 451-456.
- HARE, L., SAOUTER, E., CAMPBELL, P. G. C., TESSIER, A., RIBEYRE, F., BOUDOU, A., 1991b, "Dynamics of cadmium, lead and zinc exchange between nymphs of the burrowing mayfly Hexagenia rigida (Ephemeroptera) and the environment", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 48(1), 39-47.

- HARVEY, R. S., 1971, "Temperature effects on the maturation of midges (Tendipedidae) and their sorption of radionuclides", <u>Health Physics</u>, 20, 613-616.
- HEINIS, F., TIMMERMANS, K. R., SWAIN, W. R., 1990, Short-term sublethal effects of cadmium on the filter feeding chironomid larva *Glyptotendipes pallens* (Meigen) (Diptera)", <u>Aquatic Toxicol.</u>, 16, 73-86.
- HESSLEIN, R. H., 1976, "An in situ sampler for close interval pore water studies", Limnol. and Oceanogr., 21, 912-914.
- HIRVENOJA, M., MICHAILOVA, P., 1991, "Chironomus melanotus Keyl and its taxonomical and ecological relations to C. riihimakiensis Wülker", Spixinia, 14(3), 309-320.
- JOHANNSSON, O. E., BEAVER, J. L., 1983, "Role of algae in the diet of *Chironomus plumosus* f. *semireductus* from the Bay of Quinte, Lake Ontario", <u>Hydrobiol.</u>, 107, 237-247.
- JOHNSON, R. K., 1984, "Distribution of *Chironomus plumosus* and *C. anthracinus* with respect to sediment parameters in mesotrophic Lake Erken", <u>Verh.</u> Internat. Verein. Limnol., 22, 750-758.
- JOHNSON, R. K., 1987, "Seasonal variation in the diet of *Chironomus plumosus* (L.) and *C. anthracinus* Zett. (Diptera: Chironomidae) in mesothrophic Lake Erken", <u>Freshwater Biol.</u>, 17, 525-532.
- KAJAK, Z., WARDA, J., 1968, "Feeding of benthic non-predatory Chironomidae in lakes", <u>Ann. Zool. Fenn.</u>, 5, 57-64.
- KEENAN, S., ALIKHAN, M. A., 1991, "Comparative study of cadmium and lead accumulations in *Cambarus bartoni* (Fab.) (Decapoda, Crustacea) from an acidic and a neutral lake", <u>Bull. Environ. Contam. Toxicol.</u>, 47, 91-96.
- KHANGAROT, B. S., RAY, P.K., 1989, "Sensitivity of midge larvae of *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera Chironomidae) to heavy metals", <u>Bull. Environ.</u> <u>Contam. Toxicol.</u>, 42, 325-330.
- KIMBALL, K. D., LEVIN, S. A., 1985, "Limitations of laboratory bioassays: the need of ecosystem-level testing", <u>Bioscience</u>, 35, 165-171.

- KLERKS, P. L., LEVINTON, J. S., 1989, "Rapid evolution of metal resistance in a benthic Oligochaete inhabiting a metal-polluted site", <u>Biol. Bull.</u>, 176, 135-141.
- KRANTZBERG, G., 1989, "Metal accumulation by chironomid larvae: the effects of age and body weight on metal body burdens", <u>Hydrobiol.</u>, 188/189, 497-506.
- KRANTZBERG, G., STOKES, P. M., 1988, "The importance of surface adsorption and pH in metal accumulation by chironomids", <u>Environmental Toxicology</u> and <u>Chemistry</u>, 7, 653-670.
- KRANTZBERG, G., STOKES, P. M., 1989, "Metal regulation, tolerance, and body burdens in the larvae of the genus *Chironomus*", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 46, 389-398.
- KRANTZBERG, G., STOKES, P. M., 1990, "Metal concentrations and tissues distribution in larvae of *Chironomus* with reference to X-ray microprobe analysis", <u>Arch. Environ. Contam. Toxicol.</u>, 19, 84-93.
- LEUCHS, H., NEUMANN, D., 1990, "Tube texture, spining and behavior of *Chironomus* larvae", Zool. Jb. Syst., 117, 31-40.
- LEYKO, W., OSMULSKI, P. A., 1985, "Seasonable variability of hemoglobin content and component composition of *Chironomus thummi th.* larvae", Comp. Biochem. Physiol., 80B, 613-618.
- LIKENS, G. E., 1975, "Primary production of inland aquatic ecosystems", dans H. Lieth and R.W. Whitaker (ed.) <u>The primary productivity of the biosphere</u>, New York, Springer-Verlag, 185-202.
- LUOMA, S. N., 1983, "Bioavailability of trace metals to aquatic organisms- a review", <u>Sci. Tot. Environ.</u>, 28, 1-22.
- LUOMA, S. N., JOHNS, C., FISHER, N. S., STEINBERG, N. A., OREMLAND, R. S., REINFELDER, J. R., 1992, "Determination of selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways", <u>Environ. Sci.</u> Technol., 26, 485-491.
- McLACHLAN, A. J., 1977, "Some effects of tube shape on the feeding of *Chironomus plumosus* L. (Diptera: Chironomidae)", <u>J. Anim. Ecol.</u>, 46, 139-146.

- MORTIMER, C. H., 1981, "The oxygen content of air-saturated fresh waters over ranges of temperature and atmospheric pressure of limnological interest", <u>Mitt. Internat. Verein. Limnol.</u>, 22, 1-23.
- NRIAGU, J. O., 1989, "A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals", <u>Nature</u>, 338, 47-49.
- NRIAGU, J. O., PACYMA, J. M., 1988, "Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals", Nature, 333, 134-139.
- PALAWSKI, D. U., HUNN, J. B., CHESTER, D. N., WIEDMEYER, R. H., 1989, "Interactive effects of acidity and aluminum exposure on the life cycle of the midge *Chironomus riparius* (Diptera)", <u>J. Freshwater Ecol.</u>, 5(2), 155-162.
- PASCOE, D., WILLIAMS, K. A., GREEN, D. W., 1989, "Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen effects upon larval development and adult emergence", <u>Hydrobiol.</u>, 175, 109-115.
- PHILLIPS, D. J. H., 1980, "Quantitative aquatic biological indicators: Their use to monitor trace metal and organochlorine pollution", Applied Science Publishers, London, U.K.
- RASMUSSEN, J. B., 1984, "Comparison of gut contents and assimilation efficiency of fourth instar larvae of two coexisting chironomids, *Chironomus riparius* Meigen and *Glyptotendipes paripes* (Edwards)", <u>Can. J. Zool.</u>, 62, 1022-1026.
- RASMUSSEN, J. B., 1985, "Effects of density and microdetritus enrichment on the growth of chironomid larvae in a small pond", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 42, 1418-1422.
- SEIDMAN, L. A., BERGTROM, G., REMSEN, C. C., 1986a, "Structure of the larval midgut of the fly *Chironomus thummi* and its relationship to sites of cadmium sequestration", <u>Tissue & Cell</u>, 18(3), 407-418.
- SEIDMAN, L. A., BERGTROM, G., GINGRICH, D. J., REMSEN, C. C., 1986b, "Accumulation of cadmium by the fourth instar larva of the fly *Chironomus thummi*", <u>Tissue & Cell</u>, 18(3), 395-405.
- SMOCK, L. A., 1983, "The influence of feeding habits on whole-body metal concentrations in aquatic insects", <u>Freshwater Biol.</u>, 13, 301-311.

- STRICKLAND, J. H. D., PARSONS, T.R., 1968, "A practical manual of sea water analysis", <u>Fish. Res. Board Can. Bull.</u>, 167, Queens Printer, Ottawa, Ont.
- STRONG, C. R., LUOMA, S. N., 1981, "Variations in the correlation of body size with concentrations of Cu and Ag in the bivalve Macoma balthica", <u>Can. J.</u> <u>Fish. Aquat. Sci.</u>, 38, 1059-1064.
- SUMI, Y., SUZUKI, T., YAMAMURA, M., HATAKEYAMA, S., SUGAYA, Y., SUZUKI, K. T., 1984, "Histochemical staining of cadmium taken up by the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae)", <u>Comp.</u> <u>Biochem. Physiol.</u>, 79A(3), 353-357.
- TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C., AUCLAIR, J. C., BISSON, M., 1984, "Relationships between the partitionning of trace metals in sediments and their accumulation in the tissues of the freshwater mollusc *Elliptio complanata* in a mining area", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 41(10), 1463-1472.
- TESSIER, A., COUILLARD, Y., CAMPBELL, P. G. C., AUCLAIR, J. C., 1992, "Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and burdens in the freswater bivalve Anodonta grandis (Mollusca, Pelecypoda)", <u>Limnol.</u> <u>Oceanogr.</u>, sous presse.
- TIMMERMANS, K. R., 1991, "Trace metal ecotoxicokinetics of Chironomids", Thèse de doctorat, Université d'Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas, 185p.
- TIMMERMANS, K. R., DAVIDS, C., 1989, "Differences in trace metal concentration in chironomid larvae related to their feeding habits", <u>Acta Biol. Debr. Oecol. Hung.</u>, 3, 361-365.
- TIMMERMANS, K. R., SPIJKERMAN, E., TONKES, M., GOVERS, H., 1992, "Cadmium and zinc uptake by two species of invertebrate predators from dietary and aqueous sources", <u>Can. J. Fish. Aquat. Sci.</u>, 49, 655-662.
- TIMMERMANS, K. R., VAN HATTUM, B., KRAAK, M. H. S., DAVIDS, K., 1989, "Trace metals in a littoral foodweb: concentration in organisms, sediment and water", <u>Sci. Tot. Environ.</u>, 87/88, 477-494.
- TIMMERMANS, K. R., VAN HATTUM, B., PEETERS, W., DAVIDS, K., 1991, "Trace metals in the benthic habitat of the Maarsseveen lakes, the Netherlands", <u>Hydrobiol. Bull.</u>, 24(2), 153-164.
- VAN HATTUM, B., DE VOOGT, P., VAN DEN BOSCH, L., VAN STRAALEN, N. M., JOOSSE, E. N. G., 1989, "Bioaccumulation of cadmium by the

freshwater isopod Asellus aquaticus (L.) from aqueous and dietary sources", Environ. Pollut., 62, 129-151.

- WALSHE, B. M., 1951a, "The function of hemoglobin in relation to filter feeding in leaf-mining chironomid larvae", J. Exp. Biol., 28(1), 57-61.
- WALSHE, B. M., 1951b, "The feeding habits of certain chironomid larvae (subfamily Tendipedinae", Proc. Zool. Soc. Lond., 121, 63-79.
- WEBB, C. J., SCHOLL, A., 1985, "Identification of the larvae of European species of *Chironomus* Meigen (Diptera: Chironomidae) by morphological characters", <u>Syst. Entomol.</u>, 10, 353-372.
- WEBB, C. J., SCHOLL, A., RYSER, H. M., 1985, "Comparative morphology of the larval ventromental plates of european species of *Chironomus* Meigen (Diptera: Chironomidae)", <u>Syst. Entomol.</u>, 10, 373-385.
- WÜLKER, W.F., BUTLER, M.G., 1983, "Kariosystematics and morphology of northern *Chironomus* (Diptera: Chironomidae): Freshwater species with larvae of the *salinarius*-type", <u>Ent. Scan.</u>, 14, 121-136.
- WÜLKER, W.F., 1991, "Chironomus fraternus sp.n. and C. beljaninae sp. n., sympatric sister species of the aberratus group in Fennoscandian reservoirs", Entomol. Fennica, 2, 97-109.
- YAMAMURA, M., SUZUKI, K., HATAKEYAMA, S., KUBOTA, K., 1983, "Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae)", <u>Comp. Biochem.</u> <u>Physiol.</u>, 75C(1), 21-24.
- YAN, N. D., MACKIE, G. L., 1989, "Seasonal paterns in the metal levels of the net plankton of three Canadian Shield lakes", <u>Sci Tot. Environ.</u>, 87/88, 439-461.
- YAN, N. D., STOKES, P. M., 1978, "Phytoplankton in an acidic lake, and its response to experimental alterations of pH.", <u>Environ. Conserv.</u>, 5, 93-100.
- YAN, N. D., MACKIE, G. L., GRAUDS, P., 1990, "Control of cadmium levels in Holopedium gibberum (Crustacea, Cladocera) in Canadian Shield lakes", <u>Environ. Toxicol. and Chem.</u>, 9, 895-908.
- ZAUKE, G.-P., 1982, "Cadmium in Gammaridae (Amphipoda: Crustacea) of the rivers Werra and Weser II: Seasonal variation and correlation to temperature and other environmental variables", <u>Water Res.</u>, 16, 785-792.

ZEBE, E., 1991, "In vivo-studies on the function of hemoglobin in the larvae of Chironomus thummi (Insecta, Diptera)", Comp. Biochem. Physiol., 99A, 525-529.

