INFLUENCE DU SULFATE DE CUIVRE SUR LA STRUCTURE DU FILET DES LARVES D'HYDROPSYCHE (INSECTA, TRICHOPTERA)¹

par W. K. BESCH², Irmela SCHREIBER¹ et E. MAGNIN³

Dès la concentration initiale de 125 µg Cu/l, le sulfate de cuivre en eau dure affecte la capacité des larves d'*Hydropsyche* à construire un filet. La première irrégularité apparente est le nombre élevé d'interruptions des fils. A concentration plus élevée, le nombre de mailles par filet diminue.

Une anomalie typique de l'action toxique du cuivre est le dépôt de fils sous la forme d'amas de soie. La symétrie et la régularité des mailles dans la zone de capture n'est que faiblement affectée par le cuivre. Ceci contraste avec les effets d'un carbamate, insecticide étudié antérieurement.

La localisation première de l'action du cuivre paraît être la glande à soie et non le système nerveux comme cela est le cas avec l'insecticide précité.

Les résultats obtenus en laboratoire confirment les observations de terrain. Les concentrations affectant sévèrement la construction des filets empêchent les larves de se développer dans la nature. Le test *Hydropsyche* n'exige que de courtes périodes de temps et un équipement simple ; il fournit cependant une information sur des effets à long terme.

Influence of copper sulphate on the structure of the net of larvae of *Hydropsyche* (Insecta, Trichoptera).

Copper sulphate with an initial concentration as low as 125 µg Cu/l in hard water adversely affects the capacity of the larvae of *Hydropsyche* to spin nets. The irregularity that is first apparent is the high number of thread-interruptions. At higher concentration, the number of meshes per net decreases.

A typical anomaly of the toxic action of copper is the deposition of threads as cotton like harks instead of net tissues. The symmetry and regularity of the meshes in the catching area is only slightly affected by copper. This contrasts strikingly with the effects of a carbamate insecticide studied earlier.

The primary site of the action of copper seems to be the silk gland and not the nervous system as is the case with the above pesticide.

The findings in the laboratory confirm those made in the field. Concentrations which severely impair net construction are prohibitive for occurrence in nature. The *Hydropsyche*-test requires only short test-times and simple equipment and yet gives information on long term effects.

La structure des filets d'*Hydropsyche* peut être utilisée comme indicateur très sensible de l'action nocive d'insecticides (Décamps et al. 1973, Besch et al. 1977). La présente étude a été entreprise à la suite

1. Avec l'aide de la Deutsche Forschungsgemeinschaft.

2. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg D-7 500 Karlsruhe.

3. Université de Montréal, Québec, Canada, dpt de Biologie.

des données contradictoires publiées sur la sensibilité des larves d'*Hydropsyche* au cuivre et aux métaux lourds en général, soit sur le terrain, soit en laboratoire (Sprague et al. 1965, Warnick et Bell 1969).

Des expériences préliminaires utilisant *Hydropsyche betteni* et *Cheumatopsyche analis* ont été réalisées au laboratoire du Département de Biologie de l'Université de Montréal, en utilisant ZnCl_2 et CuSO_4 comme substances toxiques. Les prélèvements sur le terrain ont été faits dans le Miramichi, rivière du Nord du Nouveau Brunswick fortement polluée par des métaux lourds (surtout Zn et Cu). La mesure des paramètres caractérisant le filet a été faite à Karlsruhe sur une espèce abondante aux environs de cette ville, — *Hydropsyche angustipennis*.

METHODES

Les tests réalisés sont statiques, les solutions toxiques n'ayant été dosées qu'au début de l'expérience. Dans le texte, référence est faite aux concentrations initiales : 125, 250, 500 et 1 000 $\mu\text{g Cu/l}$. La diminution des concentrations initiales au cours de la durée des tests (48 heures) dans l'eau de robinet aérée de la ville de Karlsruhe (dureté 7 m val = 350 mg Ca CO_3/l) est montrée dans la figure 1. La température de l'eau s'élevait à $19^\circ \pm 2^\circ \text{C}$. Dans les tests préliminaires,

FIG. 1. — Diminution des quatre concentrations de cuivre appliquées dans les tests statiques de 48 heures. Les symboles indiquent les analyses faites.

res effectués au laboratoire de Biologie de l'Université de Montréal la température atteignait 24 °C. Dans chaque cas, les larves étaient maintenues au laboratoire au moins pendant 24 heures avant d'être utilisées dans les tests.

Au cours de ces expériences, nous avons utilisé des bacs circulaires en résine acrylique et en résine vinylique dans lesquels l'eau était maintenue en mouvement (5-10 cm/seconde) par de petites hélices entraînées par un moteur. Les larves étaient placées dans des logettes de 1 cm de largeur, aux parois internes garnies de graviers et recouvertes d'un mince film de résine noire. 20 larves au minimum étaient utilisées pour une concentration donnée (ou un contrôle). A la fin des expériences, les larves étaient enlevées des logettes en prenant soin d'éviter la destruction des filets. Ces derniers étaient ensuite séchés dans l'air avant d'être photographiés. Une description détaillée de cette procédure a été présentée ailleurs (Décamps et al. 1973, Besch et al. 1977).

Certains filets préalablement exposés à 500 μg Cu/l pendant 24 heures ont été examinés à l'état humide afin d'étudier des structures plus fines que celles observées sur les photographies au microscope d'opération Zeiss. L'appareil utilisé dans ce but était un photo-microscope Zeiss à un grossissement de 40 (objectif) $\times$ 8 (oculaire).

Nos observations ont été limitées à la partie régulière des filets, partie supposée montrer les effets les plus précoces. Deux types de symptômes ont été, en principe, distingués :

1° ceux constatés par comptage : nombre de mailles, nombre d'irrégularités (fil croisant l'autre ou interruption d'un fil) ;

2° ceux constatés par mesure : distance des fils (largeur des mailles), amplitude des angles formés par les fils croisés (angles A-A de la figure 2), pliage des fils (angles A-B de la figure 2, en considérant des parties A et B d'un même fil).

Dans la figure 2, nous avons suivi la nomenclature introduite par Sattler (1958).

Nous avons calculé le nombre de mailles d'un filet en multipliant le nombre des filets B croisant les filets A du milieu par le nombre des filets A croisant les filets B du milieu (*fig. 2*). Les mailles sont calculées séparément pour chaque moitié de filet. Le rapport entre les nombres de mailles de chaque côté du milieu donne une mesure de la symétrie du filet.

Des comptages permettent de rendre compte de la présence de la plupart des irrégularités et de leur amplitude. Par contre, les mesures de tailles de mailles ou d'angles par exemple demandent davantage de temps. Des « irrégularités » peuvent également être parfois observées dans des filets de contrôle (croisement de fils ou interruptions).

FIG. 2. — Filets de contrôle : terminologie utilisée (d'après Sattler 1958). Les angles A—A sont formés par deux fils opposés. Chaque fil est courbé au milieu formant ainsi l'angle A—B. Les fils B continuent les fils A correspondants.

Nous appelons « anomalies » des manifestations qui ne sont jamais observées dans des filets tissés par des larves normales et se trouvant sous des conditions de contrôle. La présence d'une anomalie est donc par elle-même la preuve d'une intoxication.

RESULTATS ET DISCUSSION

Au cours des expériences préliminaires conduites à Montréal, les larves d'*Hydropsyche betteni* et *Cheumatopsyche* cessaient de construire un filet ou, pour la plupart, mouraient pour des concentrations initiales de 1 000 $\mu\text{g Zn/l}$ ou de 1 000 $\mu\text{g Cu/l}$. La figure 3 montre que l'espèce paléarctique utilisée à Karlsruhe produit autant de filets à 250 $\mu\text{g Cu/l}$ qu'aux conditions de contrôle. Le léger accroissement du nombre de filets tissés à 125 $\mu\text{g Cu/l}$ n'est pas significatif. A 500 $\mu\text{g Cu/l}$, la diminution du pourcentage de larves tissant un filet est, au contraire, significative ($p < 0,01$).

FIG. 3. — Le nombre de larves tissant des filets de capture n'est pas un indicateur sensible de la toxicité du cuivre. L'activité de tissage n'est significativement inférieure à celle des conditions de contrôle que pour des concentrations atteignant 500 $\mu\text{g Cu/l}$.

Il est intéressant de noter que le nombre de larves construisant un filet sous des conditions de contrôle est relativement élevé par rapport aux indications données par Philipson et Moorhouse (1974). Selon ces auteurs, à des températures de 18 °C et plus, pour une vitesse de courant égale à 10 cm/s, 25 % seulement des larves construisaient un filet. Ce pourcentage atteignait 50 % en présence d'un courant de 20 cm/s. Or, dans nos bacs circulaires, le courant était maintenu à 5-10 cm/s. On peut penser à un effet stimulant de notre dispositif.

Dans l'évaluation des paramètres caractérisant les filets des *Hydropsyche*, les mesures des angles A-A et A-B sont peu aisées. Elles se sont révélées très décevantes en ce qui concerne les angles A : aucun effet n'a été décelé. On sait, grâce aux recherches fondamentales de Sattler (1958), que les angles A-A deviennent de plus en plus aigus au cours de la construction du filet. Or, ceci n'est pas le cas dans nos expériences. Les angles peuvent devenir plus aigus ou plus obtus ou, dans la plupart des cas, d'abord plus aigus jusqu'au milieu du filet pour devenir ensuite plus obtus. Nous pensons que les observations de Sattler sont correctes et que les angles A-A sont « irréguliers » dans toutes nos expériences, y compris dans les contrôles : il s'agit d'un

artefact dû à la forme artificielle des logettes. D'une part, les larves ne trouvent que très rarement une « logette » aux parois strictement parallèles dans la nature. D'autre part, il leur manque, dans notre dispositif, la possibilité d'attacher les fils A au substrat de sorte qu'ils forment un angle sensiblement inférieur à 80-90 degrés avec l'axe médian du filet.

Il n'en est pas de même pour les angles A-B (nous n'avons pris en considération que les deux angles A-B de chaque côté). L'évaluation des mesures faites aboutit à des résultats très intéressants et révélateurs. Dans un filet symétrique et régulier, la différence entre deux angles A-B situés sur des côtés opposés est normalement très faible, pratiquement nulle. Des différences ne sont que rarement

FIG. 4 et 5. — Filets de contrôle. Les angles A sont encore relativement obtus près de la partie située vers l'amont du filet. Le parallélisme des parois des logettes rend probablement difficile la réalisation d'angle A—A devenant de plus en plus aigus comme cela est normalement le cas selon Sattler (1958). Les fils A des deux côtés sont presque parallèles. Des irrégularités telles que croisements de fils ou interruptions peuvent être observées dans ces filets et dans d'autres filets de contrôle. Mais ceci se produit surtout près du bord du filet de capture. De façon typique pour des filets de contrôle, presque tous les fils sont forts et fermement attachés aux parois des logettes artificielles.

observées dans les filets de contrôle. Mais, selon nos observations, elles étaient beaucoup plus fréquentes et, en général, plus importantes en présence de cuivre. Cela est significatif entre le contrôle et 125 μg

FIG. 6. — Moyennes des différences des angles A—B centraux opposés. Une concentration de 125 μg Cu/l a déjà un effet significatif.

Cu/l ($p \leq 0,2$ selon le test de Mann-Whitney). Le niveau de signification est encore plus élevé entre le contrôle et 250 μg Cu/l ($p \leq 0,007$). La totalité des résultats est résumée dans la figure 6.

Un examen des photos de filets caractérisés par des différences importantes des angles A-B peut apporter quelques renseignements à propos des mécanismes possibles causant cette irrégularité. La figure 7 montre un filet de contrôle caractérisé par une très grande différence des angles A-B opposés du milieu. On constate que la posi-

FIG. 7. — Filet de contrôle avec une différence exceptionnellement grande des angles A — B centraux opposés (25°). Ceci peut être dû à la position oblique du filet par rapport aux parois. Noter encore les fils A solides tous directement et fermement attachés aux parois.

tion du filet est ici oblique par rapport aux parois de la logette artificielle. Ceci vient probablement de ce que la logette n'était pas perpendiculaire au courant pendant le temps de construction du filet. L'irrégularité proviendrait donc des efforts de la larve pour atteindre une position optimale vis-à-vis du courant. Le filet de la figure 8, également caractérisé par un grand écart des deux angles opposés du milieu, a été construit par une larve exposée au cuivre (125 $\mu\text{g/l}$). Les

FIG. 8. — Filet avec grandes différences des angles A — B centraux opposés. Dans ce cas, l'irrégularité est due à l'absence d'attachement ferme au substrat de l'un des deux fils A opposés correspondants ($125 \mu\text{g Cu/l}$).

angles A-B sont relativement obtus aux endroits où les fils A correspondants atteignent la paroi non directement mais par l'intermédiaire d'un câble supplémentaire. Ils sont, par contre, plus aigus lorsqu'existe un ancrage solide et direct à la paroi. Donc, si à un fil ancré correspond, sur le côté opposé, un fil lâchement attaché, il en résulte une différence importante comme cela est le cas sur la figure 8. Même si le fil A est bien ancré à la paroi, une interruption peut aussi entraîner une diminution de la paroi et, par suite, rendre les angles A-B plus obtus. La dissymétrie des angles A-B est donc un effet secondaire provoqué par des défauts du fil A.

Les interruptions des fils (A et B) sont en effet un symptôme typique et très sensible de l'action toxique du cuivre. Le degré de la déformation du filet dépend du nombre des interruptions comme le montrent les figures 9 et 10.

Nous présentons (*fig. 11*) le résultat complet des comptages d'interruptions de tous les filets observés. Des teneurs de $125 \mu\text{g Cu/l}$ ont

FIG. 10. — Fillet fortement déformé par des interruptions de fils ($250 \mu\text{g Cu/l}$). Dans la partie médiane supérieure un petit dépôt de soie (Voir aussi fig. 15 et 16).

FIG. 9. — Fillet modérément déformé par des interruptions de fils ($250 \mu\text{g Cu/l}$).

FIG. 11. — Abscisse : nombre d'interruptions de fils ; ordonnée : pourcentage des spécimens examinés. La différence entre le contrôle et 125 µg Cu/l est significative.

déjà des effets significatifs ($p \leq 0,01$). D'autres irrégularités telles que croisements des fils A et B ne sont significatives qu'à 250 $\mu\text{g Cu/l}$ ($p \leq 0,01$ et $0,04$ respectivement) (fig. 12 et 13). Le nombre de mailles par filet n'est réduit qu'à partir de 500 $\mu\text{g Cu/l}$. L'accroissement des mailles par filet ne s'est pas révélé significatif à 125 $\mu\text{g Cu/l}$ (fig. 14). La symétrie du nombre de mailles à gauche et à droite du médian n'a pas été affectée par les concentrations étudiées.

FIG. 12. — Proportions de filets ayant plus de deux fils A se croisant. n = nombre de spécimens examinés.

FIG. 13. — Proportions de filets dans lesquels des fils B étaient tordus cinq fois et plus les uns entre les autres. n = nombre de spécimens examinés.

Contrairement à ce qui a été observé ici, l'action d'un carbamate insecticide, un poison neurotrope, s'est surtout manifestée par le nom-

bre élevé de croisements des fils A et de la dégradation de la symétrie. Nous pensons que le cuivre agit sur la glande à soie.

FIG. 14. — Nombre moyen de mailles par filet. La différence par rapport au contrôle n'est significative qu'à 500 µg Cu/l. L'augmentation observée à 125 µg Cu/l n'est pas significative.

FIG. 15. — Début de la production de soie dans un filet d'*Hydropsyche angustipennis* exposé pendant 24 heures à 500 µg Cu/l. Les élargissements de fils aux jonctions manquent particulièrement. Aucun élargissement sur l'amas de soie au centre. Nombreux fils latéraux de distribution irrégulière.

Structures fines du filet

Des élargissements existent aux jonctions des fils A et B. Avec ses mandibules, la larve exerce une pression sur le fil lorsque ce dernier est encore frais et mou (Sattler 1958). Ces élargissements sont souvent réduits pour les filets produits sous l'influence du cuivre. On peut supposer que le cuivre produit une solidification trop rapide de la soie qui vient d'être produite.

Une manifestation encore plus marquée de l'intoxication par le cuivre est la production de simples fils sans les moindres élargissements et déposés en forme de simples amas de soie. Ce phénomène doit être considéré comme une anomalie car il n'a jamais été observé dans des conditions de contrôle. Il se pourrait qu'au cours de la préparation microscopique d'un filet, celui-ci s'écroule et apparaisse comme un amas de soie. Cependant, un examen microscopique montre clairement les élargissements dont les fils formant les vrais amas de soie sont dépourvus (*fig. 16 et 17*).

FIG. 16. — Filet de la figure précédente agrandi, en contraste de phase.

A l'aide d'une coloration appropriée, de petits « embranchements » de fils peuvent être observés (*fig. 15 et 16*). Ces embranchements deviennent bleus à la suite d'une coloration d'après May-Grünewald (Romeis 1968, n° 338). Ces embranchements peuvent également être observés dans les filets construits dans les conditions de contrôle, mais ils étaient plus fréquents après un séjour de la larve dans de l'eau contenant 500 µg Cu/l.

FIG. 17. — Filet de contrôle tassé. L'amas ainsi formé est distinguable de celui des figures 15 et 16. Les élargissements des jonctions sont clairement visibles.

CONSIDERATIONS ECOLOGIQUES

Quelle est la signification écologique de nos observations ?

En d'autres termes, quel est le rapport entre les concentrations trouvées nocives au laboratoire et celles permettant encore la survie des populations sur le terrain ?

Les larves de Trichoptères sont généralement très résistantes aux métaux lourds (EIFAC 1973). Cependant, les données citées dans ces rapports s'appuient presque toutes sur les études de laboratoire et des tests de toxicité aiguë utilisant la mortalité (CL_{50}) comme critère principal. Or, dans le Miramichi N.W. (Nouveau Brunswick, Canada), rivière fortement polluée par des métaux lourds, nous avons constaté qu'*Hydropsyche* était absent ou très rare en des endroits où selon Zitko et Carson (1969) la concentration de $Zn + Cu$ atteint ou dépasse $1\,000\ \mu g/l$.

Quelques expériences préliminaires faites à Montréal nous ont montré qu'au-delà des concentrations de $1\,000\ \mu g$ Zn ou Cu seule la construction du filet était supprimée chez *Hydropsyche betteni* et *Cheumatopsyche*. D'après Warnick et Bell (1969), *Hydropsyche* est extrêmement résistant : la CL_{50} de 14 jours s'élève à $32\,000\ \mu g$ Cu/l . Ceci laisserait supposer que l'absence d'*Hydropsyche* dans le Miramichi N. W. est surtout due au manque de nourriture appropriée ou aux autres effets secondaires de la pollution. Nos résultats contredisent cette hypothèse. La résistance apparente doit donc être attribuée aux condi-

tions inappropriées et inhabituelles des expériences (simples fioles en verre avec eau aérée).

Nous supposons que le cuivre est également très toxique pour *Hydropsyche* s'il est absorbé avec la nourriture. Parmi un nombre de pesticides appliqués à des feuilles de mûrier, celles contenant du cuivre se sont révélées être les plus toxiques pour *Bombyx mori* (Trevisan 1964). Des études de toxicologie comparées seraient ici très intéressantes, en utilisant *Hydropsyche* et *Bombyx*, proches d'un point de vue phylogénétique mais écologiquement très différentes.

TRAVAUX CITÉS

- BESCH (W. K.), SCHREIBER (I.) und HERBST (D.). 1977. — Der *Hydropsyche*-Toxizitätstest, erprobt an Fenethcarb. *Schweiz. Zeitschr. Hydrol.*, 39 : 69-85.
- DÉCAMPS (H.), BESCH (W. K.) et VOBIS (H.). 1973. — Influence de produits toxiques sur la construction du filet des larves d'*Hydropsyche* (Insecta, Trichoptera). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 276 D : 375-378.
- EIFAC. 1973. — Rapport sur le zinc et les poissons d'eau douce. Doc. Techn. CECPI 21, Rome : 25 p.
- EIFAC. 1976. — Rapport sur le cuivre et les poissons d'eau douce. Doc. Tech. CECPI 27, Rome : 23 p.
- PHILIPSON (G. N.) and MOORHOUSE (B. H. S.). 1974. — Observations on ventilatory and net-spinning activities of larvae of the genus *Hydropsyche* Pictet (Trichoptera, Hydropsychidae) under experimental conditions. *Freshwater Biol.*, 4 : 525-533.
- ROMEIS (B.). 1968. — *Mikroskopische Technik*. Oldenbourg, München : 16. Aufl., 757 pp.
- SATTLER (W.). 1958. — Beiträge zur Kenntnis von Lebensweise und Körperbau der Larve und Puppe von *Hydropsyche* Pict. (Trichoptera) mit besonderer Berücksichtigung des Netzbaues. *Z. Morph. ökol. Tiere*, 47 : 115-192.
- SIEGEL (S.). 1956. — *Nonparametric statistics*. McGraw-Hill, New York : 312 p.
- SPRAGUE (J. B.), ELSON (P. E.) and SAUNDERS (R. L.). 1965. — Sublethal copper-zinc pollution in a salmon river a field and laboratory study. *Int. J. Air Water Pollut.*, 9 : 531-543.
- TREVISAN (M.). 1963. — Osservazioni sull'azione di alcuni anticriptogamici cuprici cupro-organici sul baco da seta. *Annuario Bacologica di Padova*, 52 : 12 p.
- ZITKO (V.) and CARSON (W. V.). 1969. — Chemical conditions in the North West Miramichi River during 1968. *Fish Res. Bd. Canada*, M. Rpt, Ser. No. 1023.