

Université du Québec
INRS-Eau

**IMPORTANCE RELATIVE DE L'EAU ET DE LA NOURRITURE
COMME SOURCE DE CADMIUM CHEZ LA LARVE DE L'INSECTE *SIALIS*
VELATA (MEGALOPTERA)**

Par
Isabelle Roy
(B.Sc. Biologie)

Mémoire présenté
pour l'obtention
du grade de Maîtrise ès sciences (M.Sc.)

Jury d'évaluation

Examineur externe

Uwe Borgmann
Environnement Canada
National Water Research Institute

Examineur interne

André Tessier
INRS-Eau

Directeur de recherche

Landis Hare
INRS-Eau

Décembre 1998

La nature est un temple où de vivants piliers
Laisent parfois sortir de confuses paroles;
L'homme y passe à travers des forêts de symboles
Qui l'observent avec des regards familiers

Comme de longs échos qui de loin se confondent
Dans une ténébreuse et profonde unité,
Vaste comme la nuit et comme la clarté,
Les parfums, les couleurs et les sons se répondent.

Il est des parfums frais comme des chairs d'enfants,
Doux comme les hautbois, verts comme les prairies,
- Et d'autres, corrompus, riches et triomphants,

Ayant l'expansion des choses infinies,
Comme l'ambre, le musc, le benjoin et l'encens
Qui chantent les transports de l'esprit et des sens.

Correspondances (Beaudelaire)

AVANT PROPOS

Ce mémoire de type « par article » se compose de deux parties. La première partie est constituée d'une brève introduction au domaine de l'écotoxicologie aquatique et des objectifs de recherche de mon projet de maîtrise. La deuxième partie se compose des deux articles qui ont été écrit dans le cadre de la maîtrise, l'un publié dans *Entomological News* et l'autre soumis au *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Voici une description de la contribution des auteurs des articles au projet de maîtrise:

Isabelle Roy

- Planification des expériences
- Réalisation des expériences
- Rédaction initiale des articles

Landis Hare

- Conception du projet
- Planification des expériences
- Correction finale des articles

REMERCIEMENTS

Ma première pensée va à mon directeur de recherche qui, par sa disponibilité, ses conseils et son sens de l'humour, m'a beaucoup aidé durant ma maîtrise. Je le remercie également de m'avoir introduit au merveilleux monde des insectes aquatiques.

Ma seconde pensée va à tous ceux qui m'ont aidé, tant sur le terrain qu'au laboratoire. Je pense à Lise Rancourt, René Rodrigue, Jean-Philippe Baillargeon et Brigitte Patry. Sans eux, mon projet n'aurait jamais pu aboutir. Gros merci surtout à Marie-Renée, autant pour ses conseils techniques que son support moral. Un deuxième gros merci à André Tessier qui a bien voulu corriger mon deuxième article et y a apporté une grande aide.

Ma dernière pensée va à mes trois mousquetaires préférés: Stéphane, Derby et Ella. Le premier pour son support moral et pour avoir enduré mes longs séjours au laboratoire, mes problèmes d'ordinateur et mon humeur. Aux deux autres pour leur effet zoothérapeutique.

Ce projet de recherche a été rendu possible grâce aux supports financiers du Fond pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie du Canada, du CNTC Mite Research Network et de l'U.S. Environmental Protection Agency.

RÉSUMÉ

Le cadmium (Cd) est considéré comme un métal potentiellement dangereux pour les organismes qui y sont exposés. Des industries ont contribué, au cours des années, à relarguer de grandes quantités de ce métal dans l'environnement. Dans les écosystèmes aquatiques, une bonne façon de déterminer le niveau de contamination en Cd est l'utilisation d'organismes comme biomoniteurs. Les modèles de «biomonitoring» doivent reposer sur des faits biologiques et chimiques (i.e. qu'ils ont une base théorique). L'eau et la nourriture étant les deux voies d'accumulation du Cd chez les animaux aquatiques, pour mieux comprendre le phénomène de bioaccumulation, il est donc important de savoir quelle est la source principale de Cd pour ce prédateur, soit l'eau ou la nourriture.

Dans le cadre de mes expériences, l'exposition des larves de *S. velata* à ces deux sources, séparément, a permis d'identifier la nourriture comme la voie principale d'accumulation du Cd. De plus, il a été remarqué que le site d'accumulation de Cd dans l'organisme était différent selon la source de métal; le Cd se trouvait principalement dans le tractus chez les larves exposées à de la nourriture contaminée et dans le corps chez les larves exposées au Cd dans l'eau contaminée. L'efficacité avec laquelle les larves de *Sialis* ont assimilé le Cd de leurs proies est approximativement de 50% et est similaire à ce que l'on mentionne dans la littérature pour d'autres prédateurs, comme des mites d'eau et certains crustacés.

Ces résultats indiquent donc l'importance de considérer la nourriture comme source de cadmium dans les modèles de bioaccumulation; ils soulèvent aussi le fait que l'étude des mouvements du Cd dans une chaîne trophique en milieu aquatique ne doit pas être uniquement basée sur l'eau comme source de Cd pour les animaux lorsque l'on veut étudier la bioaccumulation de métal en laboratoire.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
AVANT-PROPOS.....	iii
REMERCIEMENTS.....	iv
RÉSUMÉ.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Les métaux traces chez les organismes aquatiques.....	1
1.2 Le cadmium.....	2
1.3 Les biomoniteurs des métaux traces.....	3
1.4 L'insecte <i>Sialis</i>	4
1.5 Sources de métaux pour les animaux aquatiques.....	6
2. OBJECTIFS.....	9
3. MÉTHODES.....	11
4. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	13
5. PERSPECTIVES.....	15
6. BIBLIOGRAPHIE.....	17
Annexe 1 Relative importance of food... <i>Sialis velata</i> (Megaloptera).....	21
Annexe 2 Eastward extension range...as a contaminant monitor.....	47

LISTE DES FIGURES

	Page
FIGURE 1: Impact sur la santé des métaux non-essentiels et essentiels.....	1
FIGURE 2: Métallothionéine.....	2
FIGURE 3: <i>Sialis</i> sp.: larve, pupe et adulte.....	4
FIGURE 4: Distribution de <i>S. velata</i> en Amérique du Nord.....	5
FIGURE 5a: Comparaison de l'accumulation de Cd en fonction de la source (eau ou nourriture) chez des larves de <i>S. velata</i>	13
FIGURE 5b: Relation entre la concentration de Cd accumulée chez le prédateur et la concentration de Cd totale chez les proies consommées.....	13
FIGURE 6: Distribution du Cd en fonction de la source (eau ou nourriture) chez <i>S. velata</i>	14

1. INTRODUCTION

1.1 Les métaux traces chez les organismes aquatiques

Les métaux peuvent être classés en deux catégories: essentiels (ex. Cu, Zn) et non essentiels (ex. Cd, Pb). Les métaux essentiels permettent à un organisme de subvenir à ses besoins métaboliques et à sa croissance [Chapman et al. 1996]. Les concentrations dans l'organisme de ces métaux sont généralement sous contrôle homéostatique. Autant un surplus qu'un manque de métal peuvent avoir des effets nocifs pour la santé (figure 1). L'excès de métal peut être soit activement excrété soit immobilisé métaboliquement [Chapman et al. 1996].

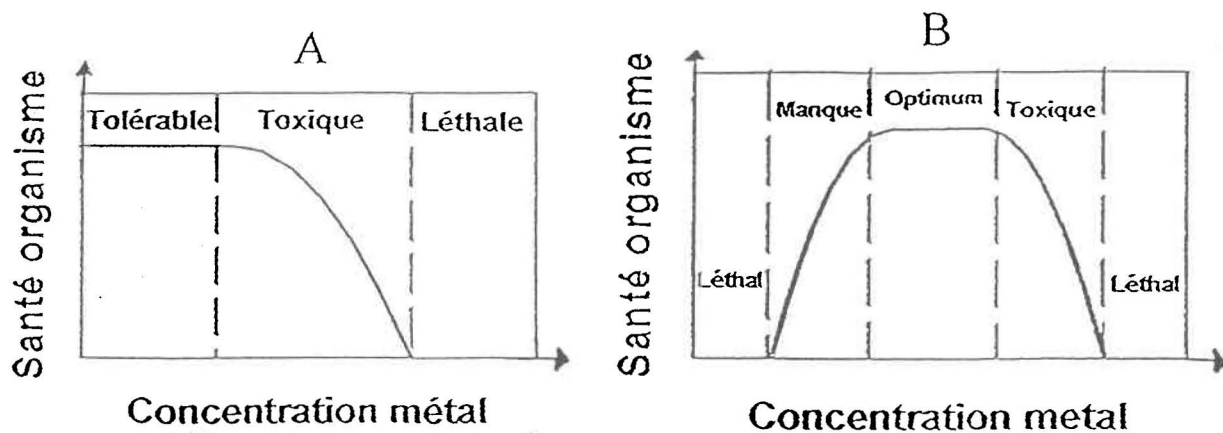


Figure 1. Impact sur la santé des organismes en fonction de la concentration des métaux non-essentiels (A) et essentiels (B). Modifié de Chapman et al. [1996].

L'entrée des métaux essentiels peut se faire via des protéines de transport (ex. Cu et Zn), des pompes à ions (ex. Ca) ou encore par endocytose (ex. Fe). L'entrée des métaux non-essentiels peut s'effectuer par les mêmes chemins que les métaux essentiels (i.e. pynocytose pour le Pb et canaux calciques pour le Cd) [Simkiss & Taylor 1995].

Dans les cellules, l'excès des métaux peut être lié soit à des protéines (e.g. métallothionéines) ou être séquestré dans des granules [Roesijadi & Robinson 1994]. Lorsque les concentrations de métal sont au-dessus d'un certain seuil, les mécanismes de liaison et d'excrétion sont dépassés et l'organisme peut subir des effets toxiques (figure 1). Les métallothionéines sont des protéines de faible poids moléculaires qui sont composées de plusieurs acides aminés riches en soufre (figure 2). Elles jouent un rôle dans la régulation

2 Importance relative de l'eau et de nourriture comme source de Cd pour *Sialis velata*

des métaux essentiels (ex. Cu et Zn) et dans la détoxification des métaux non-essentiels comme le Cd [Roesijadi & Robinson 1994]. La présence de métallothionéines chez les insectes aquatiques, a été vérifiée chez *Chironomus* (Diptera), *Baetis* (Ephemeroptera) et *Eusthenia* (Plecoptera) [Hare 1992].

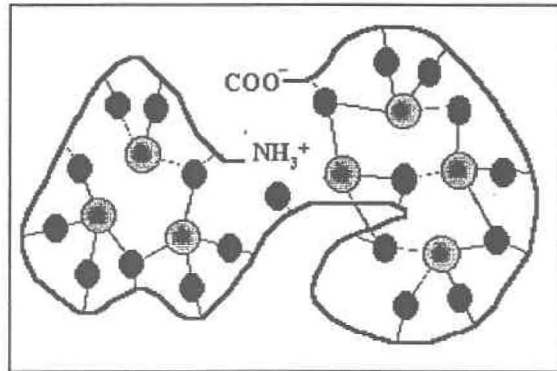


Figure 2. Schéma d'une métallothionéine avec ses acides aminés sulfureux (rond noirs) liant des molécules de métal (rond gris). Gracieuseté de Laurie H.M. Chan, McGill.

Les granules dans lesquels sont séquestrés les métaux sont généralement associés aux tissus digestif et excrétoire des invertébrés [Roesijadi & Robinson 1994]. Chez les insectes aquatiques, des granules ont été trouvés dans les tubules de Malpighie qui constituent le système excrétoire [Hare 1992]. Le métal lié à ces granules peut être soit éliminé vers l'extérieur ou gardé indéfiniment dans l'organisme.

1.2 Le cadmium

Le Cd est un élément considéré comme non essentiel (i.e. n'entre dans aucun processus biologique) [Wright & Welbourn 1994]. Il est en septième position dans la liste des métaux les plus à risque pour l'homme au *US Department of Health and Human Services* [Chan 1997] et il est classé 5e au Canada sur la liste des substances d'intérêt prioritaire (LSP1) [Environnement Canada 1995]. Il peut causer chez l'homme des pathologies aux reins et aux os (maladie de Itai itai) et le cancer [Chan 1997]. Chez les animaux de laboratoire, il réduit la croissance, perturbe plusieurs organes (reins, foie, coeur, poumons et intestin) et affecte les systèmes immunitaire, osseux et nerveux [Environnement Canada 1995].

Les sources naturelles de Cd sont les feux de forêt, les activités volcaniques et l'altération et l'érosion des sols. Les sources anthropogéniques de Cd sont principalement la combustion de l'essence, l'industrie minière (production pyrométallurgique de métal non-ferreux) et les piles au Cd [Nriagu & Pacyna 1988]. Les apports naturels correspondent à environ 20% (1300 tonnes par année) du Cd total relâché dans l'atmosphère [Malley 1996]. Les milieux aquatiques sont des réservoirs importants de Cd où les organismes benthiques et pélagiques peuvent l'accumuler [Hare & Tessier 1996; Luoma 1983].

1.3 Les biomoniteurs des métaux traces

Il est possible de mesurer le niveau de contamination en Cd dans les écosystèmes aquatiques avec des analyses d'eau, de sédiment et du biota. Le dosage du Cd dans l'eau peut être difficile car les concentrations rencontrées sont souvent en quantité trace (ex. $< 10^{-9}$ M). Les dangers de contamination des échantillons lors de l'échantillonnage et de l'analyse sont plus grands si les concentrations mesurées sont faibles [Phillips & Rainbow 1993]. De plus, ce n'est pas tout le métal dissous qui est assimilable par les organismes. C'est le même problème en ce qui concerne les sédiments [Phillips & Rainbow 1993]. Bien que la majorité des métaux traces dans les écosystèmes aquatiques peuvent se retrouver associés aux sédiments [Sigg 1994], la majeure partie de ces métaux sédimentaires est liée à divers ligands [Tessier et al. 1993] et de ce fait, non disponible pour les organismes.

Il y a donc un net avantage à utiliser les organismes eux-mêmes comme biomoniteurs. Pour être de bons biomoniteurs, les organismes choisis doivent posséder certaines qualités [Phillips & Rainbow 1993] dont:

- i) Etre abondants dans le milieu étudié.
- ii) Etre retrouvés dans une vaste gamme de conditions physico-chimiques.
- iii) Ils doivent être faciles à capturer.
- iv) Etre de bonne taille pour fournir assez de tissus pour les analyses.

- v) Une relation doit exister entre la concentration du métal dans le milieu et la concentration du métal dans l'organisme choisi.

1.4 L'insecte *Sialis*

Nous nous sommes intéressés à l'insecte aquatique *Sialis* comme biomoniteur du Cd dans les lacs car ces larves ont la plupart des caractéristiques pour être biomoniteurs (section 1.3). Le genre *Sialis* fait partie de la famille des Sialidae, de l'ordre des Mégaloptera. On retrouve 36 espèces répertoriées dans le monde dont 24 en Amérique du Nord [Elliott 1996a; Whiting 1991]. Ce sont des organismes holométaboles (i.e. dont le cycle de vie comporte 3 étapes: larve, pupa et adulte) (Figure 3). Les larves sont strictement aquatiques, vivant dans le sédiment des lacs. Les larves peuvent atteindre une taille de 25 mm (sans compter le prolongement du dernier appendice) [Evans & Neunzig 1996]. La période larvaire est d'une à deux années et elle comprend jusqu'à dix stades. Ce sont des prédateurs généralistes qui peuvent faire preuve de cannibalisme [Canterbury 1978]. Les larves sont elles-mêmes consommées par les poissons [Azam & Anderson 1969; Iversen & Thorup 1987].

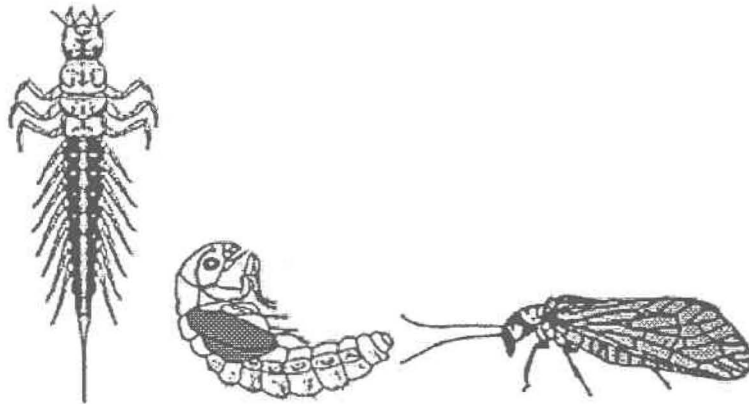


Figure 3. Larve, pupa et adulte de l'insecte *Sialis* sp. (de gauche à droite). Modifié de Elliott [1996a].

Au moment de la pupaison, au printemps, les larves sortent sur la rive et peuvent parcourir jusqu'à un mètre avant de creuser une chambre à une dizaine de centimètre de profondeur dans le sol humide. Ce stade est d'environ deux semaines selon la température [Elliott 1996b].

Après deux semaines, les adultes émergent de terre. Il ne volent pas très bien [Evans & Neunzig 1996]. Leur nom commun (*alderfly*) vient du fait que les adultes se retrouvent le plus souvent sur les aulnes (*alder*) où les femelles pondent leurs oeufs [Ross 1937]. Les adultes ne se nourrissent pas et vivent au maximum trois semaines [Evans & Neunzig 1996]. Les oeufs sont pondus à l'envers des feuilles ou des branches, au-dessus de l'eau. Le temps d'incubation est également variable en fonction de la température [Elliott 1995]. Lorsque les larves de premier instar émergent, elles tombent dans l'eau et sont planctoniques. Au deuxième stade, les larves descendent dans le sédiment où elles resteront jusqu'à maturité, creusant des tunnels pour y attendre leurs proies [Elliott 1996a].

L'espèce *Sialis velata* se retrouve dans tout l'est de l'Amérique du Nord (Figure 4) et est l'espèce la plus largement distribuée du genre en Amérique du Nord [Canterbury 1978]. Les larves de cette espèce peuvent atteindre une longueur de 2,0 cm. Nous avons trouvé cette espèce pour la première fois depuis 1937 au Québec [Roy & Hare 1998b, annexe 2]. Cela n'indique cependant pas que l'espèce est rare au Québec. Puisqu'aucune espèce de *Sialis* n'a été répertoriée depuis 1937, cela serait plutôt une lacune dans les collections d'insectes.

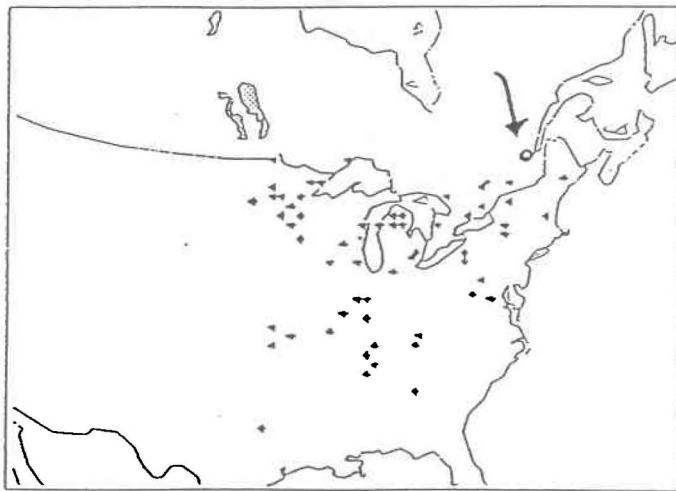


Figure 4. Distribution de *S. velata* en Amérique du Nord. Les points noirs correspondent à la distribution de l'espèce telle que mentionnée dans Ross [1937] et Canterbury [1978]. Le rond blanc indiqué par la flèche représente la dernière localisation depuis 1937 de l'espèce au Québec [Roy & Hare 1998b].

1.5 Sources de métaux pour les animaux aquatiques

L'eau et la nourriture sont les deux voies d'accumulation des métaux traces chez les animaux aquatiques et elles sont considérées indépendantes et additives [Luoma 1995]. Plusieurs facteurs abiotiques et biotiques peuvent influencer l'importance relative de l'eau et de la nourriture comme sources de métaux [Hare 1992]:

- i) La concentration de métal dans chacune des sources.
- ii) La spéciation du métal dans l'eau.
- iii) La façon dont le métal est associé à la nourriture.
- iv) Le temps de contact membrane-métaux.
- v) La surface de contact, les conditions de pH et p_e et des types d'enzymes présentes.
- vi) La facilité du métal à traverser les membranes.

Il existe peu d'information sur l'importance relative de ces deux voies d'entrée. Les surfaces respiratoires et du tractus intestinal sont les principaux sites d'entrée des métaux chez les animaux aquatiques. D'après la littérature, le Cd s'accumule principalement dans le tractus chez les larves de *Sialis* [Hare et al. 1991]. Mais une telle distribution interne ne veut pas dire que le métal vient forcément de la nourriture [Craig et al. 1998]. Dans le même ordre d'idée, même s'il existe une relation entre la concentration d'un métal dans l'eau et dans un animal, nous ne pouvons pas tirer la conclusion que l'animal prend son métal directement de l'eau. Par exemple, même si la concentration du Cd chez la larve de l'insecte *Chaoborus punctipennis* peut être reliée à la concentration de l'ion libre du Cd (lorsque l'on tient compte de l'effet compétitif des ions H^+ ; $r^2 = 0,78$; $n = 31$ lacs; Croteau et al. 1998), cet animal prend son Cd de sa nourriture [Munger & Hare 1997]. La nourriture a été aussi rapportée comme une importante source de Cd chez les prédateurs *Mystacides* (Trichoptera) et *Limnesia maculata* (Hydracarina) [Timmermans et al. 1992]. Une relation indirecte entre les concentrations de métal dans l'animal et dans l'eau peut s'expliquer si les proies, situées à un niveau inférieure de la chaîne trophique, prennent leur métal de l'eau.

Pour que nos modèles de biomoniteur reposent sur des faits biologiques et chimiques, c'est-à-dire qu'ils ont une base théorique au lieu d'être purement empirique, il est important de connaître la source majeure du métal. Un modèle théorique à l'avantage de s'appliquer en dehors des données qui ont servi à son élaboration.

Nos données préliminaires indiquent que les concentrations de Cd chez les larves de *Sialis* peuvent être reliées aux concentrations de Cd dans les lacs (Hare, non publié). Cet animal semble donc prometteur comme biomoniteur du Cd dans les lacs. Pour pouvoir mettre sur pied un modèle éventuel de bioaccumulation du Cd pour *Sialis*, il faut connaître initialement la source de ce métal pour cet animal. Ceci est le but de l'étude présentée ici.

8 Importance relative de l'eau et de nourriture comme source de Cd pour *Sialis velata*

2. OBJECTIFS

Le but principal de notre étude est de trouver quelle est la source principale de Cd pour les larves de *Sialis velata* (eau et/ou la nourriture). Cette information nous permettra de jeter les bases d'un modèle éventuel réaliste de 'biomonitoring' avec cet organisme benthique. Pour déterminer la source principale du Cd, des larves de *S. velata* ont été exposées au Cd via l'eau seulement et via la nourriture seulement en laboratoire.

Nous avons aussi déterminer la distribution du Cd à l'intérieur des larves de *Sialis* exposées soit au Cd dans la nourriture seulement, soit au Cd dans l'eau seulement. Ceci nous permettra de comparer chez *Sialis*, la voie d'entrée du Cd avec son site de stockage. Pour déterminer cela, des larves de *Sialis*, exposées soit à de l'eau ou à de la nourriture contaminée en Cd, ont été disséquées et le Cd mesuré dans chacune des parties de l'animal.

10 Importance relative de l'eau et de nourriture comme source de Cd pour *Sialis velata*

3. MÉTHODES

Les larves de *Sialis* et leurs proies (larves de troisième stade de *Cryptochironomus* sp.) ont été récoltées avec une benne Ekman à 5 mètres de profondeur dans le lac St-Joseph, dans la région de Québec (46°55' N, 71°40' W). Les larves de *Sialis* et de *Cryptochironomus* étaient maintenues, avant les expériences, dans du sédiment non tamisé du lac St-Joseph à 10°C. Trois jours avant les manipulations, les larves de *Sialis* ont été déposées dans des vials de 30 ml remplis d'eau de lac reconstituée où elles furent nourries une fois par jour. Une description plus détaillée des expériences est présentée à l'annexe 1.

Dans toutes les expériences, le Cd radioactif (^{109}Cd), a servi comme traceur. Pour les larves de *S. velata* exposées au Cd via l'eau seulement, l'activité spécifique des solutions de Cd a été utilisée pour calculer le Cd accumulé. Pour les larves de *S. velata* exposées au Cd via la nourriture, la procédure était différente. Premièrement, l'accumulation de Cd par les proies fut mesurée à l'aide de l'activité spécifique du Cd de l'eau dans laquelle les proies étaient exposées. Par la suite, une nouvelle activité spécifique a été calculée en tenant compte du Cd initialement présent dans les proies. Cette nouvelle activité spécifique a été utilisée pour calculer le Cd accumulé par le prédateur.

La première expérience consistait à comparer l'apport de Cd via la nourriture et l'eau. Des larves de *S. velata* furent maintenues dans une eau sans Cd et nourries avec des proies à raison d'une proie par jour pendant 4 jours. Les proies avaient été contaminées via l'eau et leur nourriture (organismes méiobentiques) à trois concentrations de Cd différentes (3, 10 et 30 nM Cd). D'autres larves de *S. velata* furent maintenues dans une eau contaminée aux trois mêmes concentrations pendant 4 jours et nourries à raison d'une proie non-contaminée par jour. Dans une deuxième expérience, visant à d'établir les lieux d'accumulation du Cd dans la larve de *Sialis* en fonction de la source, des larves de *S. velata* furent nourries avec des proies (contaminées via l'eau seulement à 10 nM) à raison d'une proie par jour pendant 10 jours. D'autres larves de *S. velata* furent également maintenues dans de l'eau contaminée à 10 nM pendant 10 jours. Au dixième jour, les larves de *S. velata* furent disséquées en tractus, branchies et corps. Le Cd accumulé dans chacune des parties fut mesuré.

12 Importance relative de l'eau et de nourriture comme source de Cd pour *Sialis velata*

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

La nourriture est la source majeure de Cd chez *S. velata* (figure 5). Le Cd accumulé par le prédateur via la nourriture représente $\approx 80\%$ du Cd total que le prédateur aurait accumulé s'il avait été exposé au Cd via l'eau et la nourriture simultanément (en supposant que le Cd accumulé de l'eau et de la nourriture soient additifs)[Roy & Hare 1998a (annexe 1)]. Cette valeur peut être sous-estimée puisque nous avons exposés *S. velata* à de hautes concentrations de Cd dans l'eau et à de faibles concentrations de Cd dans les proies.

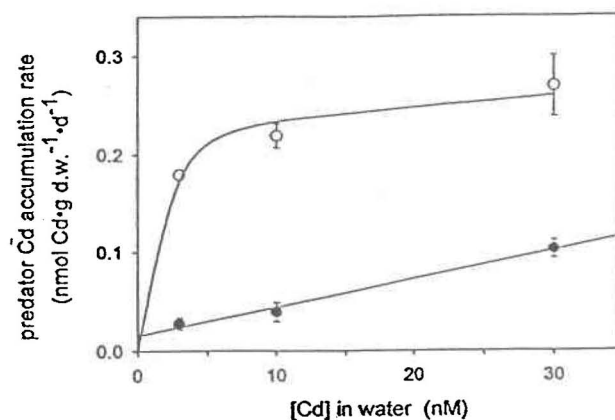


Figure 5a. Vitesse d'accumulation du Cd par les larves de *S. velata* selon la source de Cd, via la nourriture ou via l'eau, à trois concentrations différentes pour 4 jours d'exposition; $r^2 = 0.95$ pour la contamination via l'eau [Roy & Hare 1998b]

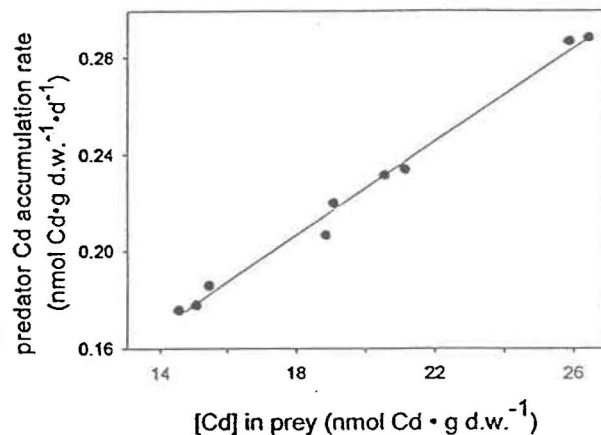


Figure 5b. Relation entre la vitesse d'accumulation du Cd dans le prédateur et la concentration moyenne de Cd total dans les proies consommées pour 4 jours d'exposition ($r^2 = 0.95$) [Roy & Hare 1998b]

Pour la même concentration de Cd, les larves de *S. velata* exposées au Cd via la nourriture accumule plus rapidement le Cd que les larves exposées à l'eau uniquement (Figure 5a). La relation entre le taux d'accumulation du Cd chez *S. velata* et la concentration de Cd dans l'eau est directe et linéaire quand l'accumulation se fait via l'eau. Cependant, cette relation est non linéaire et correspond à une équation de type Michaelis - Menten lorsque l'accumulation se fait via la nourriture [Roy & Hare 1998a (annexe 1)].

La vitesse d'accumulation du Cd est directement reliée à la concentration moyenne de Cd dans les proies consommées, peu importe la concentration de Cd à laquelle les proies ont été exposées (figure 5b).

Cela suggère donc la présence d'une saturation dans l'accumulation de Cd chez les proies (ou le méiobenthos) en fonction de la concentration en Cd. Il est fort probable que cette courbe de saturation n'existe pas en nature puisque la contamination en Cd à chaque niveau trophique se fait durant toute la période de croissance [Roy & Hare 1998a (annexe 1)].

L'importance de la nourriture comme source majeure de Cd pour les larves de *Sialis* se trouve appuyée du fait que l'on retrouve principalement le Cd dans le tractus chez les larves exposées au Cd *in situ* [Hare et al. 1991] et chez les larves exposées au Cd via la nourriture [Roy & Hare 1998a (annexe 1)]. La distribution du Cd chez *S. velata* correspondrait à un modèle à deux compartiments (figure 6), où le Cd accumulé via la nourriture se retrouverait principalement dans le tractus tandis que le Cd accumulé via l'eau se retrouverait dans d'autres parties du corps. Néanmoins, le tractus serait le site d'accumulation le plus important [Roy & Hare 1998a (annexe 1)]. Il n'a pas été possible de mesurer le Cd accumulé dans les branchies car les valeurs se trouvaient sous le seuil de détection.

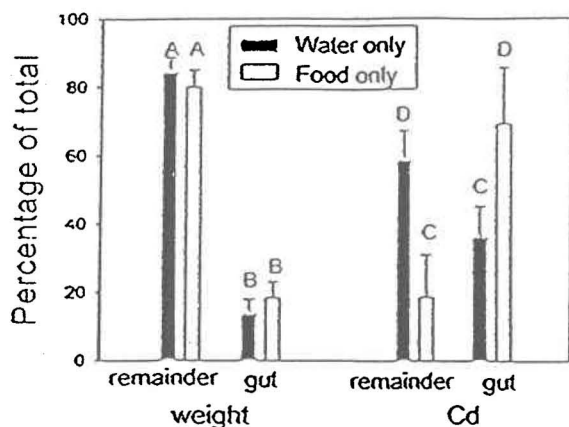


Figure 6. Distribution du poids et du Cd dans la larve de *S. velata* en fonction de la source de Cd [Roy & Hare 1998a]

La prédominance de la voie nourriture suggère que des études impliquant plusieurs niveaux trophiques devraient prendre soin de bien contaminer les niveaux inférieurs (à la fois via l'eau et la nourriture). Ces résultats suggèrent aussi que les modèles décrivant les mouvements du Cd dans une chaîne trophique en milieu aquatique ne doivent pas être uniquement basés sur l'eau comme source de Cd pour les animaux.

5. PERSPECTIVES

En laboratoire, la nourriture semble une source importante de Cd pour *S. velata* et la concentration de Cd dans le prédateur est fonction de la concentration en Cd dans les proies. Il serait pertinent de vérifier ces résultats sur le terrain à l'aide d'une combinaison des approches expérimentales *in situ* décrites dans Warren et al. [1998] et Munger & Hare [1997]. Des proies seraient ajoutées en densité variable dans des bacs de sédiments où se trouvent des *Sialis* (les animaux étant retenus par un filet). Une telle étude permettra aussi de mesurer le taux d'échange de Cd entre les larves de *Sialis* et leur milieu, dans la nature. Cela permettrait de mesurer la rapidité à laquelle les larves répondent à un changement de contamination.

L'efficacité d'assimilation pourrait être un facteur important à étudier. Dans Roy et Hare [1998a] (annexe1), elle a été estimée à $\approx 50\%$ avec des larves de *Cryptochironomus* sp. comme proies. L'efficacité d'assimilation étant grandement influencée par le type de proie consommées, le taux de passage dans le tractus [Dallinger & Wieser 1977] et la distribution du métal dans les proies [Wallace & Lopez 1996], l'étude de ce paramètre biologique aiderait à mieux définir la relation qui existe entre les concentrations de métaux dans le prédateur et ses proies.

Nos données de laboratoire suggèrent une relation entre les concentrations de Cd chez *S. velata* et celles de leur milieu. La prochaine étape est donc maintenant de tester cette relation en milieu naturel, en mesurant les concentrations de Cd dans les larves de *Sialis*, dans leurs proies et dans l'eau, le long d'un gradient en concentration en métaux traces dans des lacs. Les concentrations de plusieurs métaux, comme le Cd, le Cu, le Zn, le Pb, et le Ni, pourraient aussi être mesurées. De plus, une étude plus approfondie du type d'alimentation des larves de *Sialis* (type de proies consommées, quantité, comportement fouisseur, etc.) aiderait à mieux expliquer la relation qui existe entre les concentrations de métaux dans le milieu et dans les larves de *Sialis*. Ces études permettraient de vérifier le potentiel biomoniteur de *S. velata* pour les métaux traces.

16 Importance relative de l'eau et de nourriture comme source de Cd pour *Sialis velata*

Il serait aussi pertinent de vérifier si les concentrations en métaux diffèrent d'une espèce de *Sialis* à l'autre. Vu la complexité de l'identification au niveau de l'espèce (à partir des parties génitales d'individus adultes mâles), un projet intéressant pourrait être de créer une clé taxonomique au niveau de l'espèce, à partir des larves aquatiques, pour permettre l'identification de ces stades immatures de *Sialis* et l'étude des différences inter-espèces en métaux traces.

6. BIBLIOGRAPHIE

- Azam, K.K. & Anderson, N.H. (1969). Life history and habits of *Sialis rotunda* and *S. californica* in Western Oregon. *Ann. Ent. Soc. Am.* 62: 549-558.
- Campbell, P.G.C. (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. A. Tessier & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New-York, pp. 45-102.
- Canterbury, L.E. (1978). *Studies of the genus Sialis (Sialidae:Megaloptera) in eastern North America*. unpubl. Ph. D. thesis, University of Louisville, Kentucky, 93 pp.
- Chan, L. (1997). Nutritional toxicology courses. McGill University. <http://www.agrenv.mcgill.ca/dietetic/staff/chan/420/lecture4/index.html>.
- Chapman, P.M., Allen, H.E., Godtfredsen, K., & Z'Graggen, M. (1996). Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. *Environ. Sci. Technol.* 30: 448-452.
- Craig, A., Hare, L. Charest, P.M., & Tessier, A. (1998). Effect of exposure regime on the internal distribution of Cd in *Chironomus staegeri* larvae (Insecta, Diptera). *Aquat. Toxicol.* 41: 265-275.
- Croteau, M.N., Hare, L., & Tessier, A. (1998). Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* 32:1348-1353.
- Dallinger, R. & Wieser, W. (1977). The flow of copper through a terrestrial food chain. I. Copper and nutrition in isopods. *Oecologia* 30: 253-265.
- Elliott, J.M. (1995). The effect of temperature on egg hatching for three populations of *Sialis lutaria* (L.) and two populations of *Sialis fuliginosa* Pictet (Megaloptera: Sialidae). *Ent. Gaz.* 46: 155-159.
- Elliott, J.M. (1996a). *British Freshwater Megaloptera and Neuroptera: a key with ecological notes*. Freshwater biological association, Ambleside (U.K.), Scientific publication no. 54, 72 pp.
- Elliott, J.M. (1996b). Temperature-related fluctuations in the timing of emergence and pupation of the Windermere alder-flies over 30 years. *Ecol. Ent.* 21: 241-247.
- Environnement Canada (1995). *Canadian environmental protection act priority substances: Chemical carcinogens, health risks*. Cat No. En 40-215/40E.

- Evans, E.D. & Neunzig, H.H. (1996). Megaloptera and aquatic Neuroptera. In *An introduction to the aquatic insects of North America*. 3rd edition. R.W. Merritt. & K.W. Cummins [Eds], Kendall/Hunt Publishing Compagny, Iowa, pp. 298-308.
- Hare, L. (1992). Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 22: 327-369.
- Hare, L. & Tessier, A. (1996). Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature*, 380: 430-432.
- Hare, L., Tessier, A., & Campbell, P.G.C. (1991). Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 1481-1491
- Iversen, T.M. & Thorup, J. (1987). Population dynamics and production of *Sialis lutaria* L. (Megaloptera) in the Danish River Suså. *Fresh. Biol.* 17: 461-469.
- Luoma, S.N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms-a review. *Sci. Total. Environ.* 28: 1-22.
- Luoma, S.N. (1995). Prediction of metal toxicity in nature from bioassays: limitation and research needs. In *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. A. Tessier & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New-York, pp. 609-660.
- Malley, D.F. (1996). Cadmium whole-lake experiment at the Experimental Lakes Area: an anachronism? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1862-1870.
- Munger, C. & Hare, L. (1997). Relative importance of water and food as Cd sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): implications for predicting Cd bioaccumulation in nature. *Environ. Sci. Technol.* 31: 891-895.
- Morel, F.M.M. (1983). *Principles of aquatic chemistry*. John Wiley & Sons. New-York, 446 pp.
- Nriagu, J.O. & Pacyna, J.M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333: 134 -139
- Phillips, D.J.H. & Rainbow, P.S. (1993). The early use of biomonitors. In *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. J. Cairns & R.M. Harrison [Eds], Elsevier Applied Science, London, pp. 65-78.

- Roesijadi, G. & Robinson, W.E. (1994). Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. In *Aquatic toxicology*. D.C. Malins & G.K. Ostrander [Eds]. Lewis Publishers, London, pp 387-420.
- Ross, H.H. (1937). Studies of Nearctic Aquatic insects. I. Nearctic Alder flies of the genus *Sialis*. III. *Nat. Hist. Sur. Bull.* 21: 56-77.
- Roy, I. & Hare, L. (1998a). Relative importance of food and water as Cd sources to the predatory insect *Sialis velata* (Megaloptera). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* (accepter pour publication, conditionnelle sur révisions mineures).
- Roy, I. & Hare, L. (1998b). Eastward range extension in Canada of the alderfly of *Sialis velata* Ross (Megaloptera; Sialidae), and the potential of the genus as a contaminant monitor. *Ent. News.* 109: 285-287.
- Sigg, L. (1994). Regulation of trace elements in lakes: the role of sedimentation. In *Chemical and biological regulation of aquatic ecosystem*. J. Buffle & R.R. DeVitre [Eds], Lewis, Chelsea, pp.175-195.
- Simkiss, K. & Taylor, M.G. (1995). Transport of metals across membranes. In *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. A. Tessier & D.R. Turner [Eds.], Wiley, New-York, pp. 1-44.
- Tessier, A., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., & Auclair, J.C. (1993). Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnol. Oceanogr.* 38: 1-17.
- Timmermans, K.R., Spijkerman, E., & Tonkes, M. (1992). Cd and Zn uptake by two species of aquatic invertebrate predators from dietary and aqueous sources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 655-662.
- Wallace, W.G. & Lopez, G.R. (1996). Relationship between subcellular Cd distribution in prey and Cd trophic transfer to a predator. *Estuaries* 19: 923-930.
- Warren, L., Tessier, A., & Hare, L. (1998). Modelling Cd accumulation by benthic invertebrates in situ: the relative contribution of sediment and overlying water compartments to organism Cd concentrations. *Limnol. Oceanogr.* 43: 1442-1454.

Whiting, M.F. (1991). A distributional study of *Sialis* (Megaloptera:Sialidae) in North America. *Ent. News*. 102: 50-56.

Wright, D.A. & Welbourn, P.M. (1994). Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological, and toxicological effects on biota. *Environ. Rev.* 2: 187-214.

ARTICLE #1

**Relative importance of water and food as cadmium sources to
the predatory insect *Sialis velata* (Megaloptera)**

Isabelle Roy & Landis Hare

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

Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science

accepté pour publication, conditionnellement à des révisions mineures, 11 novembre 1998

Abstract: A key aspect of modeling contaminant uptake by animals is knowledge of the route taken by the contaminant to enter the animal. To determine the relative importance of food and water as Cd sources for benthic insects, we measured Cd accumulation by the predatory alderfly *Sialis velata* from either water alone or from chironomid prey (*Cryptochironomus* sp.). We determined that Cd uptake from prey was far more important than that from water. Chironomid prey fed to *S. velata* also appeared to take up the bulk of their Cd from food (meiobenthic organisms). The efficiency with which Cd was assimilated by the predator from its prey is high (50%) and comparable to values reported for several other insects. In the predator, Cd taken up from food was largely stored in gut tissues (as is the case for insect larvae in nature) whereas a greater proportion of the metal taken up from water was stored in other animal parts.

Résumé: Un aspect clé dans la modélisation de l'accumulation des contaminants chez les organismes est de connaître la façon dont ceux-ci entre dans l'organisme. Pour déterminer l'importance relative de la nourriture et de l'eau comme source de Cd pour les insectes benthiques, nous avons mesuré la bioaccumulation du Cd chez le prédateur *Sialis velata*, soit via l'eau ou via ses proies (*Cryptochironomus* sp.). Nous avons déterminé que l'accumulation du Cd par la nourriture est beaucoup plus importante que par l'eau. Les chironomides donnés comme proies à *S. velata* paraissent eux aussi prendre leur Cd principalement de la nourriture (organismes méiobenthiques). L'efficacité à laquelle le prédateur assimile le Cd des proies est relativement élevée (50%) et est comparable aux valeurs rapportées chez d'autres insectes. Chez *S. velata*, le Cd accumulé via la nourriture se retrouve principalement distribué dans les tissus digestifs (comme c'est le cas chez ces insectes en nature) alors que le Cd accumulé via l'eau se retrouve distribué dans d'autres parties de l'insecte.

Introduction

Human activities are responsible for recent increases in the global fluxes of many trace metals to the biosphere (Pacyna et al. 1995). Because metals can be transported great distances in the atmosphere, they have contaminated large numbers of remote aquatic systems (Franzin et al. 1979, Verta et al. 1986). Given the potential toxicity of metals to aquatic animals (Hare 1992), we require some means of measuring the risk they pose to aquatic life. Although measurements of metals in sediment and water can be of some use in this regard, they often necessitate assumptions about bioavailability that can be circumvented by making measurements in the animals themselves (Phillips and Rainbow 1993). The effective use of animals as biomonitoring tools depends on the development of models that reliably relate metal concentrations in a biomonitor to those in its surroundings (Hare and Tessier 1996). A key element in modeling metal accumulation in animals is a knowledge of the relative importance of food and water as metal sources (Hare 1992, Luoma et al. 1992).

There is little reliable information on metal uptake routes in freshwater animals (e.g., Timmermans et al. 1992, Stephenson and Turner 1993, Munger and Hare 1997) in part due to the technical difficulties inherent in separating food and water as metal vectors (Kay 1985). Many investigators appear to ignore metal uptake from food because they measure bioaccumulation and effects subsequent to water-only exposures (Luoma 1995). However, a recent study has shown that Cd uptake by the insect *Chaoborus punctipennis* is mainly from its planktonic prey (Munger and Hare 1997). We conducted experiments on a benthic insect, the alderfly *Sialis*, to determine if food is also an important Cd source for this

opportunistic predator on benthic invertebrates (Evans and Neunzig 1996). We chose *Sialis* larvae for our experiments because of their potential as a benthic Cd biomonitor (Roy and Hare 1998) in complement to the planktonic Cd biomonitor *Chaoborus* (Hare and Tessier 1996, 1998; Croteau et al. 1998).

Methods

Experimental design

We used an experimental trophic chain to determine the relative importance of water and food as Cd sources to *Sialis velata* larvae (Fig. 1). Laboratory comparisons of prey and water as metal sources for a predator are most realistic when (1) prey have been exposed to the metal in both food and water, as would occur in nature, and (2) stress on predators exposed to metal in water only has been minimized by offering uncontaminated prey as food (Kay 1985, Fisher and Reinfelder 1995). With this in mind, we exposed prey (the chironomid *Cryptochironomus* sp., Fig. 1) to Cd in both water and meiobenthic food, and we fed all predatory larvae (*S. velata*), i.e., in the case of the food-only exposure the predator was offered ^{109}Cd -contaminated prey, whereas in the water-only exposure predators were fed ^{109}Cd -free prey (Table 1). Furthermore, we conducted predator Cd exposures in artificial lake water of known composition so as to better control aqueous Cd speciation. Predator Cd accumulation was measured at the level of both whole animals and in various animal parts (Table 1).

Collection of insects and preparation of Cd-exposure solutions

Larvae of *S. velata* and *Cryptochironomus* sp. were collected with an Ekman grab at a 5 m water depth in Lake St. Joseph, Québec (46°55'N, 71°40'W). The water of this Canadian Shield lake has a pH of 6.6 and a dissolved organic carbon concentration of 3 mg C · L⁻¹ (Hare and Tessier 1996). Grab samples were sieved in the field, and the animals retained transported to the laboratory where they were held in aerated aquariums at 10°C in unsieved Lake St. Joseph sediment until required.

Artificial lake water was used in the holding aquariums as well as for all experimental exposures. Major ions in the artificial lake water were present in the same concentrations as in Lake St. Joseph water (μM), i.e., Ca (97), Mg (19), Na (39), K (2.5), SO₄ (42), Cl (16).

All labware was soaked in 15% nitric acid for 1 day and rinsed repeatedly in deionized water before use. To contaminate our trophic chain, we prepared stock solutions by adding sufficient $^{109+112}\text{Cd}$ to artificial lake water to attain total dissolved Cd concentrations of either 3, 10 or 30 nM. Concentrations of dissolved Cd as high as 20 nM have been reported in Cd-contaminated lakes (Croteau et al. 1998). Chemical speciation calculations indicate that Cd added to our artificial lake water was present largely as the free metal ion ($\approx 98\%$; HYDRAQL speciation program, Papelis et al. 1988). A control group of *S. velata* larvae held in 30 mL high-density polyethylene (HDPE) containers with clean artificial lake water and fed uncontaminated *Cryptochironomus* sp. prey daily for 4 days showed no mortality, as was the case for larvae at all of the Cd treatment levels, suggesting that neither the experimental conditions nor the Cd concentrations used in our whole-insect Cd accumulation experiment were deleterious to larvae. Total dissolved Cd concentrations to which both prey and the predator were exposed (measured in 0.5 mL water samples taken with a polyethylene syringe fitted with a 45 μm Millipore HA filter) were within 10% of the nominal Cd values (Cd measurement methods described below).

Cd exposure of prey and their food

Because the preferred food of *Cryptochironomus* sp. larvae is not known, we reared a mixture of meiobenthic organisms as food for these potential prey. An inoculum, obtained from organic debris in a fish-holding tank, was distributed in several 1 L HDPE containers filled with artificial lake water. Air was bubbled continuously and the cultures were kept in the dark for two weeks at 20°C. Small pieces of hydroponic lettuce were added as a nutrient source for the meiobenthos at regular intervals. The biomass of these cultures was dominated, in decreasing order, by protozoans, rotifers, naidid oligochaetes, and nematodes (based on microscopic examination).

Meiobenthos and *Cryptochironomus* sp. were exposed together to each of the three nominal Cd concentrations so as to produce a supply of *Cryptochironomus* sp. prey for *S. velata* at the rate of one prey per predator per day. To achieve this end, third instar

Cryptochironomus sp. larvae were contaminated in groups of four individuals in the dark at 17°C in 100 mL polypropylene containers for 16 days. To determine if the prey took up their Cd mainly from food, we also exposed *Cryptochironomus* sp. larvae (1 per 30 mL HDPE vial) to water at the intermediate Cd concentration (10 nM) without food for 7 days; a longer exposure time resulted in prey mortality, presumably due to starvation. Because of the small size of the meiobenthic organisms, it was not possible to measure their ¹⁰⁹Cd concentration. Prey (*Cryptochironomus* sp.) ¹⁰⁹Cd concentrations were measured over time (described below). Prey fresh weights were converted to dry weights using a factor of 0.17, based on the dry and fresh weights of a series of third instar *Cryptochironomus* sp. samples (n = 6 samples of 5 pooled individuals). This series of prey samples was subsequently digested in a micro-wave oven and Cd contents were measured by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry (Croteau et al. 1998) to estimate total Cd in *Cryptochironomus* sp. larvae.

Cadmium exposure regimes of the predator *S. velata*

We selected *S. velata* larvae of uniform length and weight for our experiments to avoid variations due to differences in Cd accumulation with animal size. Larvae at the beginning of our whole-insect water versus food experiment (Table 1) were 12.7 ± 1.7 mm in length and had a dry weight of 6.3 ± 1.8 mg (means \pm SD), and larval length and weight were not significantly different among treatments at either the beginning or the end of our experiments ($p > 0.05$, Kruskal-Wallis Dunn's test). Prior to Cd exposure, each *S. velata* larva was held at 10°C in a 30 mL HDPE vial filled with artificial lake water for a 3-day acclimation period during which time it was fed one uncontaminated *Cryptochironomus* sp. larva daily.

In the experiment designed to measure Cd accumulation in the whole insect, we exposed the predator *S. velata* for 4 days to Cd in either food or water (Table 1). In the food-only exposure, each predator was fed daily a live Cd-contaminated *Cryptochironomus*

sp. larva that had been exposed to the metal for 16 days at one of the three nominal Cd concentrations (prey exposure described above). Prey were not depurated prior to consumption by the predator for two reasons: (i) prey depuration would not necessarily occur in nature and (ii) trial periods of prey depuration led to only small Cd losses (< 10% after 2 days). Prey size (third instar) was chosen to ensure that one individual would fill the predator's gut (prey were visible in the predator's gut), and larvae were fed daily because previous observations revealed that *S. velata* larvae will not feed within 15 h of consuming a large prey.

The predator consumed its prey within 15 min, during which time the Cd lost from prey was not measurable (in either prey or in water). To ensure that Cd concentrations in water remained negligible, water in the vials was changed daily; ^{109}Cd concentrations in water were always below the detection limit (0.06 ± 0.01 (SD) Bq). Following the 4 day predator exposure period, *S. velata* larvae were fed uncontaminated prey of another chironomid genus (*Procladius* sp.) to allow us to confirm the complete evacuation of contaminated gut contents (by the presence of *Procladius* sp. head capsules in the predator's fecal pellets). Cadmium concentrations in *S. velata* larvae were measured 1 day after their last Cd-contaminated meal (see analytical methods).

In the water-only treatment of the whole-insect experiment, *S. velata* larvae were exposed for 4 days to each of the three nominal Cd concentrations (Table 1). To avoid stress due to starvation, larvae were fed one uncontaminated *Cryptochironomus* sp. larva daily. We verified that the predator consumed its prey rapidly (in < 15 min) and that prey took up no measurable Cd from water during this short feeding period (prey were subjected to an EDTA rinse prior to Cd measurement, as described below). Cd concentrations in water remained constant during the experiment (coefficients of variation $\approx 5\%$). Because the gut contents of *S. velata* were not contaminated, as they were in the food-only exposure, we were able to make repeated measurements over time of ^{109}Cd concentrations in individual *S. velata* larva (Cd analyses described below).

We measured ^{109}Cd losses from the predator for up to 6 days subsequent to the ^{109}Cd -exposure period. *Sialis velata* larvae were placed in 30 mL of Cd-free water containing 0.1 mM EDTA to ensure that any ^{109}Cd released by insects would be complexed. Results of a preliminary experiment showed that the presence of EDTA in water did not influence Cd efflux from the predator. During this period, each *S. velata* larva was fed daily one uncontaminated *Cryptochironomus* sp. larva and water in the vials was changed daily to avoid Cd build-up in water.

Internal distribution of Cd in *S. velata*

To measure differences in internal Cd localization with exposure route, *S. velata* larvae were exposed for 7 days to either Cd in prey or Cd in water (Table 1). In the food-only exposure, the predator was exposed to Cd through a daily feeding of a *Cryptochironomus* sp. larva that had been previously exposed to 10 nM Cd in artificial lake water for 7 d; although prey were not fed, this should not compromise the comparison of relative Cd distribution patterns in *Sialis* larvae. In the water-only exposure, the predator was exposed to 10 nM Cd and fed one ^{109}Cd -free *Cryptochironomus* sp. larva daily. In both cases, the predator was separated by dissection into gills, gut tissues, and remaining body parts (as described in Hare et al. 1989). Cadmium losses during dissection were < 10% of the larval total-Cd.

Cadmium analyses

^{109}Cd concentrations were measured in water and animal samples in a gamma-counter (Wallac NaI-well type); both counting efficiency (70%) and sample geometry were taken into account. The specific activity of aqueous Cd was used to convert ^{109}Cd counts to total Cd accumulated by predators exposed to Cd in water. For predators exposed to Cd in prey, ^{109}Cd measurements in prey consumed by the predator were first converted to $^{109+112}\text{Cd}$ concentrations from the specific activity of Cd in the water to which the prey had been exposed. The quantity of ^{112}Cd initially present in the prey was then added to the

$^{109+112}\text{Cd}$ they accumulated in the laboratory and a new specific activity was calculated for the total Cd present in prey. This new specific activity was used to convert the ^{109}Cd counts measured in the predator to the total Cd accumulated by *S. velata* larvae from prey during our 4-day experiment.

Prior to ^{109}Cd measurements in live prey or the predator, insects were weighed and rinsed for 10 min in 0.1 mM EDTA solution to remove adsorbed Cd (Munger and Hare 1997). At the end of an experiment each predator or its parts were placed on pieces of Teflon in a Petri dish (Hare et al. 1989), frozen at -40°C , dried to constant weight in a lyophilizer and weighed on a Mettler ME30 electronic micro-balance.

Results

An increase in Cd concentrations in the surroundings of *Cryptochironomus* sp. larvae was accompanied by an increase in larval Cd concentrations (Fig. 2). Concentrations of Cd in *Cryptochironomus* sp. tended to plateau after between 2 to 3 weeks of Cd exposure, and a longer exposure period (38 days at 10 nM Cd) did not lead to further increases in prey Cd (Fig. 2). Thus we fixed the Cd exposure time for prey to be offered to the predator at 16 days.

Cadmium accumulated by prey during their 16-day exposure in the laboratory represented from 13% (3 nM nominal Cd exposure) to 70% (30 nM nominal Cd exposure) of their initial Cd values ($13 \pm 1 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d.w.}$, mean \pm SD). Initial prey Cd concentrations are low compared to those measured in *Cryptochironomus* sp. larvae from lakes exposed to emissions from metal smelters (up to $145 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d.w.}$; Hare, unpublished). The modest extent of Cd increases in prey, even at the highest Cd exposure regime, suggests that either the meiobenthic food used in our experiments was not an optimal food source for *Cryptochironomus* sp. larvae or that it was not contaminated adequately with Cd. In either case, the importance of food as a Cd source to the predator *S. velata* may have been underestimated in our experiments.

Cryptochironomus sp. larvae exposed to Cd in water alone accumulated less Cd than those exposed to the metal in both water and food. That is, a water-only exposure to 10 nM Cd led to a net increase in prey Cd concentrations of only 1.0 (\pm 0.4) nmol Cd \cdot g⁻¹ d.w. whereas a comparable food and water exposure resulted in an increase of 6.1 (\pm 1.5) nmol Cd \cdot g⁻¹ d.w. prey (means \pm SD for a 7-day Cd exposure). On the basis of these measurements, we decided to expose *Cryptochironomus* sp. larvae to be offered as prey in the Cd source determination experiment to Cd in both water and food, as would occur in nature.

For the same dissolved Cd concentration, *S. velata* larvae exposed to Cd via prey accumulated Cd more quickly than did those exposed to Cd via water (Fig. 3). From Figure 3, we estimate that the Cd accumulated by *S. velata* larvae from food represented \approx 80% of the estimated total Cd that this predator would have accumulated if it had been exposed to Cd in prey and water simultaneously (assuming that Cd accumulation from food and water is additive). The relationship between the Cd accumulation rate in *S. velata* and dissolved Cd concentrations was direct and linear when Cd uptake was via water (Fig. 3, closed symbols; $r^2 = 0.95$, $p < 0.05$). However, the rate of Cd accumulation by the predator from food was not linearly related to Cd exposure concentrations in the water to which prey were exposed (Fig. 3, open symbols) and can be described by a Michaelis-Menten type equation of the form

$$\frac{\Delta [\text{Cd}]_{\text{Sialis}}}{\Delta t} = \frac{V_{\text{max}} \cdot [\text{Cd}]}{\text{HSC} + [\text{Cd}]} \quad (1)$$

where [Cd] is the dissolved Cd concentration and V_{max} (maximum uptake rate) = 0.27 nmol \cdot g⁻¹ \cdot d⁻¹ and HSC (half saturation constant) = 1.74 nmol \cdot L⁻¹ (values of best fit determined by iteration). A model curve based on equation 1 fits the observed data well (Fig. 3).

The mean Cd concentration of prey consumed by an individual predator (irrespective of the dissolved [Cd] to which the prey had been exposed) was directly related to the rate at

which the predator accumulated Cd during our experiment (Fig. 4; $r^2 = 0.95$, $p < 0.05$), which can be expressed by the following equation for a straight line

$$\frac{\Delta [\text{Cd}]_{\text{Sialis}}}{\Delta t} = F \cdot [\text{Cd}]_{\text{Cryptochironomus}} \quad (2)$$

having F as a proportionality constant equal to the value of the slope of the regression line (0.037 ± 0.003 ($\pm 95\%$ CI), Fig. 4) and a y-intercept equal to 0 (0.1 ± 0.1 ($\pm 95\%$ CI), Fig. 4).

Combining equations 1 and 2 we obtain

$$[\text{Cd}]_{\text{Cryptochironomus}} = \frac{S_T \cdot [\text{Cd}]}{\text{HSC} + [\text{Cd}]} \quad (3)$$

where the total number of adsorption sites, S_T , equals V_{max}/F , which suggests a saturation-type relationship between prey Cd and dissolved Cd concentrations. Saturation is also suggested by the data in Figure 2 in which a 3-fold increase in dissolved Cd concentrations between 10 and 30 nM is accompanied by an ≈ 2 -fold increase in prey Cd concentrations. Saturation in Cd could have occurred at the level of prey themselves or at a lower level in our experimental trophic chain, if we assume that food is the main Cd source for each consumer and that there is a direct relationship between the Cd in each consumer and the Cd in its food. The most likely level at which saturation occurred is that of the organic matter (lettuce) offered as a food source for the meiobenthos on which the *Cryptochironomus* sp. larvae fed. Because the organic matter offered to meiobenthos was not grown in a Cd-rich medium, the majority of its Cd could have been bound at surface sites that became saturated at high Cd concentrations. A saturation-type curve would probably not be observed in nature where organisms at all trophic levels would be exposed to ambient Cd during their growth.

We estimate the efficiency with which *S. velata* assimilated Cd from its food to have been 50% ($\pm 8\%$, SD, $n = 9$). Assimilation efficiencies were calculated by dividing the quantity of Cd accumulated by the predator during our experiment (after gut evacuation) by

the quantity of Cd consumed as prey. This estimate is likely to represent a minimum because it ignores Cd losses from the predator during our experiment. Cadmium accumulated by *S. velata* from food was found mainly in gut tissues, whereas the remainder of the animal (animal minus gut and gills) was the site of the majority of the Cd when exposure was directly via water (Fig. 5). Cadmium concentrations in gills were below the detection limit in all samples.

Cadmium was taken up rapidly from water by *S. velata* larvae, and lost equally rapidly when larvae were placed in Cd-free water (Fig. 6). The mean (\pm SD) biological half-life of Cd taken up from water by *S. velata* larvae at the 3 nominal aqueous Cd exposures was 1.4 (\pm 1.0) days, as estimated from an exponential equation describing Cd loss from the predator. The form of the efflux curve suggests rapid loss from a less strongly bound Cd pool and slower Cd loss from a more strongly bound Cd pool. The lack of a significant decline in the Cd concentrations of *S. velata* larvae exposed to Cd in food ($p > 0.05$, Kruskal-Wallis test; data not shown; measurements subsequent to gut depuration) suggests that Cd in gut tissues is tightly bound.

Discussion

Our experimental results suggest that food is a much more important source of Cd than is water for both the predator *S. velata* and its chironomid prey *Cryptochironomus* sp. The distribution pattern of Cd within *S. velata* larvae also supports the importance of food as its main Cd source in nature; larvae exposed to the metal either in nature (Hare et al. 1991) or via food only (our experiment) had the majority of their Cd in gut tissues, whereas other animal parts were the major site of Cd accumulation in larvae exposed to the metal in water only. Admittedly, assumptions about Cd uptake routes from internal distribution patterns must be made with some caution (Craig et al. 1998). The internal distribution of Cd supports a two compartment model for Cd accumulation in *S. velata* by which the metal enters the insect via both its gut and other body regions (perhaps the gills), however, entry via the gut seems to be by far the most important route.

Food is reported to be an important source of Cd for other predatory arthropods including the caddisfly *Mystacides* (Timmermans et al. 1992), the water mite *Limnesia maculata* (Timmermans et al. 1992) and the phantom midge *Chaoborus punctipennis* (Munger and Hare 1997). The importance of food as a Cd source for this diverse group of arthropods suggests that water-only exposures to the metal would be likely to underestimate Cd bioaccumulation and toxic effects in such invertebrates (Kay 1985, Luoma 1995). For experimental studies, the importance for prey of Cd in their food underlines the necessity of ensuring that animals at lower trophic levels are exposed to Cd in both food and water before they are offered to predators (Kay 1985). Our laboratory results suggest that models designed to describe Cd movements in natural aquatic food webs should not be based solely on water as a Cd source for animals.

The efficiency with which larvae of *S. velata* assimilated Cd from prey was high ($\approx 50\%$) and could be explained by the fact that these larvae swallow live prey whole, with no loss due to sloppy feeding. Furthermore, *Sialis* larvae retain prey in their gut for a long period of time (≈ 1 day from our observations; see also Evans and Neunzig 1996). High Cd assimilation efficiencies have also been reported for a water mite feeding on chironomid larvae (61% for *L. maculata* feeding on *Chironomus riparius* larvae, Timmermans et al. 1992) as well as a mysid crustacean feeding on cladocerans (72% for *Mysis relicta* feeding on *Daphnia magna*, Smokorowski et al. 1998). Although neither water mites nor mysids consume the exoskeleton of their prey (Smith and Cook 1991, Lasenby and Fürst 1981, respectively), they would probably ingest the bulk of their prey's Cd because it is likely to be located in prey digestive tissues (Hare et al. 1991). In contrast, the caddisfly *Mystacides* is reported to assimilate Cd from chironomids with only a 5% efficiency because it eats prey piecemeal, that is, because of its sloppy feeding habits (Timmermans et al. 1992). These estimates of assimilation efficiencies should probably be considered as values within a range for a given taxon. For example, the assimilation efficiency of Cd by *Chaoborus* larvae is reported to vary from a low of 4% for *C. punctipennis* feeding on cladocerans (Munger and Hare 1997) to a high of 50% for *C. americanus* feeding on copepods. Furthermore, assimilation efficiencies of Cd by *Chaoborus* larvae consuming a given prey type are

influenced by the rate at which prey are ingested as well as ambient temperature (M.-N. Croteau and C. Munger, unpublished data).

Sialis larvae are reported to be promising candidates for use as biomonitors of Cd concentrations in lakes (Roy and Hare 1998), and would provide a benthic alternative to the mainly planktonic biomonitor *Chaoborus*. As has been shown for *Chaoborus* larvae (Hare and Tessier 1996, 1998; Croteau et al. 1998), the use of an effective biomonitor must be based on a appropriate model that relates the biomonitor's metal concentrations to those in water or sediment. Our study suggests that consideration may have to be given to Cd concentrations in the prey of *Sialis* if a simple relationship cannot be found between Cd concentrations in *Sialis* larvae and those in water or sediment.

Acknowledgments

Funding was provided by Human Resources Development Canada, the Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the CNTC MITE Research Network, and the U.S. Environmental Protection Agency. Comments on the manuscript were kindly provided by U. Borgmann, M.-N. Croteau, C. Munger, A. Tessier, and K.R. Timmermans. Technical assistance was furnished by M.-R. Doyon, B. Patry, and J.-P. Baillargeon.

References

- Craig, A., L. Hare, P.-M. Charest, and A. Tessier. 1998. Effect of exposure regime on the internal distribution of cadmium in *Chironomus staegeri* larvae (Insecta, Diptera). *Aquat. Toxicol.* **41**: 265-275.
- Croteau, M.-N., L. Hare, and A. Tessier. 1998. Refining and testing a trace metal biomonitor (*Chaoborus*) in highly acidic lakes. *Environ. Sci. Technol.* **32**: 1348-1353.
- Evans, E.D., and H.H. Neunzig. 1996. Megaloptera and aquatic Neuroptera. *In* An introduction to the aquatic insects of North America. *Edited by* R.W. Merritt and K.W. Cummins. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, 3rd edition. pp. 298-308.
- Fisher, N.S., and J. R. Reinfelder. 1995. The trophic transfer of metals in marine systems. *In* Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. *Edited by* A. Tessier and D.R. Turner. Wiley, New-York, NY. pp. 363-406.
- Franzin, W. G., G. A. McFarlane, and A. Lutz. 1979. Atmospheric fallout in the vicinity of a base metal smelter at Flin Flon, Manitoba. *Environ. Sci. Technol.* **13**: 1513-1522.
- Hare, L. 1992. Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Critical Rev. Toxicol.* **22**: 327-369.
- Hare, L., and A. Tessier. 1996. Predicting animal cadmium concentrations in lakes. *Nature* **380**: 430-432.
- Hare, L., and A. Tessier. 1998. The aquatic insect *Chaoborus* as a biomonitor of trace metals in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1850-1859.
- Hare, L., P.G.C. Campbell, A. Tessier, and N. Belzile. 1989. Gut sediment in a burrowing mayfly (Ephemeroptera, *Hexagenia limbata*): their contribution to animal trace element burdens, their removal, and the efficacy of a correction for their presence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**: 451-456.
- Hare, L., A. Tessier, and P.G.C. Campbell. 1991. Trace element distributions in aquatic insects: variations among genera, elements, and lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**: 1481-1491.
- Kay, S.H. 1985. Cadmium in aquatic food webs. *Residue Rev.* **96**: 13-43.

- Lasenby, D.C., and M. Fürst. 1981. Feeding of *Mysis relicta* Lovén on macrozooplankton. Report Inst. Freshwater Res., Drottningholm, Sweden 59: 75-80.
- Luoma, S.N., C. Johns, N.S. Fisher, N.A. Steinberg, R.S. Oremland, and J.R. Reinfelder. 1992. Determination of selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways. Environ. Sci. Technol. 26: 485-491.
- Luoma, S.N. 1995. Prediction of metal toxicity in nature from bioassays: limitations and research needs. In Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Edited by A. Tessier and D.R. Turner. Wiley, New-York, NY. pp. 609-660.
- Munger, C., and L. Hare. 1997. Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus punctipennis*): implications for predicting Cd bioaccumulation in nature. Environ. Sci. Technol. 31: 891-895.
- Pacyna, J.M., M.T. Scholtz, and Y.-F.A. Li. 1995. Global budget of trace metal sources. Environ. Rev. 3: 145-159.
- Papelis, C., K.F. Hayes, and J.O. Leckie. 1988. HYDRAQL: A program for the computation of chemical equilibrium composition of aqueous batch systems including surface complexation modeling of ion adsorption at the oxide/solution interface. Stanford University, Department of Civil Engineering, California, Technical Report 306.
- Roy, I., and L. Hare. 1998. Eastward range extension in Canada of the alderfly *Sialis velata* Ross (Megaloptera; Sialidae) and the potential of the genus as a contaminant monitor. Entomol. News. 109: 285-287.
- Smith, I.M., and D.R. Cook. 1991. Water mites. In Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Edited by J.H. Thorp and A.P. Covich. Academic Press, New-York, NY. pp 523-593.
- Smokorowski, K.E., D.C. Lasenby, and R.D. Evans. 1998. Quantifying the uptake and release of Cd and Cu by the opossum shrimp *Mysis relicta* preying upon the cladoceran *Daphnia magna* using stable isotope tracers. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55: 909-916.
- Stephenson, M., and M.A. Turner. 1993. A field study of cadmium dynamics in periphyton and in *Hyalella azteca* (Crustacea: Amphipoda). Water Air Soil Pollut. 68: 341-361.

-
- Timmermans, K.R., E. Spijkerman, M. Tonkes, and H.A.J. Govers. 1992. Cadmium and zinc uptake by two species of aquatic freshwater invertebrate predators from dietary and aqueous sources. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **49**: 655-662
- Verta, M., S. Rekolainen, J. Mannio, and K. Surma-Aho. 1986. The origin and level of mercury in Finnish forest lakes. *Public. Water Res. Inst., Natl. Board Waters, Finland.* **65**: 21-31.

TABLE 1. Cadmium exposure routes used in our experiments designed to compare Cd accumulation by the alderfly *Sialis velata* from water and from its prey (the chironomid *Cryptochironomus* sp.) as well as to measure Cd efflux from the predator.

Cd source for predator (exposure duration)	Number of <i>S. velata</i>	[Cd] nM	Cd source for prey (exposure duration)	Efflux duration d
whole animal				
food (4 d)	9	3, 10, 30	food + water (16 d)	-
water (4 d)	9	3, 10, 30	-	6
internal distribution				
food (7 d)	12	10	water (7 d)	-
water (7 d)	12	10	-	-

Figure Captions

FIG. 1. The simple food chain used in our laboratory experiments, indicating potential Cd sources at each trophic level.

FIG. 2. Increases in Cd concentrations (mean \pm SD) above initial values in *Cryptochironomus* sp. (prey for *S. velata*) exposed to Cd in both water and food (meiobenthos) for up to 18 days at one of three nominal Cd concentrations (3, 10, 30 nM; open symbols). Filled symbols represent Cd concentrations in prey exposed to the metal for up to 38 days at a nominal aqueous Cd concentration of 10 nM.

FIG. 3. Accumulation rate of Cd (means \pm SD) in *S. velata* larvae exposed to the metal for 4 days in either water (solid symbols) or in prey (open symbols) as a function of dissolved Cd concentrations in the exposure media of either the predator or its prey, respectively. The equation for the regression line (values \pm 95% CI) for Cd uptake directly from water is $y = 0.013 (\pm 0.002) x + 0.03 (\pm 0.03)$. Cadmium accumulation rates from food are best described by a saturation-type curve (see equation 1).

FIG. 4. Accumulation rate of Cd by individual *S. velata* larvae as a function of the mean total Cd concentrations in the *Cryptochironomus* sp. prey that they consumed during our 4-day experiment. The equation for the regression line (values \pm 95% CI) is $y = 0.037 (\pm 0.003) x + 0.1 (\pm 0.1)$.

FIG. 5. Distribution of total larval weight and of the Cd accumulated during our experiment (means \pm SD) between the gut tissues and remaining animal parts of *S. velata* exposed to the metal for 10 days in either water only or food only. Values in gills are not given because gills represented $< 5\%$ of the total mass and their Cd concentrations were below the detection limit. Different letters indicate a significant difference ($p < 0,05$; Kruskal-Wallis Dunn's test) in the proportion of either animal weight (A and B) or Cd content (C and D) between animal parts.

FIG. 6. Increases in Cd concentrations above initial values (mean \pm SD) in *S. velata* larvae exposed for 4 days to Cd in water at one of 3 nominal Cd concentrations (3, 10, 30 nM). Following Cd exposure, larvae were held in Cd-free water and fed uncontaminated prey to measure Cd efflux.

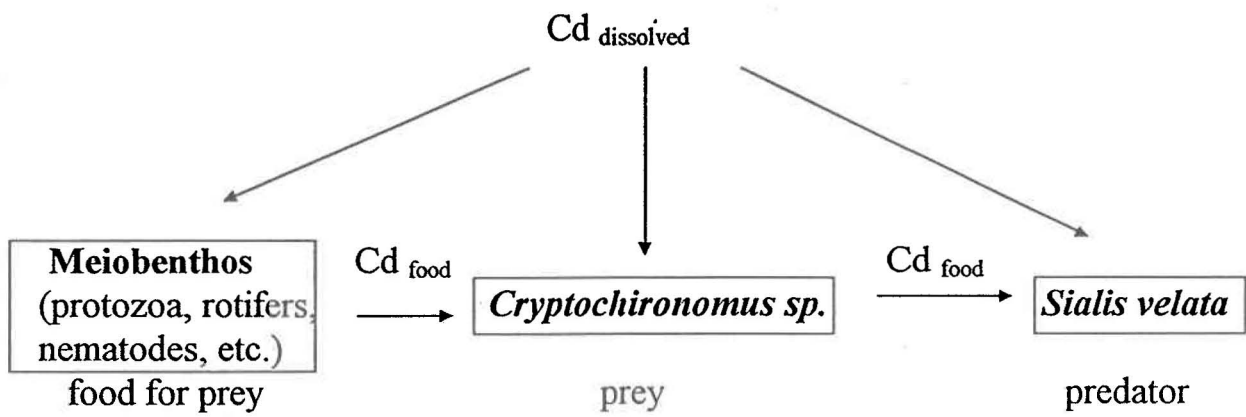


Figure 1 [Roy and Hare 1998]

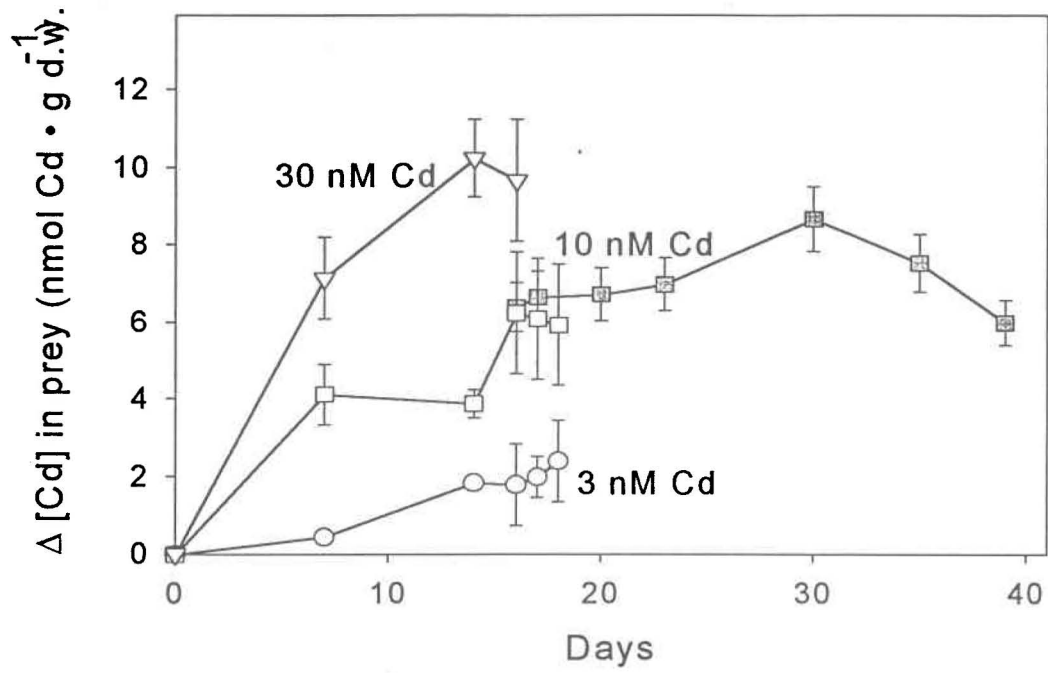


Figure 2 [Roy and Hare 1998]

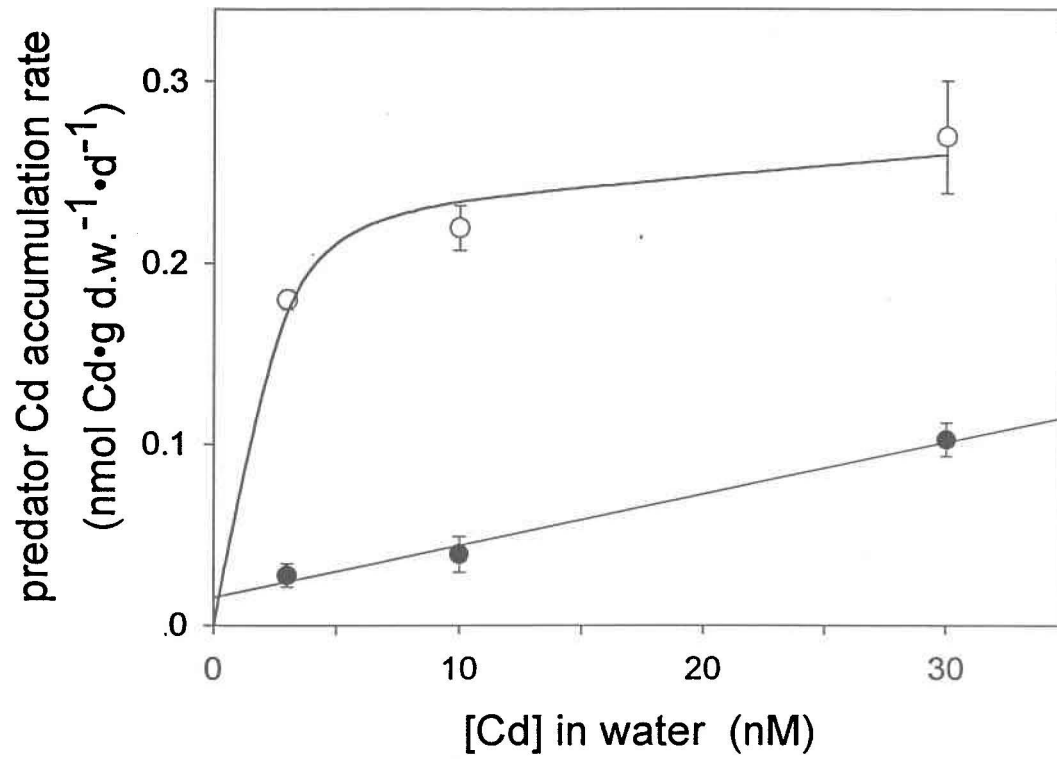


Figure 3 [Roy and Hare 1998]

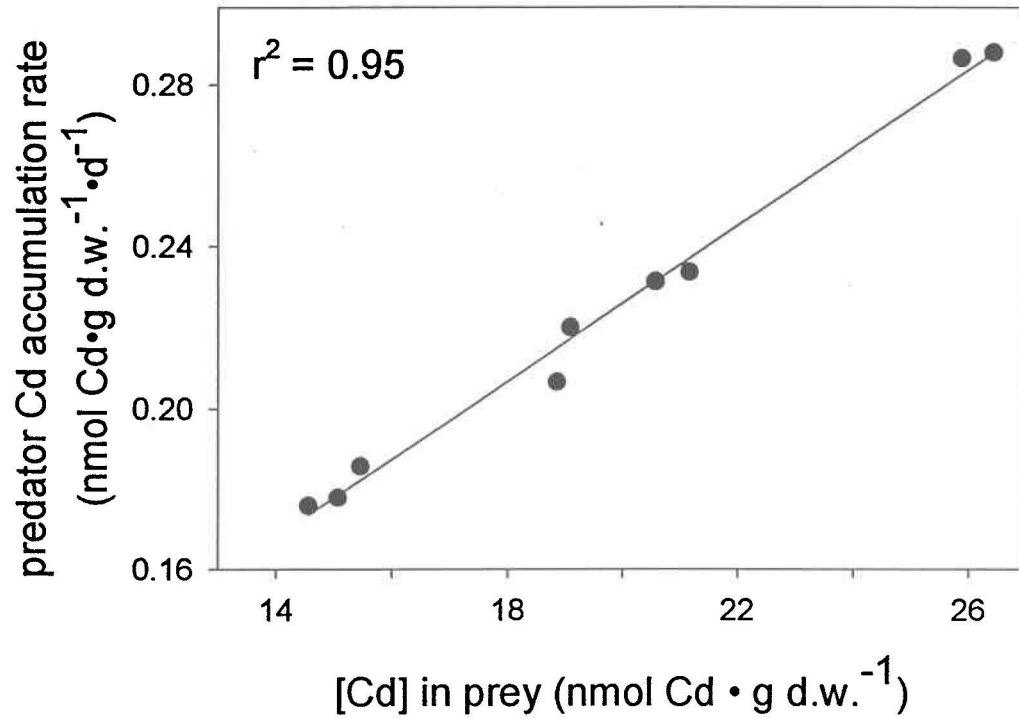


Figure 4 [Roy and Hare 1998]

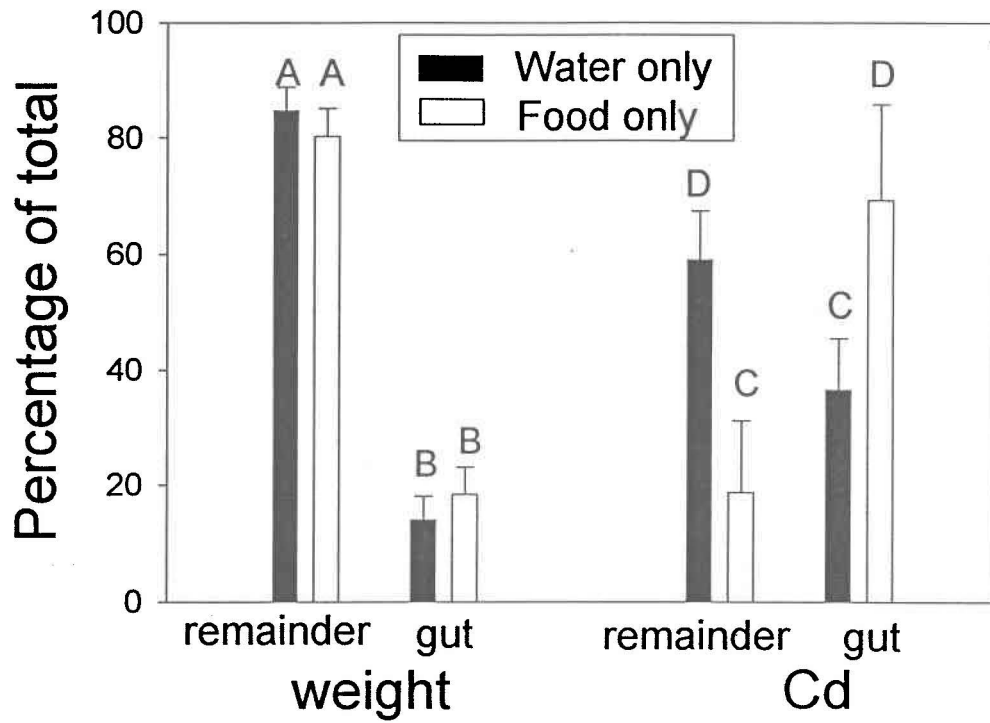


Figure 5 [Roy and Hare 1998]

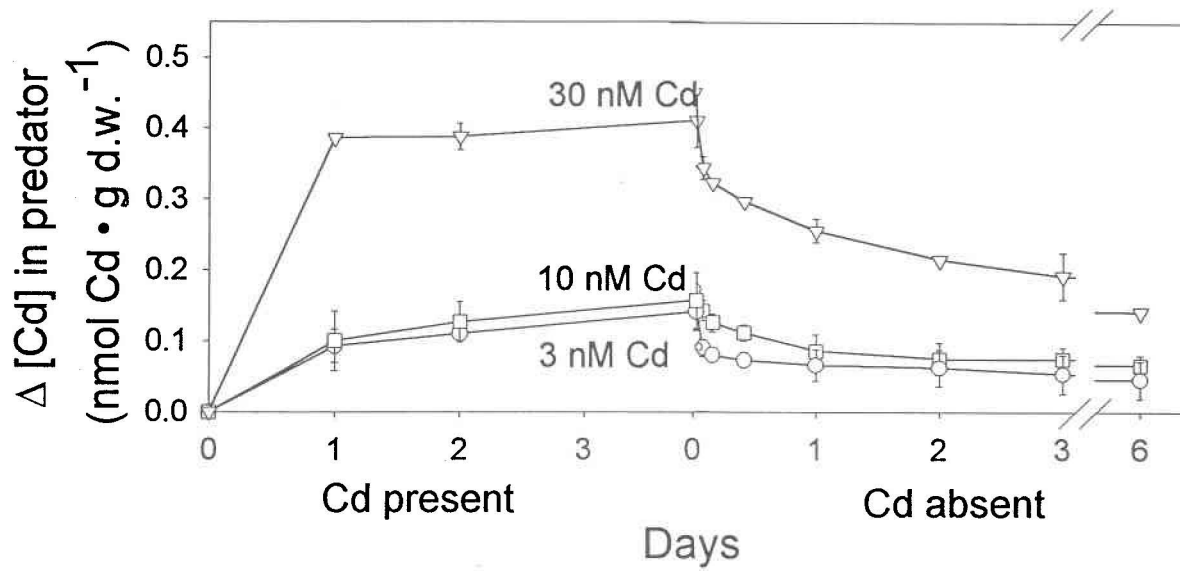


Figure 6 [Roy and Hare 1998]

ARTICLE #2

**Eastward range extension in Canada of the
alderfly *Sialis velata* (Megaloptera: Sialidae), and the
potential of the genus as a contaminant monitor**

Isabelle Roy & Landis Hare

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

Entomological News 109: 285-287; 1998.

L'INRS ne détient pas les droits pour diffuser cette version de l'article :

Roy, I. et Hare, L. (1998). Eastward range extension in Canada of the alderfly *Sialis velata* (Megaloptera: Sialidae), & the potential of the genus as a contaminant monitor. *Entomol. News* 109(4): 285-287.