Université du Québec Institut National de la Recherche Scientifique, INRS-Eau

## COMPORTEMENT FOUISSEUR ET STRUCTURES BIOGÉNIQUES DES INSECTES AQUATIQUES RÉVÉLÉS PAR LA RADIOGRAPHIE (RAYONS-X) DES SÉDIMENTS.

Par

Patrick Charbonneau Baccalauréat en biologie, option écologie

#### Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.) en siences de l'eau, discipline: écotoxicologie, option comportement animal

Jury d'évaluation

Examinateur externe

Examinateur interne

Directeur de recherche

Joseph Rasmussen Département de biologie Université McGill

André Tessier Équipe métaux traces INRS-Eau

Landis Hare Équipe métaux traces INRS-Eau

juillet 1997

© droits réservés de Patrick Charbonneau, 1997



à Violaine

#### PAYSAGE FAUVE

« Les arbres comme autant de vieillards rachitiques, Flanqués vers l'horizon sur les escarpements, Ainsi que des damnés sous le fouet des tourments, Tordent de désespoir leurs torses fantastiques.

C'est l'Hiver; c'est la Mort; sur les neiges arctiques, Vers le bûcher qui flambe aux lointains campements, Les chasseurs vont frileux sous leurs lourds vêtements, Et galopent, fouettant leurs chevaux athlétiques.

La bise hurle; il grêle; il fait nuit, tout est sombre; Et voici que soudain se dessine dans l'ombre Un farouche troupeau de grands loups affamés;

Ils bondissent, essaims de fauves multitudes, Et la brutale horreur de leurs yeux enflammés, Allume de points d'or les blanches solitudes. »

- Émile Nelligan

iv

## REMERCIEMENTS

Cette étude n'aurait pu être réalisée sans la collaboration, de près ou de loin, de plusieurs personnes.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche M. Landis Hare pour son professionnalisme, sa disponibilité, sa confiance ainsi que son encadrement tout au long de cette maîtrise. Un gros merci à M. Richard Carignan qui m'a permis d'utiliser son matériel de laboratoire et de terrain. Sans ces deux hommes, le projet CRX (C: comportement et RX: rayons-X), n'aurait pu voir le jour.

Merci aux techniciens Alain Dionne et Jean-François Houle qui ont aidé au développement de la méthode. Je remercie particulièrement Julie Bernier, Marie-Renée Doyon, Martial Lebrun, Carl Mathieu et René Rodrigue pour leur aide sur le terrain, et leur patience.

Un merci spécial à mon père, le docteur Fernand Charbonneau (Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal) pour son soutien et le prêt d'un système d'éclairage pour radiographie.

Merci à Albert Craig, Joseph Rasmussen et André Tessier pour leurs idées et commentaires judicieux.

Merci à mes collègues de travail et amis Steeve Dufresne, Olivier Errecalde, Éric Gaudreau et Joël Gauthier.

Enfin, l'étude a été réalisée grâce au support financier du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG).



## **AVANT-PROPOS**

Ce mémoire comprend 2 publications auxquelles ont participé Patrick Charbonneau, Landis Hare et Richard Carignan. La contribution des auteurs se répartit comme suit:

- 1. Charbonneau, P., L. Hare et R. Carignan. Use of X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of animals in soft sediments (sous presse dans *Limnology and Oceanography*, # 96-344N).
  - P. Charbonneau: Réalisation du projet, montage du système expérimental, analyse des données, rédaction initiale et finale du manuscrit.
  - L. Hare: Conception du projet et rédaction finale.
  - R. Carignan: Conception du projet et rédaction finale.
- 2. Charbonneau, P. et L. Hare. Burrowing behavior and biogenic structures of muddwelling insects (en préparation).
  - P. Charbonneau: Conception et réalisation du projet, montage du système expérimental, analyse des données, rédaction initiale et finale du manuscrit.

L. Hare: Conception du projet et rédaction finale du manuscrit.

viii

## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	v
AVANT-PROPOS	vii
TABLE DES MATIÈRES	ix
LISTE DES FIGURES	_ xi
LISTE DES TABLEAUX	xiii
SYNTHÈSE	_1
<ul> <li>1- Introduction</li> <li>1.1- Le comportement fouisseur</li> <li>1.2- Les méthodes utilisées pour l'étude du comportement fouisseur des animaux marins et d'eau douc</li> <li>1.3- L'utilisation de la radiographie en géologie et en biologie</li> </ul>	1 1 e 2 3
2- Objectifs	_ 3
3- Matériel et Méthodes         3.1- Le matériel biologique         3.2- Les sédiments, le Mo <sub>2</sub> C et la radiographie (rayons-X)         3.3- Le marquage         3.4- Application in situ	- 4 - 4 - 7 - 9 10
4- Résultats	11
4.1- Méthodes développées	11
4.2- Mesures du développement spatial et temporel des structures biogéniques	15
4.2.1- Formes et caractéristiques des structures biogéniques	15
4.2.2- Évolution spatiale et temporelle des structures biogéniques	19
4.2.3- Rythme de fouissage	_ 21
4.3- Comparaison entre trois espèces de Chironomus spp	- 23 26
5- Discussion	27
5 1- Synthèse des résultats	- 27
511 1- Formes et caractéristiques physiques des structures biogéniques	27
5.1.2- Évolution spatiale et temporelle des structures biogéniques	30
5.1.3- Rythme de fouissage	31
5.2- Perspectives de recherches	32
5.2.1- Biologie et écologie environnementale	32
5.2.1.1- L'influence de variables environnementales sur le comportement fouisseur des insectes	32
5.2.1.2- Applications de la méthode à des animaux autres que les insectes aquatiques	33
5.2.1.3- Ecotoxicologie	_ 33
5.2.2- Biogéochimie	_ 34
5.2.2.1- La bioturbation	_ 34
5.2.2.2- La sédimentation causée par la bioturbation	- 35
5.2.2.3 - La surface des structures biogeniques	- 36
5.2.2.4- Couplage de tecnniques	= 36
5.3 L Mire an garde	- 37
5.3.1- MINE CH BAILUE	= 3/
5.3.2 Les narois des aquariums	- 20
5.5.5 Los parois des aquariums	= 30 38
5.4.1- Les agents de contraste	38

5.4.2- Le marquage des individus	
5.4.3- Échographie (ultrasons)	
5.4.4- Mesures in situ	
5.4.3- La mesure du pourcentage d'eau des sediments (laboratoire et <i>in situ</i> )	
6- Références	
7- Liste des articles du mémoire	
CHAPITRE 1: MÉTHODOLOGIE (Article 1)	
1.1- Résumé	
1.2- Acknowledgments	
1.3- Abstract	
1.4- The use of X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of anim sediments.	mals in soft
1.5- References	
1.6- Figure captions and figures	
CHAPITRE 2: COMPORTEMENT FOUISSEUR ET STRUCTURES BIO	GÉNIOUES
(Article 2)	
2.1- Résumé	
2.2- Acknowledgments	,
2.3- Abstract	
2.4- Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects.	,
2.4.1- Introduction	
2.4.2- Methods	
2.4.3- Results and discussion	
2.4.3.1- Burrow forms and dimensions	
2.4.3.2- Spatial and temporal evolution of biogenic structures	
2.4.3.3- Burrowing rate	
2.4.3.4- Variation among congeners	
2.4.3.5- Application of X-ray images to the study of bioturbation	
2.5- References	
2.6- Figure captions and figures	9
ANNEXES	9
Annexe A: Fiche technique	9
Annexe B: Protocole pour l'addition de carbure de molybdène (Mo <sub>2</sub> C) dans les sé	diments _ 10
Annexe C: Protocole pour le développement des radiographies.	10
Annexe D: Résultat du développement réussit d'une radiographie (Hexagenia lim	bata) 1
Annexe E: Estimation de la bioturbation par Hexagenia limbata.	1
	10
Annexe F: Idee à l'origine du projet CRX.	

## LISTE DES FIGURES

- Figure 2. Montage en laboratoire. Microcosme et disposition pour la radiographie. .....8
- Figure 4. Radiographies montrant l'utilisation du carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C) pour augmenter le contraste entre les sédiments de densité modérée (70% d'eau par unité de poids) et les tunnels de l'éphémère *Hexagenia limbata*: A) aucune addition de Mo<sub>2</sub>C aux sédiments, B) et C) 8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> ajoutés aux sédiments. Les flèches grises marquent les vieilles structures biogéniques (vieux tunnels) et les flèches noires marquent la position des individus marqués, sur le dos du thorax, avec un mélange d'agent contrastant et d'epoxy (Mo<sub>2</sub>C-epoxy).
- Figure 5. Radiographies des structures biogéniques faites par les larves d'insectes de:
  (A) l'éphémère Hexagenia limbata, (B) le mégaloptère Sialis sp., (C) le trichoptère Polycentropus sp., et les chironomides (D) Chironomus spp., (E) Glyptotendipes sp., (F) Procladius (Holotanypus gr.) sp. Les médaillons en E et F sont des dessins provenant des radiographies originales.
- Figure 7. Relation entre la taille moyenne (± erreur-type) des individus de chaque taxa et la longueur moyenne d'un tunnel, ou tube, simple de chacun des taxa.

- Figure 11. Profondeurs moyennes (± erreurs-types), minimales et maximales des tubes de *Chironomus staegeri*, *Chironomus tigris* et *Chironomus (decorus* gr.) sp., après 9 jours dans les sédiments.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Longueur, poids humide (moyenne $\pm$ erreur-type), nombre d'individus et statut trophique (Merritt et Cummins 1996) des 6 genres à l'étude18
Tableau 2.	Taille, poids humide (moyenne ± erreur-type) et nombre d'individus destrois espèces de Chironomus étudiés.23
Tableau E1.	Estimation du volume de sédiments déplacé par l'activité des larves de l'éphémère <i>Hexagenia limbata</i> à partir de 12 études provenant de la littérature
Tableau G1.	Identification et dénombrement des genres et espèces contenus dans les sédiments du boîtier radiographié sur le terrain



## 1-Introduction

### **1.1- Le comportement fouisseur**

Des études en écotoxicologie, en écologie et en comportement animal ont effleuré les domaines du comportement fouisseur chez les animaux aquatiques. Par contre, les études visant principalement ce domaine ne sont pas nombreuses, et il n'existe que peu d'informations sur le comportement fouisseur des insectes aquatiques. Ce type de comportement est très important pour la survie des insectes benthiques; il assure aux animaux une protection relative face à la prédation (Hershey 1985, 1987) et, pour la plupart d'entre eux, il fait partie intégrante du mode d'alimentation (Zimmerman 1977; Macchiusi et Baker 1991; Walshe 1947, 1951). De plus c'est un comportement assez répendu chez les larves, notament chez les chironomides (Ashe *et al.* 1987).

Des données sur le comportement fouisseur et les structures biogéniques des insectes benthiques sont d'une grande utilité, pour déterminer, par exemple, les niches des taxa coexistant dans l'apparente uniformité des sédiments (Downing 1984; Berg 1995; Pinder 1995). Aussi, ces données sont pertinentes pour mieux cerner l'influence des animaux benthiques sur les sédiments (Jónasson 1996). Pour les biogéochimistes, ces données comportementales seraient nécessaires pour quantifier la bioturbation et la bioirrigation; et plus particulièrement pour tenter d'expliquer le profil vertical des éléments nutritifs, des métaux traces et autres éléments retrouvés sous l'interface eau-sédiment (Henriksen *et al.* 1983; Carignan *et al.* 1994; Hare *et al.* 1994).

En écotoxicologie, nous savons que les contaminants influencent le comportement fouisseur (Percy 1977; Pesch *et al.* 1995). Une méthode pouvant nous permettre d'observer les animaux dans les sédiments faciliterait la mesure des effets des polluants sur les organismes benthique. Dans ce contexte, il est important de connaître le comportement des insectes benthiques car il peut influencer l'accumulation des métaux traces (Hare *et al.* 1996) et il pourrait expliquer les différences d'accumulation entre espèces de même genre (Martin 1992). Il est d'autant plus important de connaître ce comportement si ces insectes benthiques sont utilisés comme bioindicateur de la qualité de l'environnement.

# 1.2- Les méthodes utilisées pour l'étude du comportement fouisseur des animaux marins et d'eau douce

En milieux marins des chercheurs ont tracé les structures biogéniques visibles sur les parois transparentes des contenants (Pesch *et al.* 1995; Fenchel 1996). Pour tenter de décrire le comportement des animaux benthiques, on a observé des carottes de sédiments (Cole 1953; Ford 1962; Ouellet 1982; Smith et Schafer 1984). L'étude des tunnels *in situ* des polychètes et des crevettes s'est fait à partir de média liquides (epoxy, plastique liquide, résine, etc.) qui durcissent rapidement et qui donnent, une fois extrait des sédiments, des structures tridimensionnelles (Hill et Hunter 1976; Dworschak et Pervesler 1988; Cadée *et al.* 1994; Lee et Koh 1994; Nickell et Atkinson 1995; Astall *et al.* 1997). Un autre moyen utilisé pour les structures biogéniques non immergées suite au retrait des eaux, est d'excaver les tunnels avec une pelle (Klaassen et Ens 1993). Ces deux dernières méthodes ont le désavantage de ne pouvoir s'appliquer que sur des substrats « durs ». De telles approches sont plus utiles en milieu marin, où les animaux et les structures biogéniques qu'ils forment sont plus gros qu'en milieu d'eau douce.

En eau douce il y a peu de données concernant la forme des tunnels et des tubes, leur profondeur, longueur, largeur et le rythme de fouissage des invertébrés benthiques. Certains chercheurs ont utilisé de l'agar translucide comme substrat pour l'étude du comportement fouisseur de Chironomus sp. (Diptera) (McLachlan et Cantrell 1976). D'autres ont contraint les animaux (Hexagenia limbata et Ephemera danica: Ephemeroptera) à se déplacer dans des aquariums si étroits qu'ils touchaient aux parois afin de les observer (Hunt 1953; Ladle et Radke 1990). Ces méthodes sont peu représentatives du milieu naturel. Développer une nouvelle méthode qui diminue les contraintes d'espace pour les animaux s'avère indispensable si l'on veut connaître le comportement des individus en conditions naturelles, et ainsi avoir une idée de la dynamique cachée des insectes et de leurs impacts sur les sédiments. La technique de la radiographie des sédiments a été choisie pour étudier le comportement et les structures biogéniques des larves d'insectes aquatiques en laboratoire et in situ. Il y a peu de méthode in situ pour étudier le comportement des animaux aquatiques des eaux continentales. On peut conserver les structures biogéniques des insectes qui construisent leurs tubes à l'aide de sécrétions salivaires en congelant des carottes de sédiments (J. B. Rasmussen, comm. pers.). Il suffit d'enlever les sédiments qui entourent les tubes avec un faible jet d'eau et on obtient des structures en trois dimensions prêtent à être photographiées.

### 1.3- L'utilisation de la radiographie en géologie et en biologie

La découverte des rayons-X, par Wilhelm C. Röntgen, remonte à 1895. Les premières applications des rayons-X étaient d'ordre médical et vétérinaire. La première application à titre d'outil de recherche dans d'autres sciences que la médecine s'est faite en paléontologie, pour la recherche de fossiles dans les roches sédimentaires (Hamblin 1962). Par la suite, la radiographie fut utilisée en géologie pour l'étude des roches sédimentaires (Hill et al. 1979) et des sédiments en milieu aquatique (Bouma 1964, 1969; Coleman 1966; Rukavina 1967; Axelsson 1983; Bodbacka 1986). Puis vint enfin son utilisation en océanographie et en limnologie, mais jusqu'à maintenant, la radiographie n'a été que peu utilisée in situ et en laboratoire pour l'étude du comportement fouisseur des animaux. Pour l'étude in situ, des carottes sont extraites des sédiments, puis radiographiées (Håkanson et Källström 1978; Hydes 1982; Ouellet 1982; Rhoads et Boyer 1982; Boyer et Withlatch 1986; Frey et al. 1987). Ces résultats ne donnent qu'une information ponctuelle. D'un autre côté, l'évolution des structures biogéniques d'animaux marins a été observée en laboratoire à l'aide de la radiographie, afin d'avoir une idée de l'impact des animaux sur le remaniement des sédiments marins (Howard 1968; Hill et Hunter 1976).

## 2- Objectifs

L'objectif principal de la présente recherche est de développer et d'appliquer en laboratoire une méthode innovatrice pour l'étude du comportement fouisseur des insectes benthiques, soit la radiographie des sédiments de lac à l'aide d'un agent contrastant. Cette nouvelle méthode diminue les contraintes d'espace (les aquariums utilisés ont des dimensions qui permettent aux animaux de se déplacer plus librement, Chapitre 1) et apporte de l'information aux niveaux spatial (profondeur, largeur, volume et longueur des tunnels et des tubes) et temporel (Chapitre 2). Un deuxième volet à cette méthode consiste à mettre au point un moyen de marquer les individus avec un

agent radio-opaque qui n'affecte pas leur comportement. Dans un troisième temps, la radiographie des sédiments est appliquée sur le terrain.

## **3- Matériel et Méthodes**

#### Définition de certains termes

Afin de mieux comprendre le texte qui suit, une mise au point s'impose au sujet de l'emploi des termes suivants: **tunnel**, **tube** et **structure biogénique**. Le terme **«tunnel»** sera employé pour définir les structures biogéniques d'*H. limbata*, *Sialis* sp., *Polycentropus* sp., *Glyptotendipes* sp. et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. Le terme **«tube»** sera utilisé dans le cas de *Chironomus* spp. La différence réside dans le fait qu'il est possible de manipuler les tubes de *Chironomus* spp. une fois la matrice de sédiment du microcosme détruite, alors que les *tunnels* des autres taxa sont trop fragiles et ne peuvent être manipulés. Les *tubes* du genre *Chironomus* sont constitués de particules sédimentaire et de sécrétions salivaires (Brennan 1980). Les *tunnels* ne peuvent être observés que sur les radiographies. Pour alléger le texte, le terme **«structures biogéniques»** sera employé lorsqu'il n'y aura pas de différenciations faite entre tube et tunnel.

#### 3.1- Le matériel biologique

Les taxa étudiés font partie de 4 ordres (Ephemeroptera, Megaloptera, Trichoptera et Diptera) et de 2 statuts trophiques (prédateur et collecteur). Ce qui suit est une brève description des 6 genres qui ont été étudiés. Les taxa ont été identifiés avec les clés d'identification de Merritt et Cummins (1996) et Wiggins (1996).

L'éphémère Hexagenia limbata (Figure 1A) a un cycle vital variable pouvant s'étendre sur quelques années (Edmunds et Waltz 1996). Ce cycle vital se fait surtout sous la forme larvaire aquatique. Les larves du genre Hexagenia se retrouvent dans les rivières et lacs du territoire québécois (Edmunds et Waltz 1996), où les conditions d'habitat son favorable à son implantation (Rasmussen 1988). Elle est utilisée comme bioindicateur de la qualité de l'eau (Rasmussen 1988; Steingraeber et Wiener 1994). Lorsque les conditions d'habitats sont favorables à sa présence, son absence indique habituellement que le milieu est pollué

(Fremling 1964; Ramade 1992). Étant une source de nourriture importante pour les poissons, les fluctuations de sa densité peuvent avoir un impact économique important au niveau de la pêche sportive (Hunt 1953; Heise *et al.* 1988). Les adultes servent de modèle pour la fabrication de mouches artificielles (Borror et White 1991). Le substrat est le principal habitat de la larve car son comportement est avant tout fouisseur (Lyman 1943; Keltner et McCafferty 1986), bien qu'elle soit une très bonne nageuse (Lyman 1943). Son mode d'alimentation est de type collecteur (Edmunds et Waltz 1996).

Le mégaloptère *Sialis* sp. (Figure 1B) se retrouve en rivières et en lacs. Sa distribution est étendue (Evans et Neunzig 1996). La larve est prédatrice: elle se nourrit de façon non-sélective de larves d'insectes, d'annélides, de crustacés et de mollusques (Evans et Neunzig 1996). Elle possède un comportement fouisseur-grimpeur-accrocheur (Pritchard et Leischner 1973; Evans et Neunzig 1996). Elle est une source de nourriture pour les poissons et est utilisée comme modèle dans la fabrication de leurres (Borror et White 1991). Seul le stade larvaire est aquatique. Les oeufs, les pupes et les adultes sont terrestres (Evans et Neunzig 1996). Chez les autres taxa étudiés, seul les adultes sont terrestres.

La larve du trichoptère *Polycentropus* sp. (Figure 1C) est aussi largement distribuée dans les lacs et rivières de l'Amérique du Nord. Elle est prédatrice; on dit aussi qu'elle peut être omnivore (Wiggins 1996). Elle sert de nourriture à de nombreuses espèces de poissons (Borror et White 1991).

Pour ce qui est des diptères *Chironomus* spp., *Glyptotendipes* sp. et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. (Figure 1D, E et F), ces larves sont toutes lotiques et lentiques et elles sont largement dispersées sur le territoire nord américain (Courtney *et al.* 1996). Elles sont de type fouisseur et leur mode d'alimentation est de type collecteur (Courtney *et al.* 1996). Ces larves servent de nourriture pour les larves prédatrices comme les odonates (Hershey 1987) et pour les poissons (Borror et White 1991). *Chironomus* spp. est un bioindicateur positif de la pollution des eaux douces, c'est-à-dire que sa présence en grande densité est un signe de pollution en éléments nutritifs (phosphore, azote, etc.) (Ramade 1984). La larve est donc dite pollutolérante. Les espèces identifiées dans le genre *Chironomus* spp. du lac St-Joseph sont: *Chironomus staegeri, C. tigris* et *C. (decorus* gr.) sp. L'identification de ces trois espèces s'est

5

faite par analyse génétique en collaboration avec le Dr. M. J. Butler (University of North Dakota).



Figure 1. Taxa à l'étude: A) Hexagenia limbata (Ephemeroptera), B) Sialis sp. (Megaloptera), C) Polycentropus sp. (Trichoptera), D) Chironomus spp. (Diptera), E) Glyptotendipes sp. (Diptera) et F) Procladius (Holotanypus gr.) sp. (Diptera). (Taille moyenne des individus utilisés pour l'étude ± erreur-type).

### 3.2- Les sédiments, le Mo<sub>2</sub>C et la radiographie (rayons-X)

Des essais préliminaires ont démontré que la technique de la radiographie employée seule ne donne pas de bons résultats pour la radiographie de sédiments de faible densité. Il n'y avait pas de contraste entre les sédiments et les structures biogéniques des larves d'insectes. Il fallait donc incorporer un agent contrastant pour augmenter ce contraste. Des essais ont été faits avec le sulfate de baryum (BaSO<sub>4</sub>) (voir Annexe F pour plus de détails), mais c'est le carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C) qui a été retenu pour l'expérimentation. Nous avons déterminé la concentration optimale de carbure de molybdène requise pour augmenter l'opacité des sédiments sans, par contre, les rendre trop radio-opaques, de sorte que l'eau qui remplit les structures biogéniques des insectes soit visible. Le carbure de molybdène a été choisi pour sa haute gravité spécifique et sa faible toxicité pour les organismes aquatiques (voir Chapitre 1).

Les chironomides (*Chironomus* spp.) et les sédiments ont été récoltés à une profondeur de 5m, au lac Laflamme (47°19'N, 71°07'O), situé dans la Forêt Montmorency, près de Québec. Les insectes ont été échantillonnés avec un filet benthique en plongée sousmarine. Les sédiments ont été récoltés au même site à l'aide d'une benne Ekman, en ayant soin de décanter le surplus d'eau (le surnageant au-dessus des sédiments) dans la benne afin de ne pas altérer la densité des sédiments (95 % d'eau par unité de poids).

En laboratoire, les sédiments ont été tamisés pour éliminer les animaux et les gros débris. Puis, ils ont été séparés en 6 lots auxquels nous avons ajouté différentes concentrations de carbure de molybdène (0, 8, 16, 24, 32, 40 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup>). À partir de chaque lot, 2 aquariums étroits ont été préparés. Chaque aquarium contenait donc 2 L de mélange auquel 500 mL d'eau de lac ont été ajoutés pour compléter le volume (Figure 2). Dans chacun des 12 microcosmes, nous avons placé un seul individu du genre *Chironomus* spp. de quatrième stade. La position d'enfouissement et le comportement de la larve ont été notés sur une fiche technique (Annexe A). Les essais se sont déroulés à la noirceur à une température de 10°C sans oxygénation. Des mesures répétées de pH ( $\approx$  6.4) et d'oxygène ( $\approx$  8.3 mg L<sup>-1</sup>) dissous ont démontré que leur valeur ne variait pas dans le temps (Chapitre 1).

Après une période de 3 jours, un film rayon-X a été chargé dans une cassette (porte film). La cassette a été déposée derrière le microcosme et exposée à une radiation à l'aide d'une unité rayon-X portative (Figure 2) dont les paramètres furent préalablement déterminés par essais et erreurs afin d'obtenir des images de qualité (Chapitre 1). Les radiographies ont été développées en chambre noire (voir Annexe C pour protocole).



Figure 2. Montage en laboratoire. Microcosme et disposition pour la radiographie.

L'agent de contraste a aussi été testé dans des sédiments plus fermes (70 % d'eau par unité de poids). Les sédiments et les insectes benthiques provenaient du lac St-Joseph (46°55'N, 71°40'O), près de Québec, à des profondeurs de 3 et 5 mètres. Les insectes benthiques et les sédiments ont été récoltés, traités et placés en laboratoire de la même manière que pour les essais du lac Laflamme. Les meilleurs contrastes ont été obtenus avec une concentration de 8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> de sédiments (pour le lac St-Joseph seulement).

8

Nous avons utilisé les images radiographiques pour mesurer le développement spatial et temporel des structures biogéniques construites par des larves *H. limbata, Sialis* sp., *Polycentropus* sp., *Glyptotendipes* sp. et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. (3 m de profondeur) du lac St-Joseph, choisies de manière à avoir des individus de taille relativement semblable selon les genres. Des microcosmes et 30 L de sédiments mélangés avec du carbure de molybdène (8 g L<sup>-1</sup>) ont été préparés (voir Annexe B pour protocole). Pour chaque microcosme, une radiographie a été prise avant l'introduction de l'individu pour identifier la présence d'artefacts et d'autres radiographies ont été prises par intervalles de 24 heures pendant 3 jours. A chaque prise de radiographie, les changements de condition des sédiments, de la colonne d'eau ou du comportement des individus ont été notés sur une fiche technique. Le développement des radiographies s'est fait en laboratoire à la noirceur totale. La forme et les dimensions des structures biogéniques ont été mesurées directement sur les radiographies à l'aide d'un curvimètre électronique (Chapitre 1).

L'étude a aussi été fait sur trois espèces de chironomide du genre *Chironomus* spp. de quatrième stade, soit *C. staegeri*, *C. tigris* et *C. (decorus* gr.) sp. Les animaux et les sédiments ont été récoltés au même site, à 5 m de profondeur au lac St-Joseph. Les sédiments ont eu le même traitement que celui décrit ci-haut, et le montage en laboratoire est identique. Ici, l'étude s'est échelonnée sur une durée de 9 jours et les radiographies ont été prises par intervalles de 3 jours.

#### 3.3- Le marquage

L'objectif était de développer un marqueur radio-opaque pour localiser les insectes et déterminer leur orientation dans les structures biogéniques. Le défi à surmonter consistait à développer un marqueur qui n'affecte pas le comportement des insectes. L'idée de départ était d'incorporer du carbure de molybdène ou du sulfate de baryum à une colle qui sécherait dans l'eau. Les essais ont été fait avec de la Krazy Glue™, de l'adhésif pour vinyle Olympic™ et de la colle epoxy Lepage™. Avec les deux premières colles, aucun essai n'a été concluant; la colle durcissait trop vite dans un cas, pas assez vite dans l'autre. L'epoxy s'est avéré comme étant le médium le plus facile à manipuler et le plus facile à mélanger avec les deux agents de contraste. Le choix de l'agent

9

contrastant fut facile à faire car des deux agents, c'est le Mo<sub>2</sub>C qui se mélangeait le mieux à l'epoxy. En effet, le Mo<sub>2</sub>C est une poudre très fine et le BaSO<sub>4</sub> se retrouve sous forme de cristaux grossiers. Le carbure de molybdène peut donc s'incorporer à l'epoxy et le mélange présente une surface lisse sur les insectes lorsque le marquage se fait adéquatement, minimisant ainsi tout risque d'interférence entre des aspérités, causées par le marquage, et les parois des tunnels. Les zones de marquage sur les insectes sont les structures rigides qui ne sont pas impliquées dans les déplacements des individus, soit la tête (entre les yeux) et le thorax.

Un individu en processus de marquage était tout d'abord anesthésié dans du Eno<sup>™</sup> (utilisé fréquemment pour les poissons), sorti de l'anesthésiant et son thorax était séché avec un papier buveur. Une goutte fraîchement préparée de mélange Mo<sub>2</sub>C-epoxy était déposée sur le thorax et la larve était retournée dans de l'eau de lac afin qu'elle récupère. Le marquage apparaît comme un point blanc sur les radiographies. Des résultats avec *H. limbata* sont présentés à la Figure 1.2. Des essais ont été faits sur *Chaoborus* sp. mais les manipulations étaient très laborieuses et les sites de marquage sur l'animal étaient trop petits pour la grosseur des gouttes du marqueur Mo<sub>2</sub>C-epoxy. D'autres colles devront être testées pour le marquage de ce diptère.

## 3.4- Application in situ

L'agent contrastant (Mo<sub>2</sub>C) a été testé sur le terrain pour marquer et déterminer la forme et l'identité des structures biogéniques *in situ*. Le plongeur a choisi un site, au lac St-Joseph, où des ouvertures de tunnels ou de tubes étaient visibles à la surface des sédiments. Il a enfoncé avec précaution un boîtier dans les sédiments. Un couvercle a été posé, par l'extérieur, sur le fond du boîtier enfoncé et un mélange de carbure de molybdène et d'eau a été injecté dans les ouvertures des tunnels. L'ouverture supérieure de la carotte a été bouchée par un couvercle et le tout a été remonté à la surface et transporté sur la berge pour y être radiographié. Le boîtier a été retourmé au laboratoire pour l'analyse de son contenu en insectes benthiques (Chapitre 1).

## 4- Résultats

### 4.1- Méthodes développées

La Figure 3 présente les radiographies des essais, avec *Chironomus* spp., de différentes concentrations de carbure de molybdène mélangées à des sédiments de faible densité. On remarque qu'en augmentant la concentration de Mo<sub>2</sub>C, on accroît le contraste entre les sédiments et la colonne d'eau (Figure 3A à F). À de faible concentration d'agent contrastant, les tubes de *Chironomus* spp. sont invisibles ou faiblement visibles (Figure 3A et B). L'addition de 16 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> a fourni le meilleur résultat et présente l'image la plus claire (Figure 3C). On peut ainsi voir que le tube est composé d'une région centrale foncée, entourée d'une zone plus claire correspondant à la paroi du tube composée de sécrétions salivaires de la larve et de particules sédimentaires (Hilsenhoff 1966; Brennan et McLachlan 1979; Brennan 1981; Leuchs et Neumann 1990).



poids) mélangés avec plusieurs concentrations d'agent contrastant, le carbure de molybdène ( en g Mo₂C L<sup>-1</sup>): (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 24, (E) 32, (F) 40. Les flèches marquent la position des tubes. Le tube en (C) est agrandi (≈ 1.5x) (la région pâle près du tube est un artefact suite au développement de la radiographie). Figure 3. Radiographies des tubes faits par Chironomus spp. dans des sédiments de faible densité (95% d'eau par unité de

La Figure 4 présente des essais, avec *H. limbata*, démontrant l'utilité d'ajouter du carbure de molybdène à des sédiments de densité intermédiaire (70 % d'eau par unité de poids). Elle présente également des essais de marquage avec le mélange Mo<sub>2</sub>C-epoxy sur le thorax des nymphes. Malgré le fait que les structures biogéniques d'*H. limbata* soient visibles sans l'agent contrastant (Figure 4A), l'addition de Mo<sub>2</sub>C augmente le contraste entre les sédiments et les tunnels (Figure 4B). Il a été démontré que le carbure de molybdène est très utile pour mettre en évidence les tunnels des petits genres comme les chironomides *Glyptotendipes* sp. et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. (Figure 5E et F) et les détails des vieilles structures biogéniques (comparaison entre les Figures 4A et B). Cette même figure nous présente des points indiqués par des flèches noires, résultats du marquage sur le thorax des nymphes. Le dos des nymphes est pressé contre la paroi supérieure du tunnel, à mi-chemin entre le fond et l'ouverture du tunnel (Figure 4C). Les individus étudiés ne se déplaçaient pas uniquement sur le plancher mais également sur les parois latérales des tunnels (Figure 4B).



Figure 4. Radiographies montrant l'utilisation du carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C) pour augmenter le contraste entre les sédiments de densité modérée (70% d'eau par unité de poids) et les tunnels de l'éphémère *Hexagenia limbata*: A) aucune addition de Mo<sub>2</sub>C aux sédiments, B) et C) 8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> ajoutés aux sédiments. Les flèches grises marquent les vieilles structures biogéniques (vieux tunnels) et les flèches noires marquent la position des individus marqués, sur le thorax, avec un mélange d'agent contrastant et epoxy (Mo<sub>2</sub>C-epoxy).

# 4.2- Mesures du développement spatial et temporel des structures biogéniques

#### 4.2.1- Formes et caractéristiques des structures biogéniques

Des exemples représentatifs de radiographies des structures biogéniques de chaque taxa sont présentés à la Figure 5. Les structures biogéniques de la plupart des taxa ont la forme d'un U sauf pour *Polycentropus* sp. qui présente surtout des tunnels ayant la forme de l ou J.



Figure 5. Radiographies des structures biogéniques faites par les larves d'insectes de: (A) l'éphémère *Hexagenia limbat*a, (B) le mégaloptère *Sialis* sp., (C) le trichoptère *Polycentropus* sp., et les chironomides (D) *Chironomus* spp., (E) *Glyptotendipes* sp., (F) *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. Les médaillons en E et F sont des dessins provenant des radiographies originales. La Figure 6 présente les profondeurs des tunnels, après 3 jours dans les sédiments, de l'Éphémèroptère *H. limbata* en comparaison avec celles d'autres taxa de plus petites tailles comme les Diptères *Glyptotendipes* sp. et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp., ainsi que celles des prédateurs *Sialis* sp. et *Polycentropus* sp.. Dans un but comparatif, les résultats de *Chironomus* spp., qui provient d'une profondeur de 5 m, sont inclus. Comme attendu, cet ensemble de taxa sympatriques présente une grande variabilité de profondeurs de tunnels et de tubes.



Figure 6. Profondeurs moyennes (± erreurs-types), minimales, et maximales des structures biogéniques, après 3 jours, des insectes des taxa suivants: *Hexagenia limbata*, *Sialis* sp., *Polycentropus* sp., *Chironomus* spp., *Glyptotendipes* sp et *Procladius (Holotanypus* gr.) sp.

La Figure 7 présente la relation entre la longueur moyenne d'un seul tunnel, ou tube, en fonction de la longueur moyenne des individus de chacun des genres. La longueur d'un seul tunnel, ou tube, est fortement corrélée avec la longueur des individus des genres. Le poids et la longueur des individus sont présentés dans le tableau 1.

17



- Figure 7. Relation entre la taille moyenne des individus de chaque taxa et la longueur moyenne d'un tunnel, ou tube, simple de chacun des taxa. Les barres d'erreurs sont les erreurs-types.
- Tableau 1.Longueur, poids humide (moyenne  $\pm$  erreur-type), nombre d'individus et<br/>statut trophique (Merritt et Cummins 1996) des 6 genres à l'étude.

Ordre	Genre ou espèce	n	Taille (mm)	Poids humide (mg)	Statut trophique
Ephemeroptera	Hexagenia limbata	23	$\textbf{25.0} \pm \textbf{0.8}$	138.0 ± 10.4	Collecteur
Megaloptera	Sialis sp.	18	11.0 ± 0.8	$15.0\pm3.6$	Prédateur
Trichoptera	Polycentropus sp.	4	9.0 ± 1.2	12.0 ± 1.7	Prédateur
Diptera	Chironomus spp.	37	14.5 ± 0.4	7.0 ± 0.6	Collecteur
	Glyptotendipes sp.	7	11.0 ± 0.2	4.5 ± 0.7	Détritivore
	Procladius sp.	7	$7.5\pm0.3$	$\textbf{2.0} \pm \textbf{0.3}$	Détritivore

## 4.2.2- Évolution spatiale et temporelle des structures biogéniques

La Figure 8 présente des résultats d'évolution spatiale et temporelle des tunnels d'*H*. *limbata*. Une fois le premier tunnel en place, la construction des tunnels subséquents commence sous les sédiments à partir d'une branche d'un tunnel déjà existant. Ce système de tunnels est composée de 3 zones: 1- le tunnel principal, 2- les vieux tunnels obstrués et abandonnés par la larve, et 3- les zones d'excavations qui semblent vraisemblablement résulter de l'activité alimentaire d'*H*. *limbata*. En effet, il a été observé que les larves d'*H*. *limbata* excavent les sédiments pour s'alimenter (Zimmerman et Wissing 1978).



Figure 8. Progression temporelle des tunnels des nymphes Hexagenia limbata (la taille des individus varie entre 22-28 mm en excluant les cerci) illustrant la variabilité individuelle de l'activité de fouissage. Les dessins ont été tracés directement sur les radiographies qui ont été prises par intervalles de 24 heures.

#### 4.2.3- Rythme de fouissage

Le nombre de tunnels construits par les nymphes d'*H. limbata* augmente dans le temps et est plus grand que le nombre construit par tous les autres taxa étudiés. Après une période de 3 jours dans les microcosmes, les nymphes d'*H. limbata* ont construit en moyenne 6 tunnels pendant que les autres taxa en construisaient seulement 2. La Figure 9 illustre le rythme de fouissage des animaux; on note que la longueur cumulative des tunnels après 3 jours chez l'éphémère excède de beaucoup celles des autres taxa. Le plateau observé pour la plupart des taxa n'est probablement pas définitif, l'activité des individus devrait reprendre après un certain temps.



Figure 9. Longueurs cumulatives des structures biogéniques (moyenne ± erreur-type) construits par les larves des 6 taxa étudiés pendant 3 jours.

La Figure 10 présente la distribution des longueurs des structures biogéniques, après 3 jours dans les sédiments, pour les 6 genres étudiés. On observe une grande variation entre les longueurs des tunnels d'*H. limbata* après 3 jours: les valeurs vont de 4 cm à 101 cm. Les autres genres présentent des variations de longueurs de structures biogéniques moins marquées que celles d'*H. limbata*. En comparant *H. limbata* aux autres taxa, on note que 90 % des tunnels des éphémères ont des longueurs de 20 cm après 3 jours alors que pour les autres taxa, 90 % de leurs longueurs de tunnels ou tubes sont inférieures à 10 cm après 3 jours dans les microcosmes.



Figure 10. Distribution des longueurs de structures biogéniques pour 6 genres d'insectes autour d'une médiane. L'extrème gauche de la boîte indique le 75<sup>ième</sup> percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrème droite indique le 25<sup>ième</sup> percentile. La barre d'erreur sur le côté gauche de la boîte indique le 90<sup>ième</sup> percentile alors que celle de droite indique le 10<sup>ième</sup> percentile. Les cercles représentent les points se trouvant à l'extérieur des bornes des 90<sup>ième</sup> et 10<sup>ième</sup> percentiles.
#### 4.3- Comparaison entre trois espèces de Chironomus spp.

La Figure 11 compare les profondeurs des tubes des trois espèces de *Chironomus* spp. Il y a une différence significative entre la profondeur des tubes de *C. staegeri* et des deux autres espèces. Par contre il n'y a pas de différence significative entre la profondeurs des tubes de *C. tigris* et *C. (decorus* gr.) sp. (voir article Chapitre 2 pour test statistique). La taille et le poids moyens des individus sont présentés dans le Tableau 2.



Figure 11. Profondeurs moyennes (± erreurs-types), minimales et maximales des tubes de *Chironomus staegeri*, *Chironomus tigris* et *Chironomus (decorus* gr.) sp., après 9 jours dans les sédiments. Les barres d'erreurs sont les erreurs-types.

Tableau 2.	Taille,	poids	humide	(moyenne	± erreur	-type)	et nombre	d'individus	des	trois
	espèc	es de (	Chironon	nus étudiés						

Ordre	Espèce	n	Taille (mm)	Poids humide (mg)
Diptera	Chironomus staegeri	14	16.0 ± 0.4	$6.5\pm0.6$
	Chironomus tigris	11	$14.5\pm0.6$	9.0 ± 1.1
	Chironomus (decorus gr.) sp.	12	$13.0\pm0.2$	$\textbf{5.5} \pm \textbf{0.4}$

La Figure 12 présente le rythme auquel les trois espèces de *Chironomus* spp. creusent. On observe que les longueurs cumulatives des tubes de *C. staegeri* et *C. tigris* tendent vers un plateau 3 jours après leur introduction dans les microcosmes. L'activité de fouissage de *C. (decorus* gr.) sp., représentée en longueur de tubes, dépasse d'environ 10 cm celle des deux autres chironomides après 9 jours dans les sédiments. Le nombre de tubes construits par les larves après 9 jours (6 tubes pour *C. (decorus* gr.) sp. et 2 tubes pour *C. staegeri* et *C. tigris*) est en relation avec leur rythme de fouissage (voir Chapitre 2 pour test statistique).



Figure 12. Longueur cumulative des tubes (moyenne ± erreur-type) construits par *Chironomus staegeri*, *Chironomus tigris* et *Chironomus (decorus* gr.) sp. pendant 9 jours.

La Figure 13 présente la distribution des longueurs de tubes, après 9 jours, autour d'une médiane pour les 3 espèces de *Chironomus* spp. Encore une fois, ce graphique démontre clairement que l'activité de fouissage de *C. (decorus* gr.) sp. est plus intense que celle des deux autres espèces. En effet, 90 % des tubes de *C. (decorus* gr.) sp. ont une longueur atteignant 11 cm alors que pour *C. tigris* et *C. staegeri*, on note que 90 % des tubes atteignent des longueurs de 4-5 cm. Cinquante pourcent des tubes de *C. (decorus* gr.) sp. ont une longueur de 28 cm tandis qu'on observe des longueurs en dessous de 15 cm pour 50 % des tubes des deux autres espèces.



Figure 13. Distribution des longueurs de tubes pour 3 espèces de *Chironomus* spp. autour d'une médiane. L'extrème gauche de la boîte indique le 75<sup>ième</sup> percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrème droite indique le 25<sup>ième</sup> percentile. Les barres d'erreurs sur les côtés indiquent les 90<sup>ième</sup> (gauche) et 10<sup>ième</sup> (droite) percentiles. Les cercles sont les points se trouvant à l'extérieur des bornes des 90<sup>ième</sup> et 10<sup>ième</sup> percentiles.

#### 4.4- Résultats in situ

La Figure 14 présente une radiographie de structures biogéniques *in situ*. On compare les deux structures *in situ* (ou parties de structures) de la Figure 5 avec les structures biogéniques des 5 taxa étudiés en laboratoire; on en déduit que la plus longue des structures *in situ* a été construite par le trichoptère *Polycentropus* sp. et la plus courte par le diptère *Chironomus staegeri* ou encore par *Polycentropus* sp. De fait, ces deux taxa ont été retrouvés dans l'échantillon du boîtier (Annexe G). Ces résultats démontrent que la combinaison des observations en laboratoire et sur le terrain peuvent permettre à un chercheur d'identifier plusieurs types d'activité de fouissage, d'évaluer leurs effets sur la matrice sédiment et d'identifier à qui appartiennent ces comportements et effets.



Figure 14. Radiographie montrant les structures biogéniques *in situ* de 2 insectes. Les structures sont mises en évidence par l'injection de l'agent de contraste (Mo<sub>2</sub>C) directement sur le terrain.

### **5-Discussion**

#### 5.1- Synthèse des résultats

#### 5.1.1- Formes et caractéristiques physiques des structures biogéniques

Les structures biogéniques de plusieurs taxa ont la forme d'un U. Cette observation a été rapportée pour beaucoup d'insectes aquatiques fouisseurs comme les mégaloptères (Pritchard et Leishner 1973), les éphémères (Hunt 1953; Ladle et Radke 1990; Edmunds et McCafferty 1996) et les chironomides (Walshe 1947, 1951; Hilsenhoff 1966; McLachlan et Cantrell 1976; McLachlan 1977a; Rasmussen 1984; Ferrington 1992). Cependant, une étude rapporte que les chironomides peuvent construire des tubes non seulement en forme de U, mais en forme de I horizontal et de J (McLachlan et Cantrell 1976). Dans le cas des tubes en l'horizontal, ces observations se faisaient sur des sédiments très peu profonds à cause de la construction d'un bassin artificiel où il y avait eu peu de sédimentation. Cette condition se retrouve rarement dans un lac naturel où la sédimentation constante offre une bonne épaisseur de sédiments. Dans le cas des formes en J, aussi observées pour les tunnels de certains mégaloptères (Pritchard et Leischner 1973), il s'agit plutôt de tubes en voie de devenir des U que de tubes en J proprement dit. En effet, l'analyse des radiographies dans le temps a démontré que les animaux continuent de creuser leur tube jusqu'à ce qu'il ait la forme d'un U avec deux ouvertures à la surface des sédiments. Il en va de même pour les genres qui construisent des tunnels. Cependant, chez le chironomide Chironomus anthracinus, la forme caractéristique du tube serait celle d'un cône allongé s'enfonçant verticalement dans les sédiments avec une seule ouverture à la surface (Jónasson 1972, 1996).

Alors que la forme de U est observé chez la plupart des taxa, les tunnels du trichoptère *Polycentropus* sp. avaient généralement la forme d'un I ou d'un J, celle d'un U ayant été observée à une seule occasion. Toutefois, ce comportement fouisseur n'est pas commun à tous les membres du genre *Polycentropus* sp. En effet, des larves de ce même genre, récoltées au lac Laflamme, n'ont pas démontré de comportement fouisseur en laboratoire, mais elles ont construit et ont vécu dans des filets de formation salivaire (Wiggins 1996) à la surface des sédiments. La différence de comportement entre les larves de *Polycentropus* sp. provenant des deux lacs peut être due à une différence

taxonomique entre les larves ou à la différence de densité des sédiments du lac Laflamme (95 % d'eau versus 70 % d'eau au lac St-Joseph) qui ne permettent pas à la larve de maintenir des tunnels. La profondeur du substrat et le type de sédiment peuvent influencer la forme des tunnels construits par un taxon donné (Wallace et Merritt 1980; Berg 1995).

La profondeur des structures biogéniques varie selon les taxa. H. limbata a creusé à une profondeur maximale de 10 cm avec une moyenne de 5.7 cm (± 0.4, err.-t.). Eriksen (1968) a observé une profondeur moyenne de 4.2 cm et Hunt (1953) a noté une profondeur maximale de 12.7 cm pour H. limbata. Pour Chironomus spp. nous avons observé des tubes pouvant atteindre 7.5 cm mais des tubes atteignant 10 à 20 cm de profondeur ont déjà été observé (Milbrank 1973; Timm 1975; McCall et Tevesz 1982; Wang et al. 1994; Jónasson 1996). Dans d'autres études on a observé des chironomides du genre Chironomus à des profondeurs de 6 cm et moins (Kleckner 1967; Stockner et Lund 1970; Milbrank 1973). Hilsenhoff (1966) a noté que la profondeur des tubes varie avec la température des sédiments. En effet, quand les larves se nourrissaient à 10°C, la même température que celle de notre expérimentation, Chironomus plumosus se tenait dans les 8 cm supérieurs des sédiments, mais lorsque les larves se retrouvaient à 5°C, et qu'elles ne se nourrissaient pas, elles pouvaient creuser jusqu'à 51 cm de profondeur. Quelques larves ont déjà été retrouvées à 65 cm de profondeur (Stockner et Lund 1970). Pour Glyptotendipes sp., étant donnée la variabilité du comportement fouisseur, la moyenne de 1.5 cm (± 0.02, err.-t.) et la profondeur maximale de 2 cm que nous avons observées sont en accord avec les 2-3 cm de profondeur observé par Rasmussen (1984). En supposant que la zone oxique des sédiments a une profondeur de 0.5 cm, nous pouvons estimer que la majeure partie de l'activité des chironomides Glyptotendipes sp. et Procladius (Holotanypus gr.) sp. se trouve dans cette zone oxygénée et que le reste de leur activité se fait en milieu anoxique. Les autres taxa étudiés, plus actifs, pénètrent beaucoup plus profondément dans les sédiments anoxiques et la majeure partie de leurs activités s'effectuent dans cette zone très faible en oxygène. Chez les autres espèces de diptères, les larves se retrouvent souvent à des profondeurs variant entre 2 et 10 cm (Minshall 1984; Williams 1984; Rae 1985). Comme les concentrations dissoutes et particulaires de métaux traces tendent à changer avec le potentiel redox (Hare et al. 1994), l'exposition des animaux à

ces contaminants changera selon la profondeur à laquelle ils fouissent. La profondeur à laquelle creuse une larve peut dépendre de sa capacité à irriguer son tunnel, ou son tube, pour obtenir de l'oxygène, ou encore de son adaptation à l'hypoxie. H. limbata a une grande capacité d'irrigation et d'oxygénation grâce au mouvement de ses branchies (Lyman 1943; Eriksen 1963, 1968). Des essais avec des nymphes auxquelles les branchies ont été enlevées démontrent qu'elles ne creusent pas et restent à la surface des sédiments (Hunt 1953). Chironomus sp., quant à lui, est bien adapté à l'hypoxie (Bairlein 1989) grâce à la présence d'hémoglobine dans son hémolymphe (Osmulski et Leyko 1986; Jónasson 1996), à sa capacité d'irriguer son tunnel Leuchs (1986) et à l'accumulation du glycogène pour la respiration anaérobique des larves lors d'un manque sévère en oxygène (Augenfeld 1967; Penttinen et Holopainen 1995; Jónasson 1996). Tout comme les nymphes, les chironomides créent un courant dans leurs tubes pour obtenir de l'oxygène, mais ce courant provient de mouvements ondulatoires de leurs corps (Walshe 1947, 1951). Ce comportement sert aussi à capturer leur nourriture Par contre certains chironomides, comme Chironomus (Walshe 1947, 1951). anthracinus, s'alimentent à la surface des sédiments (Jónasson 1972, 1996).

On note qu'il y a une relation entre la longueur moyenne des individus de chaque genre et la longueur moyenne des tunnels, ou des tubes, simples de ces genres. La plus grande longueur moyenne observée pour un tunnel unique en forme de U est celle d'H. limbata, soit 11 cm. Chironomus spp. présente une longueur moyenne de tube unique égale à 7 cm. Les résultats pour les 3 espèces de Chironomus sont: C. staegeri (7 cm  $\pm$ 0.7 cm, err.-t.), C. tigris (8.5  $\pm$  0.9 cm, err.-t.) et C. (decorus gr.) sp. (6 cm  $\pm$  0.5 cm, err.t.). Des valeurs de longueur de tunnel allant de 3 à 5 cm ont déjà été observées pour Glyptotendipes sp. (Rasmussen 1984) ce qui concorde avec la longueur moyenne de 3.5 cm mesurée sur les radiographies des tunnels de Glyptotendipes sp. Sialis sp. Polycentropus sp. et Procladius (Holotanypus gr.) sp. présentent des longueurs moyennes de tunnels uniques de 4 cm, 3 cm et 2 cm respectivement. Des observations sur le comportement de construction de tubes chez trois espèces de chironomides (Cricotopus sylvestris, Psectrocladius limbatellus et Tanytarsus sp.) ont donné des longueurs de tubes d'environ 1.5 cm (Chaloner et Wotton 1996), mais l'expérimentation se faisait dans une assiette peu profonde dans laquelle étaient déposées les larves et un mélange d'eau et de sédiments, ce qui est loin des conditions naturelles de fond de lac.

La largeur des structures biogéniques est une caractéristique physique importante pour le comportement de déplacement des larves. Elle facilite les mouvements des insectes pour les déplacements avant, pour reculer et pour faire demi-tour dans la lumière du tunnel, ou du tube, sans devoir aller à la surface des sédiments (Hunt 1953). Nous avons noté que chez *Polycentropus* sp., le diamètre des tunnels est 21 % plus large que la largeur du corps des larves, alors qu'il est 18 % plus large pour *Sialis* sp., et 13 % pour les nymphes d'*H. limbata.* Hunt (1953) a démontré que le diamètre des tunnels d'éphémères étaient 33 % plus large que la largeur corporelle des nymphes. Pour ce qui est des chironomides, il y a une grande différence entre les 3 genres de diptère. On note que le diamètre des tubes de *Chironomus* spp. est 36 % plus large que la largeur de leur corps, alors que les largeurs corporelles de *Glyptotendipes* sp. et de *Procladius (Holotanypus* gr.) sp. sont identiques aux diamètres de leurs tunnels. Cependant, cela peut être attribué à la limite de résolution et de mesure des images rayons-X lorsqu'on étudie des individus de petites tailles.

### 5.1.2- Évolution spatiale et temporelle des structures biogéniques

Les dessins des systèmes de tunnels construits par H. limbata révèlent plusieurs aspects inconnus de son comportement. H. limbata a été très étudiée par Hunt (1953) qui n'a jamais observé les nymphes en dehors de leurs tunnels. Nous pouvons confirmer que les nymphes d'H. limbata n'ont pas besoin de sortir des sédiments si les conditions environnementales sont favorables. Elles construisent un tunnel initial et les tunnels subséquents débutent à partir d'une branche du tunnel original sous la surface des sédiments. Elles bloquent certains passages pour n'utiliser qu'un tunnel principal. Les nymphes restent dans un tunnel, sans creuser, pour plusieurs heures avant de recommencer à fouir. Cette stratégie de rester dans les sédiments pendant la construction d'une série de tunnels devrait diminuer l'exposition d'un insecte aux prédateurs et serait donc une stratégie anti-prédateur. Les larves qui ne fouissent pas sont plus susceptibles à la prédation (Hershey et Dodson 1985). En étudiant les nymphes à partir de la surface des sédiments, Hunt (1953) ne pouvait déterminer si H. limbata abandonne son tunnel initial au profit des branches construites par la suite ou si elle utilise tout le système de tunnels. La configuration et l'utilisation des systèmes de tunnels par les larves démontrent des variations spatiales selon les genres. Les larves

de *Sialis* sp. et des chironomides ont un comportement différent de celui d'*H. limbata* dans le fait que les larves ne bloquent pas et n'abandonnent pas les tunnels qu'elles construisent comme le font les nymphes d'*H. limbata*. Le comportement d'*H. limbata* suggère que les nymphes sont restreintes dans leurs activités à une petite portion du système de galeries qu'elles construisent. Comme observé chez le chironomide *Axarus festivus* (Ferrington 1992), le tunnel ou tube principal des larves étudiées peut serpenter horizontalement avant de continuer plus profondément ou de remonter à la surface des sédiments.

#### 5.1.3- Rythme de fouissage

Les résultats du rythme de fouissage démontrent que *H. limbata* semble avoir une activité de fouissage continue même après 3 jours. En fait, nos observations ont démontré que certaines nymphes (n = 3) ont creusé un tunnel à toutes les 2 heures. Les nymphes sont très actives et se nourrissent de sédiments excavés, provenant de la construction du tunnel, pendant le jour et la nuit (Zimmerman et Wissing 1978). Cependant, des radiographies ont établi que des individus (n = 2) sont restés dans le même tunnel pour plusieurs jours. Dans ces deux cas, seule l'activité d'irrigation des tunnels a été notée. Cette activité était visible grâce à un nuage de particules sédimentaires remises en suspension. Cette turbidité est causée par le mouvement des branchies abdominales externes d'*H. limbata* qui expulsent des particules qui proviennent du creusage (Fremling 1967) ou de l'érosion de la structure du tunnel (Lyman 1943).

En analysant la longueur cumulative des structures biogéniques après 3 jours dans les sédiments et la longueur des individus d'un même genre, on remarque qu'il n'y a pas de relation entre ces deux paramètres. Prenons comme exemple *H. limbata* pour illustrer ce résultat. Une nymphe de 28 mm de long a construit un tunnel d'une longueur linéaire totale de 104 cm en 3 jours alors qu'une autre nymphe de même longueur corporelle a construit un tunnel d'une longueur de 17 cm. De même, pour des individus de taille d'environ 20 mm, les longueurs linéaires des tunnels ont varié entre 8 cm et 80 cm. En anlysant les résultats obtenus pour *Sialis* sp. on obtient une longueur de tunnel qui plafonne après 24 heures. Étant une larve prédatrice, on s'attend à ce que le prédateur

31

fouisse activement pour la recherche de proies, mais les larves étudiées ne présentaient pas ce comportement. Il se pourrait alors que les larves de *Sialis* sp. soient des prédateurs qui chassent à l'affût. Des observations sur les larves de *Sialis cornuta* vont en ce sens (Preitchard et Leischner 1973). Cependant, notre étude s'est déroulée sans que *Sialis* sp. ne soit en présence de proies. L'absence de proies a peut-être modifiée le comportement des larves puisqu'elles ne pouvaient détecter aucun mouvement, aucune odeur ni voir aucune autre larve. On pourrait avancer l'hypothèse que les larves étaient moins actives car elles manquaient de ressources alimentaires et qu'elles devaient réduire leur métabolisme pour survivre. Toutefois des observations ont démontré que les larves prédatrices de *Sialis rotunda* et *S. californica* peuvent survivre à une période de plus de 2 mois sans nourriture (Azam et Anderson 1969). Dans notre étude les larves de *Sialis* sp. ont été nourries avec des larves de chironomides en attendant leur introduction dans les microcosmes, donc leur période de jeûne se limitait aux 3 jours de l'expérience. Il en est de même pour les larves de trichoptère *Polycentropus* sp.

Le comportement fouisseur diffère entre chaque individu d'un même genre et il n'y a pas de relation avec le poids ou le sexe des larves (*H. limbata* peut être sexé en notant la présence de 2 forceps et de 2 pénis immatures sur le neuvième segment abdominal chez les mâles et l'absence de ces structures chez les femelles). Par contre, la profondeur des tunnels des larves semble être dépendante du stade larvaire des individus. En effet, Hunt (1953) a observé que les jeunes stades des nymphes d'*H. limbata* se retrouvent dans les premiers centimètres des sédiments alors que les stades plus vieux font des tunnels plus profonds.

#### **5.2- Perspectives de recherches**

#### 5.2.1- Biologie et écologie environnementale

# 5.2.1.1- L'influence de variables environnementales sur le comportement fouisseur des insectes

Le potentiel de la radiographie pour l'étude du comportement fouisseur des animaux dans les sédiments de faible densité a été très peu exploité, en partie à cause du faible contraste entre les structures biogéniques et les sédiments sur les images radiographiques. Cette limite peut être contournée par l'utilisation d'un agent contrastant pour marquer les sédiments et les animaux. L'information obtenue de cette manière peut être couplée avec d'autres techniques et utilisée pour déterminer l'influence 1) des paramètres environnementaux comme la température, l'oxygène dissous, le type et la densité du substrat sur l'activité animale (Lyman 1956; Rossaro 1991; Heinis *et al.* 1994), 2) de la densité de population sur l'activité des individus d'une même espèce (Horst 1976; McLachlan 1977b) ou d'espèces différentes, 3) des prédateurs sur le comportement fouisseur des proies (Hershey 1987; Macchiusi et Baker 1991), 4) des contaminants sur le comportement fouisseur (Pesch *et al.* 1995). En ajoutant un dispositif de respirométrie (Bairlein 1989) à la méthode de radiographie, on pourrait mesurer la demande énergétique de l'activité de fouissage des insectes. On pourrait aussi estimer la demande énergétique de la production de mucus par les larves d'insectes. Chez certains animaux qui semblent creuser plus ou moins continuellement (ex: *Chironomus (decorus* gr.) sp.), le coût de la production de sécrétions salivaires pour la construction des tubes doit utilisé une bonne fraction du budget métabolique, qui dans certains cas pourrait être aussi important que le taux de croissance de l'animal.

# 5.2.1.2- Applications de la méthode à des animaux autres que les insectes aquatiques

La méthode radiographique ne s'arrête pas à l'étude des insectes, mais peut s'appliquer à d'autres animaux d'eau douce comme les annélides aquatiques (Lumbriculidae, Naididae et Tubificidae) et les bivalves (ex: Sphaeriidae), ainsi qu'à toute une gamme d'animaux fouisseurs marins (crevettes, polychètes, bivalves, etc.). Connaître le comportement de ces animaux est un atout très important car ils affectent la qualité des sédiments. Notons les Tubificidae qui ont un impact sur les sédiments; ils peuvent avoir des densités très élevées et transportent la matière organique dégradée d'une profondeur de 10 cm jusqu'à la surface des sédiments (Jónasson 1996), et ils modifient le potentiel redox et le pH des sédiments (Davis 1974) . La méthode des rayons-X peut fort probablement s'appliquer aux espèces terrestres, comme les fourmis, termites, lombrics ou toute autre espèce qui fouit dans le sol.

#### 5.2.1.3- Écotoxicologie

La méthode des rayons-X pourra aussi être utile en écotoxicologie car il faut considérer le comportement fouisseur et alimentaire des insectes benthiques pour pouvoir

33

déterminer leur exposition à des métaux traces dans les sédiments (Hare *et al.* 1994). L'information sur la profondeur à laquelle les insectes se nourrissent est important pour déterminer la concentration de contaminants de leur diète. Il est ainsi possible d'établir une relation entre l'accumulation d'un polluant par un animal et le gradient en concentrations d'un polluant dans les sédiments (Warren, Tessier et Hare, en préparation).

#### 5.2.2- Biogéochimie

#### 5.2.2.1- La bioturbation

Les comportements fouisseur, d'alimentation et d'irrigation des insectes benthiques influencent les propriétés biologiques, physiques et chimiques des sédiments (Hargrave 1975; Granéli 1979a, 1979b; Lawrence *et al.* 1982; McCall et Tevesz 1982; Fukuara et Sakamoto 1987; Reynoldson 1987; Nelepal et Landrum 1988; Frenzel 1990; van de Bund *et al.* 1994; Wang *et al.* 1994; Lawton et Jones 1995; Levinton 1995; Matisoff 1995; Svensson et Leonardsson 1996), et affectent la qualité des données paléoécologiques (Anderson et Odgaard 1994). Le phénomène de la bioturbation affecte aussi la diapause des oeufs et le recrutement de certains copépodes (Kearns *et al.* 1996). Le phénomène de la bioturbation des sédiments par les insectes est connu et assez bien documenté, mais comment évaluer quantitativement l'impact réel du benthos? Grâce à la méthode des images rayons-X, il est possible de quantifier la bioturbation en un volume de sédiments remaniés par les larves benthiques.

Après avoir analysé les radiographies des 6 genres étudiés, il nous apparaissait que *H. limbata* est l'espèce qui a le plus d'impact potentiel sur le remaniement des sédiments du lac St-Joseph. Ayant déterminé le volume des tunnels d'*H. limbata* à 3.9 cm<sup>3</sup> après 24 heures dans les sédiments, et la densité des nymphes étant évaluée à 13 individus m<sup>-2</sup> (Hare, non publié), nous avons évalué la bioturbation faite par *H. limbata* à 52 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> par individu, soit 98% de la bioturbation totale estimée. L'implication des 4 autres genres du littoral (*Sialis* sp., *Polycentropus* sp., *Glyptotendipes* sp. *et P. (Holotanypus)* sp.) s'avère très faible en comparaison avec celle d'*H. limbata*, soit environ 1 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> pour les 4 genres confondus. On note donc une bioturbation de 53 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> pour le littoral et une bioturbation d'environ 1 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> par *Chironomus* 

34

spp. (densité de 18 individus m<sup>-2</sup> et un volume de 0.1 cm<sup>3</sup> par tube après 3 jours) pour la zone profonde du lac St-Joseph. Cependant, ces volumes de sédiment remanié ne tiennent pas compte de toutes les sortes d'organismes qui peuvent être importants pour la bioturbation en milieux lacustres comme les annélides aquatiques (Tubificidae et autres), les crustacés (*Pontoporeia* et *Asellus*) et le diptère *Chaoborus* (Brinkhurst 1986; Tessier *et al.* 1994).

Nous avons évalué le volume de sédiments remaniés par *H. limbata* à partir de densités de cet animal estimées par 13 études sur 20 lacs du Québec (Rasmussen 1988<sup>1</sup>; Hare 1995; Hare, non publié), du Manitoba (Heise et al. 1988), de l'Ohio (Rutter et Wissing 1975; Zimmerman 1977), de l'Oklahoma (Sublette 1953; Craven et Brown 1969), du Dakota du Sud (Swanson 1967), du Michigan (Hunt 1953), du Kansas (Horst et Marzlof 1975), du Texas (Welch et Vodopich 1989) et du Lac Érié, Ontario (Britt 1955). Le résultat est une bioturbation moyenne de 591  $\pm$  125 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> (moyenne  $\pm$  err.-t.) pour une densité moyenne de 160  $\pm$  33 individus m<sup>-2</sup> (Annexe E). Nos estimations de bioturbation sont calculées pour des nymphes se trouvant à 10°C. Ces taux de bioturbation sont probablement plus élevés à des température au-dessus de 10°C (Zimmerman et Wissing 1978).

À l'aide des estimations de la bioturbation, il serait possible d'estimer l'effet de la bioturbation sur le profil des métaux traces comme le Pb et le Hg, des contaminants organiques comme les BPC, et des microfossiles comme les diatomés. Les profils de ces polluants et microfossiles divers sont importants pour les études paléolimnologiques qui visent la reconstruction de l'historique climatique, d'acidification ou de contamination de nos eaux.

#### 5.2.2.2- La sédimentation causée par la bioturbation

En supposant que les sédiments remaniés par le fouissage soient expulsés vers la colonne d'eau par la ventilation des tubes et tunnels, et qu'éventuellement ils sédimentent au fond du lac, il serait intéressant de comparer l'importance de la

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Lorsque les études ne présentaient pas de densités pour les larves d'*H.limbata* mais uniquement un poids humide m<sup>-2</sup>, les densités de ces études ont été estimé en utilisant un poids de 138 mg par individu (tableau 2.1). Notez que l'estimation du volume de sédiment remaniés par *H. limbata* a été évaluée avec le volume calculé à partir des caractéristiques (longueur et largeur) des tunnels mesurées sur les radiographies, soit un volume de 3.9 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> par individu.

bioturbation face à la sédimentation. En sachant que, pour le lac St-Joseph, une bioturbation de 53 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> équivaut à une épaisseur de 0.05 mm m<sup>-2</sup> jour<sup>-1</sup> (~ 18 mm m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup>) de dépôts sédimentaires, il suffit de quantifier la sédimentation naturelle de la matière solide provenant du bassin versant et de la production interne (ex: matière organique) du lac et de comparer les deux phénomènes.

#### 5.2.2.3- La surface des structures biogéniques

On peut aussi calculer la surface des structures biogéniques d'*H. limbata*, qui est de 34 cm<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> par individu après 24 heures dans les sédiments. Donc, pour le lac St-Joseph, on note, pour une densité de 13 nymphes m<sup>-2</sup>, une surface de tunnel de 0.04 m<sup>2</sup>m<sup>-2</sup> et 0.55 m<sup>2</sup>m<sup>-2</sup> pour une densité de 160 nymphes m<sup>-2</sup>. Ici encore, ces estimations sont faites pour une activité de fouissage se faisant à une température de 10°C. Par la bioirrigation, cette surface additionnelle entre en contact avec de l'oxygène et il y a oxydation de sédiments profonds, ce qui modifie le flux des éléments nutritifs et des contaminants. Les tunnels deviennent donc des micro-environnements qui augmentent la surface effective de l'interface eau-sédiment. On y retrouve aussi une activité biologique autour des structures biogéniques (Aller et Aller 1986).

#### 5.2.2.4- Couplage de techniques

La méthode de la radiographie des sédiments peut être très utile en laboratoire. Lorsqu'on veut placer des équipements de mesure pour étudier l'irrigation dans les tunnels et qu'il y a de nombreuses ouvertures à la surface des sédiments, il faut être capable d'identifier le tunnel principal où il subsiste encore de l'activité d'irrigation et le sens du courant. La radiographie des sédiments et le marquage des individus permettent d'identifier le tunnel où se trouve l'animal et l'orientation de cet animal. A partir de ces données on connaît le sens du courant créé par ce-dernier. Ainsi on peut placer une pompe péristaltique à la sortie du tunnel (où le courant sort) pour échantillonner les fluides expulsés et analyser leur physico-chimie (Davey *et al.* 1990). En plaçant des dialyseurs dans le montage où se trouvent les sédiments, on obtient les profils verticaux des éléments chimiques en solution dans l'eau interstitielle. Avec les mesures des profils verticaux et la profondeur des tunnels des animaux on peut tenter d'interpréter les résultats de physico-chimie des fluides expulsés des tunnels. En plaçant un courantomètre à la sortie du tunnel principal et en mesurant les dimensions de ce tunnel (à l'aide de la radiographie), on obtient le débit d'eau qui passe dans le tunnel. Le débit peut être obtenu plus facilement si l'on installe un débitmètre électromagnétique au même endroit (Miron et al. 1994). Toujours en se servant de la radiographie des sédiments pour placer les instruments de mesures, on peut étudier l'effet des polluants sur le comportement de bioirrigation dans les sédiments mêmes. Miron et al. (1994) ont fait l'expérience dans un milieu artificiel: une carotte étroite de sédiment en forme de V. Donc, après avoir déterminé le sens du courant, on injecte le polluant à l'étude à l'entrée du tunnel principal et, à l'aide d'un débitmètre placé à la sortie du courant, on note les fluctuations de débit selon les concentrations de polluant injectées. L'effet des polluants sur le comportement fouisseur peut aussi être évalué. Il suffit d'incorporer différentes concentrations d'un polluant (huile lourde, Pb, Hg, Cd, Cu, etc.) dans les sédiments (Olla et al. 1984; Studholme et al. 1987; Hare et Shooner 1995) d'une série de microcosmes et de prendre des radiographies dans le temps. On compare les radiographies des sédiments contaminés avec les sédiments témoins et on observe si les polluants ont, ou n'ont pas, un effet sur le comportement fouisseur. Il est possible qu'en présence d'une exposition sous-léthal chronique à un polluant, les animaux soit affectés neurologiquement ou physiologiquement et qu'ils dépencent une plus grande fraction de leur budget énergétique pour la fabrication de structures biogéniques aquatiques ce qui pourrait nuire à leur survie et leur fécondité considérablement. Mais ceci n'est que pure spéculation. On sait que des expositions sous-léthales à des métaux tels Al, B, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se et Zn affectent l'éclosion des oeufs, la locomotion, la respiraion, l'alimentation, la croissance, la morphologie, la formation de pupe, l'émergence et l'oviposition des insectes aquatiques (Hare 1992).

#### 5.3- Limites de la méthode

#### 5.3.1- Mise en garde

La méthode des images radiographiques est une méthode qui sera utile autant aux océanographes du benthos marin qu'aux limnologistes. Cette méthode devrait donner un nouvel outil aux chercheurs intéressés aux processus benthiques. Le lecteur de ce mémoire doit par contre garder en tête que la méthode présentée est surtout une application en laboratoire et que les essais sur le terrain sont encore au stade

37

préliminaire. Les résultats en laboratoire présentent donc une infime partie de ce qui doit réellement se passer en milieu naturel car nous avons travaillé avec des individus isolés, neutralisant tous les phénomènes écologiques se retrouvant dans la dynamique complexe d'une communauté aquatique (compétition, prédation, etc.), tout en contrôlant les paramètres environnementaux (température, photo-période, courant, etc.). Cependant la comparaison entre les genres et les espèces devrait être valable.

#### 5.3.2- La taille des animaux

La principale limite rencontrée au cours de l'expérimentation a été la taille des animaux. Aucun problème n'est rencontré lorsqu'on étudie des individus ayant une longueur totale supérieure ou égale à celle de *Procladius (Holotanypus* gr.) sp., soit environ 7 mm. Sous cette taille critique, les résultats des images rayons-X sont très difficiles à analyser car les structures biogéniques ne sont pas bien visibles.

#### 5.3.3- Les parois des aquariums

Bien que nous voulions diminuer la contrainte d'espace pour cette étude de comportement, les parois des microcosmes ont été utilisées par les larves à quelques occasions comme structures intégrantes des parois des tunnels. Suite à des observations personnelles sur des balles de caoutchouc laissées dans les sédiments pendant une année, il a été noté que les insectes se servent, losqu'ils en rencontrent, des obstacles dans les sédiments pour construire leurs tunnels ou tubes. En effet, on pouvait voir très clairement la forme des structures biogéniques des larves sur les balles. A partir de ces observations, nous avons considéré les parois des microcosmes comme des obstacles naturels, comme des pierres, morceaux de bois ou tout autre objet solide pouvant se retrouver dans les sédiments.

### 5.4- Suggestions d'amélioration de la technique de la radiographie

#### 5.4.1- Les agents de contraste

Jusqu'à présent, les essais avec le sulfate de baryum (BaSO<sub>4</sub>), comme agent de contraste alternatif, ce sont concentrés au niveau de son injection, en laboratoire, dans les tunnels et tubes des animaux (Annexe F). Ces résultats obtenus avec le sulfate de

baryum sont prometteurs. Les particules de la suspension de Mo<sub>2</sub>C-H<sub>2</sub>O ont tendance à coller aux parois des structures biogéniques. Pour avoir un bon résultat il faudrait une bioirrigation puissante et continue de la part de l'animal étudié pour que ces particules se dispersent sur toute la longueur du tunnel ou du tube. La suspension de BaSO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O donne de meilleurs résultats mais d'autres essais doivent être entrepris; notamment au niveau de sa concentration idéale dans la suspension injectée et au niveau de la toxicité du sulfate de baryum chez les larves d'insectes. Des essais devraient être fait avec le sulfate de baryum au niveau du mélange avec les sédiments et les deux méthodes (BaSO<sub>4</sub> versus Mo<sub>2</sub>C) devraient être comparées.

#### 5.4.2- Le marquage des individus

Le marquage des individus peut donner beaucoup d'information sur le comportement des animaux à l'intérieur de leurs tunnels (déplacement, orientation, etc.). Pour les gros individus comme *H. limbata*, le marquage est relativement facile à faire. Pour les petits individus (ex: *Chaoborus punctipennis*) les sites de marquage sont très petits et le marqueur Mo<sub>2</sub>C-epoxy est impossible à utiliser. Des alternatives à la colle epoxy peuvent être envisagées. Le vernis à ongle (comme alternatif à la colle epoxy) pourrait être un très bon porteur pour le marqueur radio-opaque. Le monde de la médecine nous offre quelques colles qui sèchent assez rapidement dans un milieu humide, soit la colle à chirurgie et la colle pour les amalgames dentaires. Toutefois, il faut s'assurer que les colles qui seront éventuellement testées et utilisées n'affecteront pas les activités normales des animaux.

#### 5.4.3- Échographie (ultrasons)

Les ultrasons sont généralement employés en radiologie et en cardiologie humaine. Toutefois ces techniques peuvent être utiles en biologie. L'angiographie, habituellement utilisée en cardiologie, a servi à décrire les fonctions cardio-vasculaires chez les crustacés et les mollusques (Haefner 1995; Haefner *et al.* 1996). L'échographie, normalement utilisée pour voir l'état du foetus chez les femmes enceintes, pourrait servir à détecter les animaux se trouvant dans les sédiments de densité trop faible pour que la technique de la radiographie puisse être employée. En envoyant des ultrasons sur un microcosme, on pourrait identifier directement sur un écran de télévision les différences

39

de densité entre les animaux et les sédiments (les animaux ayant une meilleure résonnance aux ultrasons) et ainsi connaître leur position exacte. Il reste à déterminer si la résolution de cette technique est assez puissante pour visualiser de petits organismes de l'ordre de quelques centimètres à quelques millimètres. Déjà que la visualisation d'un foetus et de son orientation, ainsi que l'identification de son sexe sont relativement difficile à faire pour les non-initiés.

#### 5.4.4- Mesures in situ

Afin de diminuer l'effort physique des plongeurs il serait utile de déposer des platesformes lestées dans le fond du lac étudié pour que les plongeurs aillent s'y déposer. Les plates-formes devront être mises en place plusieurs jours à l'avance pour éviter d'avoir des sédiments remaniés, par la mise en place des plates-formes, lors des études *in situ*. En plus de faciliter les mouvements des plongeurs, ces derniers n'auraient aucun contact avec les sédiments. Étant donné que les essais sur le terrain ce sont avérés assez longs (20 à 45 minutes par plongée) cette petite amélioration pourra augmenter la qualité de l'introduction du carbure de molybdène dans les ouvertures de structures biogéniques et donnera de meilleurs résultats sur les radiographies.

#### 5.4.5- La mesure du pourcentage d'eau des sédiments (laboratoire et in situ)

Les tests de densité des sédiments sont très importants, que ce soit en laboratoire ou sur le terrain. Les tests en laboratoire sont nécessaires pour vérifier que la densité *in vivo* soit celle retrouvée *in situ*, pour ainsi avoir une densité la plus représentative possible du milieu naturel. Pour des études sur l'effet de la densité des sédiments sur le comportement des animaux, les tests de densité permettront de vérifier l'exactitude de la densité des sédiments à l'étude. Sur le terrain, les tests de densité peuvent épargner du temps aux plongeurs. Si les tests de pourcentage d'eau révèlent que les sédiments ont une pourcentage inférieure à 60% d'eau par unité de poids, les plongeurs n'auront probablement pas besoin d'injecter du carbure de molybdène dans les ouvertures des tunnels ou tubes. En effet, maintenant nous savons qu'à 70% d'eau par unité de poids, les structures biogéniques principales (où il y a de l'activité animale) sont visibles sans qu'il y ait d'agent contrastant incorporé aux sédiments. Donc à 60% d'eau et moins dans les sédiments, les plongeurs n'auront qu'à extraire les boîtiers de sédiments et la prise de

radiographies se fera sur la berge. On peut ainsi épargner environ 1 heure par boîtier extrait.

### 6- Références

- Aller, J. Y. et R. C. Aller (1986). Evidence for localized enhancement of biological activity associated with tube and burrow structures in deep-sea sediments at the HEBBLE site, western North Atlantic. *Deep Sea Res.* **33**: 755-790.
- Anderson, N. J. et B. V. Odgaard (1994). Recent paleolimnology of three shallow Danish lakes. *Hydrobiologia* **275/276**: 411-422.
- Ashe, P., D. A. Murray et F. Reiss (1987). The zoogeographical distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera). Annales de Limnologie 23: 27-60.
- Astall, C. M., A. C. Taylor et R. J. A. Atkinson (1997). Behavioural and physiological implications of a burrow-dwelling lifestyle for two species of Upogebiid mud-shrimp (Crustacea: Thalassinidea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **44**: 155-168.
- Augenfeld, J. M. (1967). Effects of oxygen deprivation on aquatic midge larvae under natural and laboratory conditions. *Physiol. Zool.* **40**: 149-158.
- Axelsson, V. (1983). The use of X-ray radiographic methods in studying sedimentary properties and rates of sediment accumulation. *Hydrobiologia* **103**: 65-69.
- Azam, K.M. et N. H. Anderson (1969). Life history and habits of Sialis rotunda and S. californica in Western Oregon. Annals of the Entomological Society of America 62 (3): 549-558.
- Bairlein, F. (1989). The respiration of *Chironomus*-larvae (Diptera) from deep and shallow waters under environmental hypoxia and at different temperature. *Arch. Hydrobiol.* **115** (4): 523-536.
- Berg, M. B. (1995). Larval food and feeding behavior. p. 136-168. In: P. Armitage, P. S. Cranston et L. C. V. Pinder [éd.], The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges, Chapman and Hall.
- Bodbacka, L. (1986). Sediment accumulation in Lakes Lilla Ullfjärden and Stora Ullfjärden, Sweden. *Hydrobiologia* 143: 337-342.
- Borror, D. J. et R. E. White (1991). Les insectes de l'Amérique du Nord (au nord du Mexique). Broquet.
- Bouma, A. H. (1964). Notes on X-ray interpretation of marine sediments. *Marine Geology* 2: 278-309.

Bouma, A. H. (1969). Methods for the study of sedimentary structures. Wiley.

Boyer, L.F. et R. B. Withlatch (1989). *In situ* studies of organism-sediment relationships in the Caribou Island Basin, Lake Superior. *J. Great Lake Res.* **15** (1): 147-155.

Brennan, A. (1981). Chironomus. Biologist 28 (3): 133-138.

- Brennan, A. et A. J. McLachlan (1979). Tubes and tube-building in a lotic chironomid (Diptera) community. *Hydrobiologia* 67: 173-178.
- Brinkhurst, R. O. (1986). Guide to the freshwater aquatic microdrile oligochaetes of North America. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 84: 259 p.
- Britt, N. W. (1955). Stratification in western Lake Erie in summer of 1953: effects on the *Hexagenia* (Ephemeroptera) population. *Ecology* **36**: 239-244.
- Cadée, G. C., M. H. Guang, et W. B. Can (1994). Animal traces on a tidal flat in Hangzhou Bay, China. Netherlands J. Sea Res. 32: 73-80.
- Carignan, R., S. St-Pierre et R. Gächter (1994). Use of diffusion samplers in oligotrophic lake sediments: effects of free oxygen in sampler material. *Limnol Oceanogr.* **39** (2): 468-474.
- Chaloner, D. T. et R. S. Wotton (1996). Tube building by larvae of 3 species of midge (Diptera: Chironomidae). J. N. Am. Benthol. Soc. 15 (3): 300-307.
- Cole, G. A. (1953). Notes on the vertical distribution of organisms in the profundal sediments of Douglas Lake, Michigan. *Amer. Midl. Nat.* **49**: 252-256.
- Coleman, J. M. (1966). Ecological changes in a massive fresh-water clay sequence. *Trans. Gulf Coast Assoc. Geological Society* **16**: 159-174.
- Courtney, G. W., R. W. Merritt, H. J. Teskey et B. A. Foote (1996). Aquatic Diptera. Part 1. Larvae of aquatic Diptera. p. 484-514. *In*: R. W. Merritt et K. W. Cummins [éd.], An introduction to the aquatic insects of North America. 3<sup>ieme</sup> éd., Kendall/Hunt Publishing Company.
- Craven, R. E. et B. E. Brown (1969). Ecology of *Hexagenia* naiads (Insecta-Ephemeridae) in an Oklahoma Reservoir. *The American Midland Naturalist* 82 (2): 347-358.
- Davey, J.T., P.G. Watson, R. H. Bruce et P.E. Frickers (1990). An instrument for the monitoring and collection of the vented burrow fluids of benthic infauna in sediment microcosms and its application to the polychaetes *Hediste diversicolor* ans *Arenicola marina*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 139: 135-149.
- Davis, R. B. (1974). Tubicifids alter profiles of redox potential and pH in profundal lake sediment. *Limnol. Oceanogr.* **19**: 342-346.
- Downing, J. A. (1984). Sampling the benthos of standing waters. p 87-130. *In* J. A. Downing et R. H. Rigler [éd.], A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific.

- Dworschak, P. C. et P. Pervesler (1988). Burrows of *Callianassa bouvieri* Nobili 1904 from Safaga (Egypte, Red Sea) with some remarks on the biology of the species. *Senckenbergiana Marit.* **18** (11): 1-17.
- Edmunds, G. F. Jr. et W. P. McCafferty (1996). New fields observations on burrowing in Ephemeroptera from around the world. *Ent. News* **107** (2): 68-76.
- Edmunds, G. F. Jr. et R. D. Waltz (1996). Ephemeroptera. p. 126-163. *In*: W. R. Merritt et K. W. Cummins [éd.], An introduction to the aquatic insects of North America. 3<sup>ième</sup> éd., Kendall/Hunt Publishing Company.
- Eriksen, C. H. (1963). Respiratory regulation in *Ephemera simulans* Walker and *Hexagenia limbata* (Serville) (Ephemeroptera). *J. Exp. Biol.* **40**: 455-467.
- Eriksen, C. H. (1968). Ecological significance of respiration and substrate for burrowing Ephemeroptera. *Can. J. Zool.* **46**: 93-103.
- Evans, E. D. et H. H. Neunzig (1996). Megaloptera and aquatic neuroptera. p. 298-308. *In*: W. R. Merritt et K. W. Cummins [éd.], An introduction to the aquatic insects of North America. 3<sup>ième</sup> éd., Kendall/Hunt Publishing Company.
- Fenchel, T. (1996). Worm burrows and oxic microniches in marinesediments. 1. Spatial and temporal scales. *Marine Biology* **127**:289-295.
- Ferrington, L. C. Jr. (1992). Habitat and sediment preferences of Axarus festivus larvae. Netherlands Journal of Aquatic Ecology 26 (2-4): 347-354.
- Ford, J. B. (1962). The vertical distribution of larval Chironomidae (Dipt.) in the mud of a stream. *Hydrobiologia* **19**: 262-272.
- Fremling, C. R. (1964). Mayfly distribution indicates water quality on the upper Mississippi River. *Science* 146: 1164-1166.
- Fremling, C. R. (1967). Methods for mass rearing *Hexagenia* mayflies. *Trans. Am. Fish.* Soc. **96**: 407-410.
- Frenzel, P. (1990). The influence of chironomid larvae on sediment oxygen microprofiles. Arch. Hydrobiol. **119** (4): 427-437.
- Frey, R. W., J. D. Howard et J. S. Hong (1987). Prevalent Lebensspuren on a modern macrotidal flat, Inchon, Korea: ethological and environment significance. *Palaios* 2: 517-593.
- Fukuhara, H. et M. Sakamoto (1987). Enhancement of inorganic nitrogen and phosphate release from lake sediment by tubificid worms and chironomid larvae. *Oikos* **48**: 312-320.
- Granéli, W. (1979a). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the oxygen uptake of sediment. *Arch. Hydrobiol.* 87 (4): 385-403.

- Granéli, W. (1979b). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the exchange of dissolved substances between sediment and water. *Hydrobiologia* 66 (2): 149-159.
- Haefner, P. A. Jr. (1995). Application of ultrasound technology to crustacean physiology: monitoring cardiac and scaphognathite rates in brachyura. *Crustaceana* **69** (6): 788-794.
- Haefner, P. A. Jr., B. Sheppard, J. Barto, E. McNeil et V. Cappellino (1996). Application of ultrasound technology to molluscan physiology: noninvasive monitoring of cardiac rate in the blue mussel, *Mytilus edulus* Linnaeus, 1758. *Journal of Shellfish Research* 15 (3): 685-687.
- Håkanson, L. et A. Källström (1978). An equation of state for biologically active lake sediments and its implications for interpretations of sediments data. *Sedimentology* **25**: 205-226.
- Hamblin, H. M. K. (1962). X-ray radiography in the study of structures in homogeneous sediments. *Journal of Sedimentary Petrology* **32** (2): 201-210.
- Hare, L. (1992). Aquatic insectsand trace metals: bioavailability, bioaccumulation, and toxicity. *Critical Reviews in Toxicology* **22** (5/6): 327-369.
- Hare, L. (1995). Sediment colonization by littoral and profundal insects. J. N. Am. Benthol. Soc. 14 (2): 315-323.
- Hare, L., R. Carignan et M. A. Huerta-Diaz (1994). A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertabrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.* **39** (7): 1653-1668.
- Hare, L., A. Tessier et P. G. C. Campbell (1996). Prédiction des concentrations en métaux traces chez les invertébrés aquatiques. Rapport de l'INRS-Eau, # R484.
- Hare, L. et F. Shooner (1995). Do aquatic insects avoid cadmium-contaminated sediments? *Environmental Toxicology and Chemistry* **14** (6): 1071-1077.
- Hargrave, B. T. (1975). Stability in structure and function of the mud-water interface. Verh. Internat. Verein. Limnol. 19: 1073-1079.

Harrison, T. R. (1992). Principes de médecine interne. Médecine-Sciences, Flammarion.

- Heinis, F., J. P. Sweerts et E. Loopik (1994). Micro-environment of chironomid larvae in the littoral and profundal zones of Lake Maarsseveen I, The Netherlands. Arch. Hydrobiol. **130** (1): 53-67.
- Heise, B. A., J. F. Flannagan et T. D. Galloway (1988). Production of Hexagenia limbata (Serville) and Ephemera simulans Walker (Ephemeroptera) in Dauphin Lake, Manitoba, with note on weight loss due to preservatives. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45 (5): 774-781.

- Henriksen, K., M. B. Rasmussen et A. Jensen (1983). Effect of bioturbation on microbial nitrogen transformations in the sediment and fluxes of ammonium and nitrate to the overlying water. *Ecol. Bull.* 35: 193-205.
- Hershey, A. E. (1985). Experimental effects of predatory sculpin on the chironomid communities of two arctic littoral zone habitats. *Ecology* **66**: 1131-1138.
- Hershey, A. E. (1987). Tubes and foraging behavior in larval Chironomidae: implications for predator avoidance. *Oecologia* **73**: 236-241.
- Hershey, A. E. et S. I. Dodson (1985). Selective predation by a sculpin and a stonefly on two chironomids in laboratory feeding trials. *Hydrobiologia* 124: 269-273.
- Hill, G. W., M. E. Dorsey, J. C. Woods et R. J. Miller (1979). A radiographic scanning technique for cores. *Marine Geology* 29: 93-106.
- Hill, G. W. et R. E. Hunter (1976). Interaction of biological and geological processes in the beach and nearshore environments, Northern Padre Island, Texas. Society of *Economic Paleontologists and Mineralogists, Beach and Nearshore sedimentation*, Spec. Publ. **24**: 169-187.
- Hilsenhoff, W. L. (1966). The biology of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) in Lake Winnebago, Wisconsin. *Annals of the Entomological Society of America* **59** (3): 465-473.
- Horst, T. J. (1976). Population dynamics of the burrowing mayfly Hexagenia limbata. *Ecology* **57**: 199-204.
- Horst, T. J. et G. R. Marzolf (1975). Production ecology of burrowing mayflies in a Kansas reservoir. Verh. Internat. Verein. Limnol. 19: 3029-3038.
- Howard, J. D. (1968). X-ray radiography for examination of burrowing in sediments by marine invertabrate organisms. *Sedimentology* 11: 249-258.
- Hunt, B. P. (1953). The life history and economic importance of a burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*, in southern Michigan lakes. Michigan Department of Conservation, Bulletin of the institute for fisheries research No. **4**.
- Hydes, D. J. (1982). Animal burrows in deep-sea sediments. Institute of Oceanographic Sciences, Report No. 151, 36 p.
- Jónasson, P. M. (1972). Ecology and production of the profundal benthos in relation to phytoplankton in Lake Esrom. *Oikos*, suppl. 14.
- Jónasson, P. M. (1996). Limits for life in the lake ecosystem. Verh. Internat. Verein. Limnol. 26: 1-33.
- Keams, C. M., N. G. Hairston, Jr. et D. H. Kesler (1996). Particles transport by benthic invertabrates: its role in egg bank dynamics. *Hydrobiologia* **332**: 63-70.

- Keltner, J. et W. P. McCafferty (1986). Functional morphology of burrowing in the mayflies *Hexagenia limbata* and *Pentagenia vittigera*. Zoological Journal of the Linnean Society 87: 139-162.
- Klaasen, M. et B. J. Ens (1993). Habitat selection and energetics of the fiddler crab (Uca tangeri). Netherlands Journal of Sea Research **31** (4): 495-502.
- Kleckner, J. F. (1967). The role of the bottom fauna in mixing lake sediments. Mémoire de maîtrise, Université de Washington, Seatle.
- Ladle, M. et R. Radke (1990). Burrowing and feeding behaviour of the larva of *Ephemera danica* Müller (Ephemeroptera: Ephemeridae). *Entomologist's Gazette* **41**: 113-118.
- Lawrence, G. B., M. J. Mitchell et D. H. Landers (1982). Effects of the burrowing mayfly' *Hexagenia*, on nitrogen and sulfur fractions in lake sediment microcosms. *Hydrobiologia* 87: 273-283.
- Lawton, J. H. et C. G. Jones (1995). Linking species and ecosystems: organisms as ecosystem engineers. p 141-150. *In* C. G. Jones and J. H. Lawton [éd.], Linking species and ecosystems. Chapman and Hall.
- Lee, Y. H. et C. H. Koh (1994). Biogenic sedimentary structures on a Korean mud flat: spring-neap variations. *Netherlands Journal of Sea Research* **32** (1): 81-90.
- Leusch, H. (1986). Die Schlängelaktivität von *Chironomus*larven (Diptera) aus flachen und tiefen Gewässern und die resultierenden Wasserzirkulationen in Abhängigkeit von Temperatur und Sauerstoffangebot. *Arch. Hydrobiol.* **108**: 281-299.
- Leuchs, H. et D. Neumann (1990). Tunnel texture, spinning and feeding behavior of *Chironomus* larvae. *Zool. Jb. Syst.* **117**: 31-40.
- Levinton, J. (1995). Bioturbators as ecosystem engineers: Control of the sediment fabric, inter-individual interactions, and material fluxes. p 29-36. *In* C. G. Jones and J. H. Lawton [éd.], Linking species and ecosystems. Chapman and Hall.
- Lyman, F. E. (1943). Swimming and burrowing activities of mayfly nymphs of the genus Hexagenia. Annals Entomological Society of America 36: 250-256:
- Lyman, F. E. (1956). Environmental factors affecting distribution of mayfly nymphs in Douglas Lake, Michigan. *Ecology* **37** (3): 568-576.
- Macchuisi, F. et R. L. Baker (1991). Prey behavior and size-selective predation by fish. *Freshwater Biology* **25**: 533-538.
- Martin, S. (1992). Études des facteurs influençant l'accumulation de métaux traces (cadmium, cuivre et zinc) chez deux espèces sympatriques d'insecte aquatique (*Chironomus* gr. *plumosus*, spp.). Mémoire de maîtrise, INRS-Eau, Université du Québec, Québec, Canada.

- Matisoff, G. (1995). Effects of bioturbation on solute and particle transport in sediments. p 201-272. In H. E. Allen [éd.], Metal contaminated aquatic sediments. Ann Arbor Press.
- McCall, P. L. et M.J.S. Tevesz (1982). Animal-sediment relations: the biogenic alterations of sediments. Plenum Press.
- McLachlan, A. J. (1977a). Some effects of tube shape on the feeding of *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae). *J. Anim. Ecol.* 46: 139.
- McLachlan, A.J. (1977b). Density and distribution in laboratory populations of midge larvae (Chironomidae: Diptera). *Hydrobiologia* **55** (3): 195-199.
- McLachlan, A. J. et M. A. Cantrell (1976). Sediment development and its influence on the distribution and tube structure of *Chironomus plumosus* L. (Chironomidae, Diptera) in a new impoundment. *Freshwater Biology* **6**: 437-443.
- Merritt, R. W. et K. W. Cummins (1996). An introduction to the aquatic insects of North America. 3<sup>ième</sup> éd., Kendall/Hunt Publishing Company.
- Milbrink, G. (1973). On the vertical distribution of oligochaetes in lake sediments. *Rep. Inst. Freshwater Res. Drottningholm* **53**: 34-50.
- Minshall, G. W. (1984). Aquatic insect-substratum relationships. p. 358-400. *In* V. H. Resh et D. M. Rosenberg [éd.], The ecology of aquatic insects. Praeger.
- Miron, G., V. Brock et E. Kristensen (1994). Effects of mercury on the ventilation behaviour of the polychaete Nereis virens (Sars). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 184: 67-81.
- Nelepal, T. F. et P. F. Landrum (1988). Benthic invertabrates and contaminant levels in the Great Lakes: effects, fates, and role in cycling. p 77-102. *In* M. S. Evans [éd.], Toxic contaminants and ecosystem health: a Great Lakes focus. John Wiley and Sons.
- Nickell, L. A. et R. J. A. Atkinson (1995). Functional morphology of burrows and trophic modes of three thalassinidean shrimp species, and a new approach to the classification of thalassinidean burrow morphology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **128**: 181-197.
- Olla, B. L., A. J. Bejda, A.L. Studholme et W. H. Pearson (1984). Sublethal effects of oiled sediment on the sand worm *Nereis (Neanthes) virens*: induced changes in burrowing and emergence. *Marine Environmental Research* 13: 121-139.
- Ouellet, G. (1982). Étude de l'interaction des animaux benthiques avec les sédiments du chenal laurentien. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Rimouski, Québec, Canada.
- Osmulski, P. A. et W. Leyko (1986). Structure, function and physiological role of *Chironomus* haemoglobin. Comp. Biochem. Physiol. 85B: 702-722.

- Penttinen, O.-P. et I. J. Holopainen (1995). Physiological energetics of a midge, *Chironomus riparius* Meigen (Insecta, Diptera): normoxic heat output over the whole life cycle and response of larva to hypoxia and anoxia. *Oecologia* **103**: 419-424.
- Percy, J. A. (1977). Responses of arctic marine benthic crustaceans to sediments contaminated with crude oil. *Environ. Pollut.* **13**: 1-10.
- Pesch, C. E., D. J. Hansen, W. S. Boothman, W. J. Berry et J. D. Mahony (1995). The role of acid-volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete Neanthes arenaceodentata. *Environmental Toxicology and Chemestry* **14** (1): 129-141.
- Pinder, L. C. V. (1995). The habitats of chironomid larvae. p 107-135. In P. Armitage, P. S. Cranston et L.C.V. Pinder [éd.], The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges. Chapman and Hall.
- Pritchard, G. et T. G. Leischner (1973). The life history and feeding habits of *Sialis cornuta* Ross in a series of abandoned beaver ponds (Insecta; Megaloptera). *Can. J. Zool.* **51**: 121-131.
- Rae, J. G. (1985). A multivariate study of resource partitioning in soft bottom lotic Chironomidae. *Hydrobiologia* **126**: 275-285.
- Ramade, F. (1992). Précis d'écotoxicologie. Coll. d'écologie 22, Masson.
- Rasmussen, J. B. (1984). The life-history, distribution, and production of *Chironomus riparius* and *Glyptotendipes paripes* in a prairie pond. *Hydrobiologia* **119**: 65-72.
- Rasmussen, J. B. (1988). Habitat requirements of burrowing mayflies (Ephemeridae: *Hexagenia*) in lakes, with special reference to effects of eutrophication. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 7 (1): 51-64.
- Reynoldson, T. B. (1987). Interactions between sediment contaminants and benthic organisms. *Hydrobiologia* **149**: 53-66.
- Rhoads, D. C. et L. F. Boyer (1982). The effects of marine benthos on physical properties of sediments: a sucessional perspective, p. 3-52. In: P. L. McCall et Tevesz [éd.], Animal-sediment relations: the biogenic alterations of sediments. Plenum Press.
- Rossaro, B. (1991). Chironomids and water temperature. Aquatic Insects 13: 87-98.
- Rukavina, N. A. (1967). Rapid inspection of soft sediment cores by X-radiography. *Proceedings, Conference on Great Lakes Research, 10<sup>th</sup>*: 143-148.
- Rutter, R. P. et T. E. Wissing (1975). Distribution, abundance, and age structure of a population of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*, in an Ohio pond. *The Ohio Journal of Science* **75** (1): 7-13.

- Smith, J. N. et C. T. Schafer (1984). Bioturbation processes in continental slope and rise sediments delineated by Pb-210, microfossil and textural indicators. *J. Mar. Res.* **42**: 1117-1145.
- Steingraber, M. T. et J. G. Wiener (1994). Bioassessment of benthic contamination in aquatic ecosystems by analyses of emergent *Hexagenia*. *37th Conference of the international association of Great Lakes research and estuarine research federation: program and abstract.*
- Stockner, J. G. et J. W. G. Lund (1970). Live algae in postglacial lake deposits. *Limnol. Oceanogr.* **15**: 41-58.
- Studholme, A.L., A.J. Bejda et B. L. Olla (1987). Changes in burrowing, emergence and feeding of the bloodworm, Glycera dibranchiata (Ehlers), induced by oil contaminated sediment. p. 69-86. *In*: W. B. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurnberg et F.J. Vernberg [éd.], Pollution physiology of estuarine organisms. Belle W. Baruch library in marine science, No. **17**, University of South Carolica Press.
- Sublette, J. E. (1953). The ecology of the macroscopic bottom fauna in Lake Texoma (Denison Reservoir). Thèse de doctorat, Univ. of Oklahoma, Norman.
- Svensson, J. M. et L. Leonardsson (1996). Effects of bioturbation by tunnel-dwelling chironomid larvae on oxygen uptake and denitrification in eutrophic lake sediments. *Freshwater Biology* **35**: 289-300.
- Swanson, G. A. (1967). Factors influencing the distribution and abundance of *Hexagenia* nymphs (Ephemeroptera) in a Missouri River reservoir. *Ecology* **48**: 216-225.
- Tessier, A., R. Carignan et N. Belzile (1994). Processes occuring at the sediment-Water interface: emphasis on trace elements. p. 139-175. *In*: J. Buffle et R. DeVitre [éd.], Chemical and biological regulation of aquatic systems. Lewis Publisher.
- Timm, T. (1975). Zoobenthos of Lake Vortsjarv in 1964-1972. Hydrobiol. Res. Tartu. 6: 165-200.
- van de Bund, W. J., W. Goedkoop et R. K. Johnson (1994). Effects of deposit-feeder activity on bacterial production and abundance in profundal lake sediment. J. N. Am. Benthol. Soc. 13 (4): 532-539.
- Wallace, J. B. et R. W. Merritt (1980). Filter-feeding ecology of aquatic insects. Ann. Rev. Entomol. 25: 103-132.

Walshe, B. M. (1947). Feeding mechanisms of Chironomus larvae. Nature 160: 474.

Walshe, B. M. (1951). The feeding habits of certain chironomid larvae (subfamily Tendipedinae). *Proc. Zool. Soc. Lond.* **121**: 63-79.

- Wang, X. G. Matisoff et P. McCall (1994). Quantitative tracing of sediment mixing and solute transport across the sediment-water interface by chironomids. *37th Conference of the International Association of the Great Lakes Research and Estuarine Research Federation.* International Association of the Great Lakes Research, Buffalo.
- Warren, L. A., A. Tessier et L. Hare (en préparation). An approach to evaluate the relative importance of sediment and water column sources for Cd accumulation by benthic organisms. Soumis à *Limnology and Oceanography*.
- Welch, C. L. et D. S. Vodopich (1989). Production by *Hexagenia limbata* in a warmwater reservoir and its association with chlorophyll content of the water column. *Hydrobiologia* **185**: 183-193.
- Wiggins, G. B. (1996). Larvae of the North American Caddisfly Genera (Trichoptera). 2e éd., University of Toronto Press, Toronto.
- Williams, D. D. (1984). The hyporheic zone as a habitat for aquatic insects and associated arthropods. *In* V. H. Resh et D. M. Rosenberg [éd.], The ecology of aquatic insects. Praeger.
- Zimmerman, M. C. (1977). Aspects of the life history, feeding behavior, and nutritional dynamics of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata* in an Ohio pond. Thèse de doctorat, Miami University.
- Zimmerman, M. C. et T. E. Wissing (1978). The nutritional dynamics of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*. p. 231-257. *In*: J. F. Flannagan et K. E. Marshall [éd.], Advances in Ephemeroptera biology. Plenum. Publ.

### 7- Liste des articles du mémoire

- 1. Charbonneau, P., L. Hare et R. Carignan. Use of X-ray images to study the behavior of animals in soft sediment. Sous presse dans *Limnology and Oceanography.*
- 2. Charbonneau, P. et L. Hare. Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects. En préparation.

### Communication avec arbitrage

Charbonneau, P., L. Hare et R. Carignan (1996). Burrowing behavior of benthic insects as revealed by X-ray images. Société canadienne de limnologie, conférence 1996, Montréal, janvier 1996.

## CHAPITRE 1: MÉTHODOLOGIE (Article 1)

Titre de l'article:

### Utilisation des images rayons-X et d'un agent contrastant pour étudier le comportement des animaux vivant dans les sédiments de faible densité.

par

Patrick Charbonneau, Landis Hare et Richard Carignan

Limnology and Oceanography

2.

#### 1.1- Résumé

Nous avons étudié le comportement fouisseur des animaux vivant dans des sédiments de faible densité à l'aide d'images rayons-X. Le faible contraste entre les structures biogéniques et les sédiments a été augmenté par l'addition d'un composé inerte dense. le carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C). Cet agent contrastant a permis de voir les tunnels et les tubes de petits invertébrés vivant dans des sédiments contenant beaucoup d'eau Nous avons marqué des individus avec l'agent contrastant pour déterminer leur position exacte et leur orientation à l'intérieur des tunnels. Nous avons démontré l'utilité de ces techniques en laboratoire dans de minces microcosmes en décrivant et quantifiant le comportement fouisseur des insectes de plusieurs groupes taxonomiques et modes alimentaires. Nous avons aussi démontré l'utilité de l'agent contrastant sur le terrain en mettant en évidence les structures biogéniques in situ. La combinaison d'observations radiographiques en laboratoire et sur le terrain faciliteraient la description et la quantification du comportement fouisseur. Les connaissances de ce comportement sont importantes pour déterminer l'influence des animaux sur la composition physique et chimique des dépots sédimentaires et pour déterminer l'impact des contaminants sur le fouissage et l'alimentation des animaux benthiques d'eau douce et marins.

Running head: X-ray images used to study benthic behavior

Use of X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of animals in soft sediments

Patrick Charbonneau, Landis Hare\*, and Richard Carignan<sup>1</sup>

Institut national de la recherche scientifique (INRS) - Eau, Université du Québec,

C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada G1V 4C7

\*author to whom correspondence should be addressed.

<sup>1</sup>Present address: Dép. des sciences biologiques, Université de Montréal, C.P.

6128, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

in press Limnology and Oceanography

#### **1.2- Acknowledgments**

We wish to thank Human Resources Development Canada and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada for funding. The Ioan of a radiographic light system by F. Charbonneau and the assistance of J. Bernier, A. Dionne, M.-R. Doyon, J.-F. Houle, M. Lebrun, C. Mathieu, and R. Rodrigue is gratefully acknowledged. Comments on the manuscript were kindly provided by A. Tessier.

#### 1.3- Abstract

We developed a means of observing and recording the burrowing behavior of animals in soft sediments using X-ray images. The poor contrast between animal burrows and sediment was compensated for by the addition to sediment of a dense inert compound, molybdenum carbide. This contrasting agent allowed us to quantify the development in space and over time of burrows made by a variety of small animals, as well as to determine the exact location and orientation of animals in a burrow system. Nymphs of the mayfly Hexagenia are confirmed to be very active burrowers in comparison with other sympatric insect taxa and are thus likely to be key animals in influencing community irrigation and bioturbation rates. The considerable variation observed in the depth of burrows constructed by various taxa could influence their potential exposure to vertically stratified food particles and sedimentary contaminants. We also used the contrasting agent in the field to demonstrate that burrow structures could be observed in situ. The radiographic technique we tested should be useful in determining the influence of animals on the physics and chemistry of sedimentary deposits, as well as the impact of sedimentary contaminants on the burrowing and feeding of benthic animals in either marine or freshwater systems.

# 1.4- The use of X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of animals in soft sediments.

Little is known about the behavior of mud-dwelling animals because they are concealed by the matrix in which they live. An effective means of observing animals in sediment would allow us to better define the niches of taxa coexisting in the apparent uniformity of sediment (Downing 1984; Pinder 1995), as well as to measure the influence of: (i) environmental parameters such as temperature, oxygen and substrate type on animal activity (e.g., Lyman 1956; Rossaro 1991), (ii) population density on the activity of individuals (e.g., Horst 1976), and (iii) predators on prey burrowing behavior (e.g., Hershey 1987). Because the feeding, burrowing, and irrigation activities of macroinvertebrates redistribute dissolved substances and particles near the sedimentwater interface (Davis 1974; Rhoads 1974; Aller and Aller 1986; Fukuhara and Sakamoto 1987; Matisoff 1995), a means of observing animal behavior in sediments would be useful for quantifying the influence of animals on the physical, chemical and microbiological properties of the deposits in which they live. Furthermore, since contaminants can influence burrowing behavior (Percy 1977; Pesch et al. 1995), a means of observing animals in sediment would facilitate the measurement of the sublethal effects of pollutants on benthic organisms.

We wished to study the burrowing behavior of sediment-dwelling insects, chief among which is the large sediment-feeding mayfly *Hexagenia* sp. This animal is of particular interest because, based on the numbers of large openings visible at the surface of littoral sediments (Hunt 1953), as well as the clouds of sediment produced by the feeding and irrigation activity of nymphs (Hare, unpublished), it has the potential to play a major role in bioturbation. We also wished to determine the depth to which this insect and other sympatric taxa burrow to compare their potential relative exposures to sedimentary contaminants, the distributions of which tend to be strongly vertically stratified (Hare *et al.* 1994).

Attempts to describe the behavior of benthic animals have relied on the direct observation of sections of substrate (Cole 1953; Ford 1962; Ouellet 1982; Smith and Schafer 1984) or on resins that harden in water to preserve burrow structure (Dworschak
and Pervesler 1988; Cadée et al. 1994). Such approaches are useful for firm bottom materials, but are of little use in soft muds that cannot be readily manipulated without altering the structure and position of burrows. Less invasive techniques include the observation of portions of burrows through the walls of transparent containers (e.g., Hunt 1953, Pesch et al. 1995), or radiographs of thin aquaria (Howard 1968; Hill and Hunter 1976). The use of radiographs to record burrowing behavior has been limited to sediments of sufficiently high density to contrast with the water-filled animal burrows; lowdensity muds are not amenable to such observations. Radiographic resolution has also been limited by the small size of the burrows constructed by many benthic animals, especially those living in freshwater.

To quantify the burrowing behavior of insects living in soft muds, we developed a means of improving the resolution of radiographic images. We amended sediment with inert, Xray dense, particles that serve to increase the contrast between water-filled burrows and sediment. Molybdenum carbide (Mo<sub>2</sub>C) was chosen as the contrasting agent because of its high specific gravity (= 8.9) and inert character (90 of 96 individuals used in this study were recovered in good condition after feeding freely on sediment containing 8 a Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> for 3 to 12 d). The results of preliminary tests in which baryum sulfate (in wide use for medical purposes) was used as the contrasting agent, suggest that this compound could be substituted for Mo<sub>2</sub>C.

Sediment and insects for our laboratory observations were collected from either one of two Shield lakes near Quebec City, Quebec, i.e., Lake Laflamme (47°19'N, 71°07'W, Chironomus spp., 5 m depth) or Lake St. Joseph (46°55'N, 71°40'W, Chironomus spp., 3 m depth; other taxa, 5 m depth). Benthic insects were collected by divers using an underwater sampling net, sieved from the sediment, and returned to the laboratory in coolers. Sediment was collected at each site with an Ekman grab; care was taken to pour off overlying water so as not to alter sediment density. In the laboratory, sediment was sieved through a 1 mm mesh aperture net to remove resident animals. Two L of sediment amended with the contrasting agent were placed into one of a series of thin (2.5 cm) 2.5 L Plexiglas™ containers (24 x 40 cm), and 0.5 L of lake water was added slowly onto a piece of Styrofoam™ to avoid resuspending sediment. Insect larvae were placed one to a container, and maintained at 10°C, in the dark, without bubbling air. Repeated

measurements showed that the pH and oxygen concentrations of microcosm water did not change over time. X-ray film (Kodak® RP XRP-5) was loaded into a cassette (Kodak® X-Omatic) designed to increase film sensitivity and placed behind a microcosm. Film was exposed with a portable X-ray unit (Kramex® model PX-20N) at settings determined by trial and error to produce good quality images (exposure 0.2 sec at a current of 20 MA and a voltage of 50 KVP from a distance of 40 cm). Radiographs were developed in Kodak® GBX developer and fixer. One radiograph was taken to record the presence of artifacts prior to the introduction of each animal, and other images were taken at various times after introduction (at intervals of 3 d for *Chironomus* spp. and 1 d for the other taxa). Burrow forms and dimensions were measured directly on each radiograph (1:1 scale) using a Pico<sup>™</sup> Run-Mate® curvimeter.

To determine the optimum concentration of the contrasting agent for use in the very liquid sediment collected from Lake Laflamme (95% water by weight), we compared radiographs of Chironomus spp. burrows in sediment amended with various concentrations of Mo<sub>2</sub>C. The higher the concentration of Mo<sub>2</sub>C, the more the sediment contrasted with the overlying water (Fig. 1A to F). At low concentrations of the contrasting agent, the water-filled burrows of Chironomus spp. were either not visible (Fig. 1A, 0 g  $L^{-1}$ ) or faint (Fig. 1B, 8 g  $L^{-1}$ ) against the low-density sediment. The addition of 16 g  $L^{-1}$  of the contrasting agent provided the clearest images of burrow structure (Fig. 1C). For example, a burrow magnified in the lower portion of Figure 1C is clearly seen to be composed of a dark central region, corresponding to its water-filled interior, surrounded by a lighter-colored zone, corresponding to the larva's silk-lined tunnel (Hilsenhoff 1966; Brennan 1981). At higher concentrations of the contrasting agent (24, 32 and 40 g  $L^{-1}$ ) the sediment became so X-ray dense that burrows were no longer clearly visible (Fig. 1D, E, F). In the more firm littoral sediment collected from Lake St. Joseph (70% water by weight), burrows of the mayfly Hexagenia sp. were visible without the contrasting agent. However, the addition of Mo<sub>2</sub>C increased the contrast between sediment and burrows and was especially useful in highlighting the burrows of small genera such as the chironomid Procladius sp. as well as the details of old biogenic structures, e.g., compare Fig. 2A (sediment without the contrasting agent) to Fig. 2B (8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> added to sediment).

Drawings of the burrow systems constructed by nymphs of the mayfly *Hexagenia* sp. (Fig. 3) reveal several previously unknown aspects of its behavior. *Hexagenia limbata* was studied intensively by Hunt (1953), who never observed nymphs outside their burrows. We can confirm that nymphs are not required to leave the sediment, even to construct new burrows; the construction of a new burrow is initiated below the sediment surface from a previous burrow (Fig. 3). Remaining in the sediment would decrease the insect's exposure to predatory fish. Observing nymphs from above the sediment surface, Hunt (1953) was unable to determine if nymphs move frequently among connected burrows within a gallery system or if they occupy a single burrow. Our radiographic images reveal that old burrows are blocked off and abandoned by nymphs (Fig. 3), suggesting that animals are restricted in their activities to a small proportion of the gallery system that they construct. Also evident on the radiographs are sediment-filled excavations along the burrow walls that are likely to be sites of nymph feeding (Fig. 3). Information on the depth at which nymphs feed is important in determining the potential nutrient and contaminant compositions of their diet.

Because an individual *Hexagenia* sp. nymph can construct many burrows over a short span of time (Fig. 3), it is difficult to assign nymphs to a particular burrow. We tested the contrasting agent as a means of marking individuals so that their exact location and orientation could be determined. Marking animals could be useful for determining the burrowing depth of taxa that do not construct distinct tunnels, or for accurately positioning measurement devices above occupied burrows, e.g., to measure irrigation rates. An individual to be marked with the contrasting agent was first anesthetized in Eno<sup>™</sup> (used extensively on fish), marked with a drop of a freshly prepared mixture of Mo<sub>2</sub>C powder in rapid-setting epoxy glue, and held in lake water until it recovered from the anesthetic. The white spot in Figure 2C indicates the position of a mark placed on the dorsum of a nymph's thorax. The animal is positioned at a point midway between the burrow's opening and the U-shaped bottom, with its dorsal side pressed against the inner burrow wall. If required, the head-up or head-down orientation of larvae could be determined by placing marks of two different sizes on the animal's body.

The depth to which animals feed and burrow can influence the depth of the near-surface mixed layer (Matisoff 1995) as well as the exposure of animals to sedimentary

contaminants (Hare *et al.* 1994). In Figure 4, the burrowing depth of the mayfly *Hexagenia* sp. is compared with that of several other sympatric, littoral (3 m) taxa including the small-bodied chironomids *Glyptotendipes* sp. and *Procladius* sp. (Diptera), as well as the large-bodied predators *Sialis* sp. (Megaloptera) and *Polycentropus* sp. (Trichoptera). Included for comparative purposes is data on the chironomid *Chironomus* spp. collected from a somewhat greater depth (5 m). As might be expected, this diverse group of taxa comprises a substantial range of burrow depths (Fig. 4). Assuming an approximate depth for the surface oxic zone of 0.5 to 1 cm, we can estimate that much of the activity of the two small-bodied chironomid taxa *Glyptotendipes* sp. and *Procladius* sp. is restricted to this zone, while the other taxa penetrate some distance into anoxic sediment. Since the concentrations of dissolved and particulate trace metals tend to change with the redox conditions (Hare *et al.* 1994), the exposure of animals to these contaminants is likely to differ depending on the depth to which they burrow.

The relative importance of *Hexagenia* sp. as a bioturbation agent is revealed if we compare the size of its burrows to those of its closest rival *Sialis* sp.. In addition to burrowing deeply into the sediment (Fig. 4), the tunnels of *Hexagenia* sp. nymphs are both wider (0.45 $\pm$ 0.02 versus 0.22 $\pm$ 0.02 cm, respectively) and longer (26 $\pm$ 5 versus 6.6 $\pm$ 1.4 cm, respectively, during 24 h) than those of *Sialis* sp. larvae (mean $\pm$ SE, n = 23 and 18, respectively). Combining our laboratory data on tunnel dimensions with the population densities of the various taxa measured in the field, we estimate that nymphs of Hexagenia sp. would account for 98% of the total volume of sediment displaced during 24 h burrow construction by all taxa (53 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup>).

Because observations in the laboratory should ideally be confirmed and supplemented by observations in the field, we tested the contrasting agent as a means of observing animal behavior in situ. A diver selected a site with burrows visible at the sediment surface (at a 7 m depth in Lake St. Joseph), and carefully pushed an open-ended Plexiglas<sup>™</sup> box (4 x 24 cm on end by 20 cm high) into the sediment. A cover was placed over the bottom of the box from below the sediment surface and a mixture of 1/3 Mo<sub>2</sub>C and 2/3 water was injected by syringe (30 mL) into two burrow openings. A lid was placed on the box and the whole was carefully removed from the sediment and brought to the water surface, where a radiograph was taken onshore. The contents of the box were returned to the

laboratory for the identification of resident animals. Comparison of the two burrows visible in Figure 5 with the burrows of the 5 taxa studied in the laboratory suggests that the longer of the two burrows was made by the caddisfly *Polycentropus* sp. and the shorter burrow was made by either the chironomid *Chironomus* spp. or the caddisfly *Polycentropus* sp. Both of these taxa were found in the sediment collected in the box core. These results suggest that contrasting agent can also be used to study burrowing behavior *in situ* and that the insects we studied behaved in a similar way in the laboratory and in the field.

In conclusion, although animals living in soft substrates are likely to have an important influence on both the texture of sediment and the profiles of nutrients and contaminants, their burrowing behavior is little known because it is hidden by the opaque matrix in which animals live. The potential of X-rays for studying the burrowing behavior of animals in soft substrates has been little exploited, in part because of the low contrast between animal burrows and sediments in radiographic images. We demonstrate that this limitation can be overcome by the use of a contrasting agent to increase the relative density of sediment compared to animal burrows. Although we tested the technique on soft lacustrine muds, it could also be applied to marine substrates. This technique will allow us to better understand and quantify the behavior of benthic animals as well as their impact on the sediment in which they live.

#### **1.5- References**

Aller, J. Y., AND R. C., Aller (1986). Evidence for localized enhancement of biological activity associated with tunnel and burrow structures in deep-sea sediments at the HEBBLE site, western North Atlantic. *Deep Sea Res.* **33**: 755-790.

Brennan, A. (1981). Chironomus. Biologist 28: 133-138.

- Cadée, G. C., M. H. Guang, AND W. B. Can (1994). Animal traces on a tidal flat in Hangzhou Bay, China. *Netherlands J. Sea Res.* **32:** 73-80.
- Cole, G.A. (1953). Notes on the vertical distribution of organisms in the profundal sediments of Douglas Lake, Michigan. Amer. Midl. Nat. 49: 252-256.
- Davis, R. B. (1974). Tubificids alter profiles of redox potential and pH in profundal lake sediment. *Limnol. Oceanogr.* **19:** 342-346.
- Downing, J. A. (1984). Sampling the benthos of standing waters, p. 87-130. *In* J. A. Downing and R. H. Rigler [eds.], A Manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific.
- Dworschak, P. C., AND P. Pervesler (1988). Burrows of *Callianassa bouvieri* Nobili 1904 from Safaga (Egypt, Red Sea) with some remarks on the biology of the species. *Senckenbergiana Marit.* **20:** 1-17.
- Ford, J.B. (1962). The vertical distribution of larval Chironomidae (Dipt.) in the mud of a stream. *Hydrobiologia* **19**: 262-272.
- Fukuhara, H., AND M. Sakamoto (1987). Enhancement of inorganic nitrogen and phosphate release from lake sediment by tubificid worms and chironomid larvae. *Oikos* **48**: 312-320.
- Hare, L., R. Carignan, AND M. Huerta-Diaz (1994). A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertebrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.* **39:** 1653-1668.
- Hershey, A. E. (1987). Tunnels and foraging behavior in larval Chironomidae: implications for predator avoidance. *Oecologia* **73**: 236-241.
- Hill, G. W. et R. E. Hunter (1976). Interaction of biological and geological processes in the beach and nearshore environments, Northern Padre Island, Texas. Society of Economic Paleontologists and Mineralogists, Beach and Nearshore sedimentation, Spec. Publ. 24: 169-187.
- Hilsenhoff, W. L. (1966). The biology of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) in Lake Winnebago, Wisconsin. *Annals of the Entomological Society of America* 59 (3): 465-473.

- Horst, T. J. (1976). Population dynamics of the burrowing mayfly Hexagenia limbata. *Ecol.* **57**: 199-204.
- Howard, J. D. (1968). X-ray radiography for examination of burrowing in sediments by marine invertebrate organisms. *Sedimentol.* **11**: 249-258.
- Hunt, B. P. (1953). The life history and economic importance of a burrowing mayfly, *Hexagenia limbata* in southern Michigan lakes. *Bull. Inst. Fish. Res.* **4:** 1-151.
- Lyman, F. E. (1956). Environmental factors affecting the distribution of mayfly nymphs in Douglas Lake, Michigan. *Ecol.* **37**: 568-576.
- Matisoff, G. (1995). Effects of bioturbation on solute and particle transport in sediments, p. 201-272. *In* H.E. Allen [ed.], Metal contaminated aquatic sediments. Ann Arbor Press.
- Ouellet, G. (1982). Étude de l'intéraction des animaux benthiques avec les sédiments du chenal laurentien. Master thesis, Univ. du Québec à Rimouski, Rimouski, Québec.
- Percy, J. A. (1977). Responses of arctic marine benthic crustaceans to sediments contaminated with crude oil. *Environ. Pollut.* **13:** 1-10.
- Pesch, C. E., D. J. Hansen, W.S. Boothman, W. J. Berry, J. D. Mahoney (1995). The role of acid-volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete, *Neanthes arenaceodentata*. *Environ. Toxicol. Chem.* **14**: 129-141.
- Pinder, L. C. V. (1995). The habitats of chironomid larvae. p. 107-135. *In* P. Armitage, P. S. Cranston and L. C. V. Pinder [eds.], The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges. Chapman and Hall.
- Rhoads, D. C. (1974). Organism-sediment relations on the muddy sea floor. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 12: 263-300.

Rossaro, B. (1991). Chironomids and water temperature. Aquatic Insects 13: 87-98.

Smith, J. N., AND C. T. Schafer (1984). Bioturbation processes in continental slope and rise sediments delineated by Pb-210, microfossil and textural indicators. J. Mar. Res. 42: 1117-1145.

#### **1.6- Figure captions and figures**

- Fig. 1. Radiographs of burrows (arrows) made by the insect *Chironomus* spp. in lowdensity sediment (95% water by weight) amended with various concentrations of the contrasting agent molybdenum carbide (in g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup>): (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 24, (E) 32, (F) 40. The burrow in (C) is enlarged (≈1.5 x) in the lower portion of the strip (the light-colored region to the right of the tunnel is a development artifact).
- Fig. 2. Radiographs showing the use of molybdenum carbide (Mo<sub>2</sub>C) to enhance the contrast between sediment of moderate density (70 % water by weight) and burrows of the mayfly *Hexagenia* sp.: A) no Mo<sub>2</sub>C added to sediment, B and C) 8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup> added to sediment. Gray arrows in A and B mark old biogenic structures while the black arrows in A and C mark the positions of individual mayfly nymphs on which a spot of contrasting agent has been painted on the dorsum of their thorax.
- Fig. 3. Temporal progression in burrow structures of three *Hexagenia* sp. nymphs (22-28 mm in length excluding cerci) illustrating individual variation in burrowing activity over three days. Drawings are direct tracings of radiographs.
- Fig. 4. Mean, minimum, and maximum depths of burrowing, after three days in sediment, of insects of the following orders: the mayfly *Hexagenia* sp. (Ephemeroptera, n = 23), the alderfly *Sialis* sp. (Megaloptera, n = 18), the caddisfly *Polycentropus* sp. (Trichoptera, n = 4), and the chironomids *Chironomus* spp., *Glyptotendipes* sp. and *Procladius* sp. (Diptera: n = 37, 7, and 7, respectively). Mean individual wet weights (mg ±SE) are given above the bars for each taxon.
- Fig. 5. Radiograph showing two insect burrows *in situ*, as highlighted by the direct addition of the contrasting agent in the field.







Figure 2.



Figure 3.



Figure 4.



Figure 5.

### CHAPITRE 2: COMPORTEMENT FOUISSEUR ET STRUCTURES BIOGÉNIQUES (Article 2)

Titre de l'article:

# Comportement fouisseur et structures biogéniques des insectes aquatiques

par

Patrick Charbonneau et Landis Hare

En préparation pour soumission à:

Journal of North American Benthological Society

ou

**Freshwater Biology** 

ou

Limnology and Oceanography



75

#### 2.1- Résumé

Nous avons utilisé les rayons-X pour étudier le comportement fouisseur de quatre ordres d'insectes aquatiques (Ephemeroptera, Megaloptera, Trichoptera et Diptera). Les tunnels et tubes de la plupart des taxa étudiés ont la forme d'un U. sauf pour les larves de Polycentropus sp. qui peuvent construire des tunnels à formes de I ou de J. La plupart des taxa creusent des nouvelles branches à partir de structures biogéniques déjà existantes, minimisant ainsi leur exposition aux prédateurs potentiels. Cette stratégie peut être considéré comme étant une stratégie anti-prédateur. Les nymphes d'Hexagenia limbata excèdent les autres taxa étudiés que se soit dans leurs profondeurs et leurs longueur de tunnels, ou leurs taux de creusage. Ces résultats suggèrent que les nymphes d'H. limbata sont des animaux-clés dans l'influence de l'irrigation et du taux de bioturbation que nous avons estimés. Les nymphes d'H. limbata sont responsable de 98% du volume de sédiments remaniés par les insectes littoraux du lac étudié. Des observations chez trois espèces du genre Chironomus ont démontré qu'il y a des différences au niveau des structures biogéniques et au niveau de l'activité de fouissage. Les résultats de notre études illustrent bien la variabilité du comportement fouisseur et l'impact potentiel des insectes fouisseurs sur les dépôts sédimentaires.

Running head: Burrowing behavior of insects.

Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects

Patrick Charbonneau and Landis Hare\*

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

\*author to whom correspondence should be addressed.

to be submitted for publication in Journal of North American Benthological Society or Freshwater Biology or

Limnology and Oceanography

#### 2.2- Acknowledgments

We would like to thank Human Resources Development Canada and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada for funding. The Ioan of a radiographic light system by F. Charbonneau and the assistance of M.-R. Doyon, J.-F. Houle and R. Rodrigue is gratefully acknowledged.

#### 2.3- Abstract

We used X-rays to study the burrowing behavior of several orders of aquatic insects (Ephemeroptera, Megaloptera, Trichoptera and Diptera). The burrows of most of the taxa studied are U-shaped. Exceptionally larvae of the caddisfly *Polycentropus* sp. constructed I- or J-shaped burrows. Most taxa begin new branches from preexisting burrows obviating the need for the animals to leave the sediments, thereby minimizing their exposure to potential predators. This behavior can be considered as an antipredator strategy. Nymphs of the mayfly *Hexagenia limbata* exceeded all other taxa studied, in terms of the depth and length of their burrows and their burrowing rate. Nymphs of *H. limbata* appear to be key animals in influencing community irrigation and bioturbation rates we estimated. The activity of *H. limbata* nymphs is responsible for 98% of the volume of sediment disturbed by littoral insects in our study lake. Observations on 3 species of *Chironomus* demonstrated differences in biogenic structures and burrowing rates. Results of our study illustrate the variability in burrowing behavior among genera and species, and the potential impact of burrowing insects on sedimentary deposit.

## 2.4- Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects.

#### 2.4.1- Introduction

Information on the depth, and form of animal burrows, as well as the rate at which they are constructed, is important in defining the niches of taxa coexisting in the apparent uniformity of sediment (Downing 1984; Berg 1995; Pinder 1995). Behavioral information is also important in the design of realistic models on the effects of benthic animals on surficial sediments. Because the feeding, burrowing, and irrigation activities of macroinvertebrates redistribute particles and fluids near the sediment-water interface, animals can strongly influence the physical, chemical, and microbiological properties of the sedimentary deposits in which they live (Davis 1974; Rhoads 1974; Aller and Aller 1986; Matisoff 1995).

Information on biogenic structures and the behavior of insects in soft sediments is very limited because animal activities are hidden by the matrix in which they live. Approaches useful for observing animal activities in firm bottom materials are generally of little use in soft muds that cannot be readily manipulated without altering the structure and position of burrows. Resins and plastics that harden in water have been used to preserve burrow structure in firm marine sediment (Dworschak and Pervesler 1988; Cadée et al. 1994) but are likely to be of little use in the very liquid profundal muds typical of lakes. The distribution of animal burrows in the field has been determined by collecting and describing sections of substrate (Cole 1953; Ford 1962; Ouellet 1982; Smith and Schafer 1984). In the laboratory, the burrowing behavior of marine animals has been recorded through the walls of transparent containers (Pesch et al. 1995) or by radiographs of thin aquaria (Howard 1968). The use of radiographic images to record burrowing behavior is limited to sediments of sufficiently high density to contrast with the water-filled animal burrows; low-density muds are not amenable to such observations. Radiographic resolution is also limited by the size of animals, and the burrows of many common freshwater invertebrates such as tubificid oligochaetes and chironomid insects are likely to be difficult to resolve on radiographs using standard techniques.

We developed a new technique that allowed us to record the burrowing behavior of small animals in soft lacustrine muds (Charbonneau *et al.*, in press). Sediment was amended with inert, X-ray dense particles to increase the contrast between burrows and sediment. We were able to obtain high resolution radiographs showing the development in space and over time of animal burrows in the laboratory. We report on the burrowing behavior of a broad range of lacustrine insect taxa comprising 4 orders (Ephemeroptera, Megaloptera, Trichoptera and Diptera) and 2 trophic levels (predator, sediment feeder and detritivore).

#### 2.4.2- Methods

Sediment and insects for our experiments were collected from depths of either 9 m (*Chironomus* spp.) or 3 m (other taxa) in Lake St. Joseph (46°55'N, 71°40'W), a 5 km<sup>2</sup> Shield lake located near Québec City, Québec. Insects were collected by divers using an underwater benthic sampling net, sieved from the sediment using a 0.5 mm mesh net aperture, placed in plastic bags, and returned to the laboratory in coolers. Sediment for later use in observing animal burrows was collected at the same sites with an Ekman grab; care was taken to pour off overlying water so as not to alter sediment density (70 % water by weight).

In the laboratory, sediment was sieved through a 1 mm mesh aperture net to remove animals and large debris. A dense compound, molybdenum carbide (8 g Mo<sub>2</sub>C L<sup>-1</sup>), was mixed into the sediment to increase the density differential between the sediment and animal burrows so as to make the biogenic structures visible on radiographs (Charbonneau *et al.* 1997). Animals fed on and burrowed in sediment amended with the contrasting agent with no apparent ill effects; i.e., 90 of 96 individuals were recovered in good condition after feeding freely for 3 to 12 d on Mo<sub>2</sub>C-amended sediment. Two L of sediment amended with the contrasting agent were placed into one of a series of 2.5 cm thick, 2.5 L capacity, Plexiglas<sup>™</sup> aquaria (24 x 40 cm). Lake water (0.5 L) was added slowly onto a piece of Styrofoam<sup>™</sup> placed on the sediment surface to avoid resuspending sediment. One larva was added to each aquarium that was then kept at 10°C, in the dark, without bubbling air. Repeated measurements showed that the pH and oxygen concentration of aquarium water did not change over time. One radiograph was taken

prior to the introduction of insects to record the presence of artifacts, and a series of images were taken at various times after animal introduction. X-ray film was loaded into a cassette designed to increase film sensitivity and placed behind a microcosm. Film was exposed with a portable X-ray unit (Kramex® model PX-20N) at settings determined by trial and error to produce good quality images (exposure 0.2 sec at 20/50 MA/KVP on "line 2" at a distance of 40 cm) and radiographs were developed in our laboratory.

The contrasting agent was also used to mark individual insects to determine the particular burrow in which an animal was located and its orientation within the burrow. An individual to be marked with molybdenum carbide was first anesthetized in Eno<sup>M</sup>, marked on the thorax with a drop of a freshly prepared mixture of Mo<sub>2</sub>C powder in rapid-setting epoxy glue, and held in lake water until it recovered from the anesthetic.

Littoral genera (3 m) studied include the mayfly *Hexagenia limbata*, the alderfly *Sialis* sp., the caddisfly *Polycentropus* sp., and the chironomids *Glyptotendipes* sp. and *Procladius* sp. The body size, trophic status and number of individuals on which observations were made are given in Table 1. Radiographs of these taxa were taken at 1 d intervals up to 3 d. To assess the extent of variation within a genus, observations were made on three species of *Chironomus* collected from a 9 m depth. The burrows of fourth instar larvae were recorded at 3 d intervals up to 9 d. Burrow form and dimensions of all taxa were measured directly on each radiograph (1:1 scale) using a manual curvimeter.

#### 2.4.3- Results and discussion

#### 2.4.3.1- Burrow forms and dimensions

Representative radiographs of burrows constructed by each taxon are shown in Figure 1. The burrows of most of the taxa are U-shaped, as has been reported for many burrowing aquatic insects, e.g., alderflies (Pritchard and Leischner 1973), mayflies (Hunt 1953; Ladle and Radke 1990; Edmunds and McCafferty 1996) and chironomids (Hilsenhoff 1966; McLachlan and Cantrell 1976; Rasmussen 1984; Ferrington 1992). Where sediment depth is very limited, such as in newly-constructed reservoirs, chironomids are reported to construct horizontal I- and J-shaped burrows (McLachlan and Cantrell 1976). Exceptionally, J-shaped burrows are reported to be the characteristic form for the

chironomid *Chironomus anthracinus* (Jónasson 1972, 1996). The occasionally J-shaped burrows reported for the alderfly *Sialis* sp. (Pritchard and Leischner 1973) were ascribed to unfinished U-shaped tubes.

In contrast to the U-shaped burrows of most of the taxa we studied, burrows of the caddisfly *Polycentropus* sp. were usually I- or J shaped (Fig. 1). However, larvae of this genus appear be particularly variable in their burrowing behavior since one of the four individuals we studied constructed a U-shaped burrow. Furthermore, *Polycentropus* sp. larvae collected from another nearby Shield lake (Lake Laflamme, 47°19'N, 71°07'W) did not burrow at all in the laboratory, but lived in their silken nets on the sediment surface. This difference in behavior between *Polycentropus* sp. larvae collected from the two lakes could be due either to a taxonomic difference between larvae (larvae were not identified to species), or, more likely, to the more liquid character of the sediment in Lake Laflamme (95% water versus 70% in Lake St. Joseph) which made it unsuitable for larval burrows. These results suggest that sediment character can affect the form of burrows constructed by a given taxon (Wallace and Merritt 1980; Berg 1995).

Burrow depth varied greatly among taxa. Hexagenia limbata dug to a maximum depth of 10 cm, and its average burrow depth was 5,7 cm (Fig. 2). These results are consistent with those of Eriksen (1968), who observed a mean burrowing depth of 4.2 cm, and Hunt (1953) who reported a maximum tube depth of 12.7 cm for H. limbata. Hunt (1953) also observed that small H. limbata nymphs were found nearer the sediment surface than large nymphs. The burrows of *Glyptotendipes* sp. larvae reached a mean depth of 1.5 cm  $(\pm 0.02 \text{ cm}, \text{SE}, \text{n} = 7)$  and a maximum depth of 2 cm, which is similar to the 2-3 cm depth reported by Rasmussen (1984) for this taxon. Taxa such as Procladius sp. that construct shallow burrows (Fig. 2) are likely to spend much of their time in oxic sediments (0.5-1 cm depth). Deep burrowers such as Hexagenia limbata are likely to spend a greater proportion of their time in anoxic sediment, where the concentrations of many substances, including contaminants (Hare et al. 1994), are likely to differ from those in oxic sediments. We observed Chironomus spp. tubes to a depth of 7.5 cm (Fig. 2), which is consistent with the maximum depth reported for members of the genus by Wang et al. (1994). Hilsenhoff (1966) also reported that Chironomus plumosus larvae feeding in the laboratory at 10°C (as in our study) remained in the top 8 cm of the sediment. However,

there may be a strong seasonal variability in burrowing behavior, since Hilsenhoff (1966) observed that at 5°C larvae did not feed and burrowed to a depth of up to 51 cm.

The length of a single burrow made by an individual insect was directly related to the size of the taxon (Fig. 3). The longest burrows were made by *H. limbata*. Those of *Chironomus* spp. were intermediate in length, while those of the other taxa studied were shorter (Fig. 3). Tube lengths of between 3 and 5 cm have been reported for *Glyptotendipes paripes* (Rasmussen 1984), which agrees with mean value of 3.5 cm measured in our study for this taxon. There are few other published data with which we can compare our results. However, similar-sized larvae ( $\approx$ 6 mm long) of three non-burrowing chironomid genera were reported to construct tubes of similar length ( $\approx$ 11-14 mm; Chaloner and Wotton 1996).

The tubes constructed by most taxa had either approximately the same width as their bodies (*Glyptotendipes* sp. and *Procladius* sp.) or were somewhat wider, i.e. from 13% for *H. limbata* to 36% for *Chironomus* spp. If we assume that larval tubes are approximately round in cross-section (measurements were made only in the vertical plane), then these data suggest that larvae are not able to turn around while remaining in their tubes. Further observations on marked individuals would be necessary to confirm this supposition.

#### 2.4.3.2- Spatial and temporal evolution of biogenic structures

Individual *H. limbata* vary in the forms of their burrows and the rate at which they are constructed (Fig. 4). A similar range of individual variation has been reported for larvae of the chironomid *Axarus festivus* (Ferrington 1992). Individual *H. limbata* nymphs remain in a given burrow for several hours at a time, and new burrow construction starts below the sediment surface from a previous burrow (Fig. 4). A strategy of remaining in the sediment while constructing a series of burrows should minimize an insect's exposure to predators. Old burrows appear to be blocked off and abandoned by *H. limbata* nymphs (Fig. 1 and 4). This contrasts with the behavior of larvae of *Sialis* sp. and the chironomids since these taxa appear to use their complete burrow system, i.e., old tubes are not blocked off as new tubes are constructed (Fig. 1). Sediment-filled excavations along the burrows of *H.* 

*limbata* (Fig. 1 and 4) appear to be the result of nymph feeding activity. This observation is consistent with a previously published report suggesting that H. limbata nymphs feed on sediment within their tubes (Zimmerman and Wissing 1980).

#### 2.4.3.3- Burrowing rate

The mean number of burrows dug by nymphs of the mayfly *H. limbata* increased steadily over time and was greater than the number constructed by all of the other taxa tested. After a period of 3 d in the aquaria, individual *H. limbata* nymphs had dug an average of 6 burrows, while other taxa had constructed only 2. Consistent with the increase in burrow number, the cumulative length of burrows constructed by the mayfly exceeded that of all other taxa at any given time (Figs. 5 and 6). Zimmerman and Wissing (1978) also reported that *H. limbata* nymphs are very active, feeding both day and night. However, individuals varied greatly in their activity level. At one extreme, an individual nymph was observed to construct a new extension to its gallery system every two hours over a 30 h observation period. At the other extreme, another nymph did not add to its tube over a 3 d period in spite of the fact that it remained active during this time (judging from the turbidity of the water above its tube openings; re. Fremling 1967). The variation in activity among nymphs did not appear to be related to their body size. For example, two *H. limbata* nymphs 28 mm in length built burrows of 17 and 104 cm linear length over a three day period.

The predator *Sialis* sp. constructed a single burrow within the first day of observation, and then made no further burrows over the following 2 d period (Fig. 5). These results are consistent with observations made on *Sialis comuta* (Pritchard and Leischner 1973), and support the idea that larvae of *Sialis* are sit-and-wait predators rather than active searchers for prey. However, the inactivity of the predator could also be explained by an absence of prey in the predator's laboratory surroundings.

#### 2.4.3.4- Variation among congeners

We compared the burrowing behavior of three species of the genus *Chironomus* to assess the extent of behavioral differences among congeners. There was a significant difference between the depth to which larvae of *Chironomus staegeri* (3.9 cm  $\pm$  1.5, SE,

n=14) burrowed and the depths of tubes made by both *C. tigris* and *C. (decorus* gr.) sp. (4.7 cm  $\pm$  1.9, SE, n=11, and 4.8 cm  $\pm$  1.6, SE, n=12, respectively) (p < 0.05, t tests). But there was no sgnificant difference in burrow depth between *C. tigris* and *C. (decorus* gr.) sp. (p > 0.05, t test). The mean length (in cm,  $\pm$  SE) of single burrows differed significantly among *C. (decorus* gr.) sp. and the two other species (p < 0.05, t tests), but there was no difference between *C. tigris* and *C. staegeri* (p > 0.05, t test). The mean single burrow length (in cm,  $\pm$  SE) varied from 6.0 ( $\pm$  0.5) for *C. (decorus* gr.) sp., to 7.0 ( $\pm$  0.7) for *C. staegeri*, to 8.5 ( $\pm$  0.9) for *C. tigris*. Larvae of *C. (decorus* gr.) sp. were clearly more active than those of the other two species. Over a 9 d period, larvae of this species dug an average of 6 burrows, while the other *Chironomus* species had constructed only two. As a consequence, the cumulative length of burrows dug by *C. (decorus* gr.) sp. was significantly greater than that made by either *C. staegeri* or *C. tigris* (Fig. 7; p < 0.05, t tests). There was no significant difference between the cumulative burrow length of *C. tigris* and *C. staegeri* (p > 0.05, t test).

#### 2.4.3.5- Application of X-ray images to the study of bioturbation

The burrowing, feeding and irrigation behaviors of benthic insects can influence solute transport and the physical and chemical properties of sedimentary deposits (Granéli 1979a, 1979b; Lawrence *et al.* 1982; Wang *et al.* 1994; Lawton and Jones 1995; Levinton 1995). The greater activity of *H. limbata* as compared with other taxa (Fig. 5) suggests that this taxon will have the greatest impact on the sedimentary environment of Lake St. Joseph. We estimated the daily burrow volume created by an individual *H. limbata* at 4 cm<sup>3</sup>. Given a larval density of 13 nymphs m<sup>-2</sup> in Lake St. Joseph (Hare unpubl.), we estimate the total volume of sediment excavated by *H. limbata* nymphs at 52 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, which represented 98% of the estimated total burrow volume created by all of the littoral insect taxa present (53 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>). At a somewhat greater depth in the same lake (9m), *H. limbata* larvae are absent and the volume of sediment excavated by larvae of the dominant taxon, *Chironomus* spp., is estimated to be less than 1 cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (given a larval density of 18 m<sup>2</sup> and a tube volume of 0.1 cm<sup>3</sup>).

We can also estimate the volume of sediment excavated by *H. limbata* in other lakes. Based on 13 studies on 20 North American lakes located in Québec (Rasmussen 1988; Hare 1995; Hare unpubl.), Manitoba (Heise *et al.* 1988), Ohio (Rutter and Wissing 1975; Zimmerman 1977), Oklahoma (Craven and Brown 1969; Sublette 1953), South Dakota (Swanson 1967), Michigan (Hunt 1953), Kansas (Host and Marzlof 1975), Texas (Welch and Vodopich 1989) and Lake Erie, Ontario (Britt 1955). We estimate that  $591 \pm 125$  cm<sup>3</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (mean  $\pm$  SE) will be excavated on a daily basis for a density of 160  $\pm$  33 individuals m<sup>-2</sup>. We expect that nymph burrowing activity would be greater at temperatures above that at which our laboratory observations were made (10°C; Zimmerman and Wissing 1978). If we suppose that the excavated sediments are ejected to the water column, then they would represent a daily deposition of 0.05 mm m<sup>-2</sup> on the sediment surface. Animal burrowing also increases the effective surface area of the sediment-water interface, which is likely to influence the flux of nutrients and possibly contaminants between sediment and the overlying water.

#### 2.5- References

- Aller, J. Y., AND R. C., Aller (1986). Evidence for localized enhancement of biological activity associated with tube and burrow structures in deep-sea sediments at the HEBBLE site, western North Atlantic. *Deep Sea Res.* **33**: 755-790.
- Berg, M. B. (1995). Larval food and feeding behavior. p. 136-168. *In* P. Armitage, P. S. Cranston and L. C. V. Pinder [eds.], The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges. Chapman and Hall.
- Britt, N. W. (1955). Stratification in western Lake Erie in summer of 1953: Effects on the *Hexagenia* (Ephemeroptera) population. *Ecology* **36**: 239-244.
- Cadée, G. C., M. H. Guang, AND W. B. Can (1994). Animal traces on a tidal flat in Hangzhou Bay, China. *Netherlands J. Sea Res.* **32:** 73-80.
- Chaloner, D. T. AND R. S. Wotton (1996). Tube building by larvae of 3 species of midge (Diptera: Chironomidae). J. N. Am. Benthol. Soc. 15 (3): 300-307.
- Charbonneau, P., L. Hare AND R. Carignan (in press). Use of X-ray images and a contrating agent to study the behavior of animals in soft sediments. *Limnology and Oceanography.*
- Cole, G.A. (1953). Notes on the vertical distribution of organisms in the profundal sediments of Douglas Lake, Michigan. *Amer. Midl. Nat.* **49:** 252-256.
- Craven, R. E. AND B. E. Brown (1969). Ecology of *Hexagenia* naiads (Insecta-Ephemeridae) in an Oklahoma Reservoir. *Amer. Midl. Nat.* 82 (2): 347-358.
- Davis, R. B. (1974). Tubificids alter profiles of redox potential and pH in profundal lake sediment. *Limnol. Oceanogr.* **19**: 342-346.
- Downing, J. A. (1984). Sampling the benthos of standing waters, p. 87-130. *In* J. A. Downing and R. H. Rigler [eds.], A Manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific.
- Dworschak, P. C., AND P. Pervesler (1988). Burrows of *Callianassa bouvieri* Nobili 1904 from Safaga (Egypt, Red Sea) with some remarks on the biology of the species. *Senckenbergiana Marit.* **20:** 1-17.
- Edmunds, G. F. Jr. AND W. P. McCafferty (1996). New field observations on burrowing in Ephemeroptera from around the world. *Ent. News* **107** (2): 68-76.
- Eriksen, C. H. (1968). Ecological significance of respiration and substrate for burrowing Ephemeroptera. *Can. J. Zool.* **46**: 93-103.
- Ferrington, L. C. Jr. (1992). Habitat and sediment preferences of Axarus festivus larvae. Netherlands Journal of Aquatic Ecology 26 (2-4): 347-354.

- Ford, J.B. (1962). The vertical distribution of larval chironomidae (Dipt.) in the mud of a stream. *Hydrobiologia* **19:** 262-272.
- Fremling, C. R. (1967). Methods for mass rearing *Hexagenia* mayflies. *Trans. Am. Fish.* Soc. **96**: 407-410.
- Granéli, W. (1979a). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the oxygen uptake of sediment. *Arch. Hydrobiol.* 87 (4): 385-403.
- Granéli. W. (1979b). The influence of *Chironomus plumosus* larvae on the exchange of dissolved substances between sediment and water. *Hydrobiologia* **66** (2): 149-159.
- Håkanson, L. AND A. Källström (1978). An equation of state for biologically active lake sediments and its implications for interpretations of sediments data. Sedimentology 25: 205-226.
- Hare, L. (1995). Sediment colonization by littoral and profundal insects. J. N. Am. Benthol. Soc. 14 (2): 315-323.
- Heise, B. A., J. F. Flannagan AND T. D. Galloway (1988). Production of Hexagenia limbata (Serville) and Ephemera simulans Walker (Ephemeroptera) in Dauphin Lake, Manitoba, with note on weight loss due to preservatives. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45 (5): 774-781.
- Hilsenhoff, W. L. (1966). The biology of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) in Lake Winnebago, Wisconsin. *Annals of the Entomological Society of America* **59** (3): 465-473.
- Horst, T. J. AND G. R. Marzolf (1975). Production ecology of burrowing mayflies in a Kansas reservoir. Verh. Internat. Verein. Limnol. 19: 3029-3038.
- Howard, J. D. (1968). X-ray radiography for examination of burrowing in sediments by marine invertebrate organisms. *Sedimentol.* **11**: 249-258.
- Hunt, B. P. (1953). The life history and economic importance of a burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*, in southern Michigan lakes. Michigan Department of Conservation, Bulletin of the institute for fisheries research No. 4.
- Jónasson, P. M. (1972). Ecology and production of the profundal benthos in relation to phytoplankton in Lake Esrom. *Oikos*, suppl. **14**.
- Jónasson, P. M. (1996). Limits for life in the lake ecosystem. Verh. Internat. Verein. Limnol. 26: 1-33.
- Ladle, M. AND R. Radke (1990). Burrowing and feeding behaviour of the larva of *Ephemera danica* Müller (Ephemeroptera: Ephemeridae). *Entomologist's* Gazette **41**: 113-118.

- Lawrence, G. B., M. J. Mitchell AND D. H. Landers (1982). Effects of the burrowing mayfly, *Hexagenia*, on nitrogen and sulfur fractions in lake sediment microcosms. *Hydrobiologia* 87: 273-283.
- Lawton, J. H. AND C. G. Jones (1995). Linking species and ecosystems: organisms as ecosystem engineers. p 141-150. *In* C. G. Jones and J. H. Lawton [eds.], Linking species and ecosystems. Chapman and Hall.
- Levinton, J. (1995). Bioturbators as ecosystem engineers: Control of the sediment fabric, inter-individual interactions, and material fluxes. p 29-36. *In* C. G. Jones and J. H. Lawton [eds.], Linking species and ecosystems. Chapman and Hall.
- Matisoff, G. (1995). Effects of bioturbation on solute and particle transport in sediments. p. 201-272. *In* H.E. Allen [ed.], Metal contaminated aquatic sediments. Ann Arbor Press.
- McCall, P. L. AND M. J. S. Tevesz (1982). Animal-sediment relations: the biogenic alterations of sediments. Plenum Press.
- McLachlan, A. J. AND M. A. Cantrell (1976). Sediment development and its influence on the distribution and tube structure of *Chironomus plumosus* L. (Chironomidae, Diptera) in a new impoundment. *Freshwater*. *Biology* 6: 437-443.
- Merritt, R. W. et K. W. Cummins (1996). An introduction to the aquatic insects of North America. 3<sup>ième</sup> éd., Kendall/Hunt Publishing Company.
- Ouellet, G. (1982). Étude de l'intéraction des animaux benthiques avec les sédiments du chenal laurentien. M. Sc. thesis, Univ. du Québec à Rimouski, Québec, Canada.
- Pesch, C. E., D. J. Hansen, W.S. Boothman, W. J. Berry, J. D. Mahoney (1995). The role of acid-volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete, *Neanthes arenaceodentata. Environ. Toxicol. Chem.* 14: 129-141.
- Pinder, L. C. V. (1995). The habitats of chironomid larvae. p. 107-135. In P. Armitage, P. S. Cranston and L. C. V. Pinder [eds.], The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges. Chapman and Hall.
- Pritchard, G. AND T. G. Leischner (1973). The life history and feeding habits of *Sialis* comuta Ross in a series of abandoned beaver ponds (Insecta; Megaloptera). *Can. J. Zool.* **51**: 121-131.
- Rasmussen, J. B. (1984). The life-history, distribution, and production of Chironomus riparius and Glyptotendipes paripes in a prairie pond. Hydrobiologia **119**: 65-72.
- Rasmussen, J. B. (1988). Habitat requirements of burrowing mayflies (Ephemeridae: *Hexagenia*) in lakes, with special reference to effects of eutrophication. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **7** (1): 51-64.

- Rhoads, D. C. (1974). Organism-sediment relations on the muddy sea floor. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 12: 263-300.
- Rutter, R. P. AND T. E. Wissing (1975). Distribution, abundance, and age structure of a population of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*, in an Ohio pond. *The Ohio Journal of Science* **75** (1):7-13.
- Smith, J. N., AND C. T. Schafer (1984). Bioturbation processes in continental slope and rise sediments delineated by Pb-210, microfossil and textural indicators. J. Mar. Res. 42: 1117-1145.
- Sublette, J. E. (1953). The ecology of the macroscopic bottom fauna in Lake Texoma (Denison Reservoir). Ph. D. thesis, Univ. of Oklahoma, Norman.
- Swanson, G. A. (1967). Factors influencing the distribution and abundance of *Hexagenia* nymphs (Ephemeroptera) in a Missouri River reservoir. *Ecology* **48**: 216-225.
- Wallace, J. B. AND R. W. Merritt (1980). Filter-feeding ecology of aquatic insects. Ann. Rev. Entomol. 25: 103-132.
- Wang, X., G. Matisoff AND P. McCall (1994). Quantitative tracing of sediment mixing and solute transport across the sediment-water interface by chironomids. *37th Conference of the International Association of the Great Lakes Research and Estuarine Research Federation.* International Association of the Great Lakes Research, Buffalo.
- Welch, C. L. AND D. S. Vodopich (1989). Production by *Hexagenia limbata* in a warmwater reservoir and its association with chlorophyll content of the water column. *Hydrobiologia* **185**: 183-193.
- Zimmerman. M. C. (1977). Aspects of the life history, feeding behavior, and nutritional dynamics of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata* in an Ohio pond. Ph. D. thesis, Miami University.
- Zimmerman, M. C. AND T. E. Wissing (1978). Effects of temperature on gut-loading and gut-clearing times of the burrowing mayfly, *Hexagenia limbata*. *Fresh. Biol.* **8**: 269-277.

#### 2.6- Figure captions and figures

- Figure 1. Radiographs of burrows made by larvae of: (A) the mayfly *Hexagenia limbata*, (B) the alderfly *Sialis* sp., (C) the trichopteran *Polycentropus* sp., and the chironomids (D) *Chironomus* spp., (E) *Glyptotendipes* sp., (F) *Procladius* sp. Insets in E and F are tracings from original radiographs.
- Figure 2. Mean ( $\pm$  SE), minimum, and maximum depths to which the study taxa burrowed (observation period 3 d).
- Figure 3. Relationship between the mean length ( $\pm$  SE) of an individual insect and the mean length ( $\pm$  SE) of its burrow.
- Figure 4. Temporal progression in the burrow systems of eight *Hexagenia limbata* nymphs illustrating individual variability in burrowing activity. Drawings are direct tracings from radiographs.
- Figure 5. Cumulative mean lengths ( $\pm$  SE) of burrows constructed over 3 d by larvae of the six taxa studied.
- Figure 6. The length of an insect's burrow system after 3 d of activity. The left boundary of the box indicates the 75<sup>th</sup> percentile, the line within the box marks the median, and the right boundary of the box indicates the 25<sup>th</sup> percentile. The error bar on the left side of the box indicate the 90<sup>th</sup> percentile and the one at the right indicate the 10<sup>th</sup> percentile. Circles are data points beyond the 90<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> percentiles.
- Figure 7. Cumulative length of burrows (mean  $\pm$  SE) constructed over a 9 d period by larvae of 3 species of *Chironomus*.



Figure 1.







Figure 3.




Figure 5.

95





Figure 7.

**97** 

Table 1. Wet weight, length (Mean  $\pm$  SE), number of individuals and trophic status (Merritt and Cummins 1996) of the insects used in our study.

Order	Genus or species	n	Length (mm)	Wet weight (mg)	Trophic status
Ephemeroptera	Hexagenia limbata	23	$25.0\pm0.8$	138.0 ± 10.4	Sediment feeder
Megaloptera	Sialis sp.	18	$11.0\pm0.8$	15.0 ± 3.6	Predator
Trichoptera	Polycentropus sp.	4	9.0 ± 1.2	12.0 ± 1.7	Predator
Diptera	Chironomus spp.	37	$14.5\pm0.4$	$7.0 \pm 0.6$	Sediment feeder
Diptera	Glyptotendipes sp.	7	$11.0\pm0.2$	$\textbf{4.0} \pm \textbf{0.7}$	Detritivore
Diptera	Procladius sp.	7	$7.5 \pm 0.3$	$3.0 \pm 0.3$	Detritivore

### ANNEXES

## Annexe A: Fiche technique.

### **PROJET CRX**

## feuille d'observation

Genre ou espèce:

Date:

Produit contrastant:

Date du mélange:\_\_\_

Date et heure de l'introduction de la larve:

Code d'identification du rayon-x	Heure	Date	commentaires

#### Apparition des trous à la surface des sédiments:

# trou	Date	type de trou (normal/volcan/etc.)

Dessin de la surface des sédiments à l'échelle:

Résultats:

# tunnel	largeur	profondeur	longueur	forme	distance entre ouverture

Notes sur la radiographie:

### Annexe B: Protocole pour l'addition de carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C) dans les sédiments

Sédiments de densité moyenne et faible (Figure 1).

- 1. Tamiser 10 L de sédiments et les placer dans un seau de 15-20 L.
- Peser 80 g de Mo<sub>2</sub>C (8 g L<sup>-1</sup>) et les inclure dans les sédiments (160 g de Mo<sub>2</sub>C (16 g L<sup>-1</sup>) pour sédiments de faible densité).
- 3. Mélanger à l'aide d'une perceuse électrique et une tige à pales larges pendant 20 minutes.
- 4. Vider le mélange dans 5 contenants de 2 L.
- 5. Mélanger à nouveau chaque contenant pendant 1 minute.
- 6. Prendre environ 1/5 de chaque contenant de 2 L et verser dans un nouveau contenant de 2 L. Répéter pour remplir 5 nouveaux contenants de 2 L.
- 7. Mélanger les nouveaux contenants de 2 L pendant 1 minute.
- 8. Verser les contenants dans 5 microcosmes de 2.5 L.
- 9. Répéter 3 fois pour remplir les 15 microcosmes disponibles.



Figure B1. Processus pour mélanger le carbure de molybdène (Mo<sub>2</sub>C) aux sédiments et obtenir un milieu homogène (pour 15 microcosmes).

# Annexe C: Protocole pour le développement des radiographies.

Le développement doit se faire dans un local hermétique à toute lumière. Pour les fins de cette étude, le développement s'est fait dans une chambre environnementale dans des conditions de noirceur totale à 10°C.

#### ATTENTION!!!

Il faut respecter les temps d'exposition des films aux produits chimiques si on veut obtenir de bons développements facile à analyser. Notez que les temps de développement ont été déterminés par essais et erreurs pour une température de 10°C. D'autres essais devront être fait si la température ambiante est changée. Il est aussi très important de mettre des gants de laboratoire pour éviter le contact de la peau sur le film. L'acidité de la peau est assez puissante pour causer des artéfacts sur le film.

#### Dans la chambre environnementale (5 films max. à la fois):

- 1. Préparer les 3 bains (révélateur, eau et fixateur) pour le développement.
- 2. Ouvrir la cassette contenant le film,
- 3. Fixer le film sur le support à développement.
- 4. Plonger le support dans le révélateur (Kodak® GBX) pour une période de 7.5 minutes.
- 5. Tranférer le support dans l'eau (bain d'arrêt) pour 45 secondes.
- 6. Plonger le supprt dans le fixateur (Kodak® GBX) pour 3.5 minutes.
- 7. Mettre le film dans un bassin d'eau courante propre ou sous l'eau du robinet.
- 8. Faire sécher le film sur une corde.



Annexe D: Résultat du développement réussit d'une radiographie (*Hexagenia limbata*).



Figure D1. Résultat du développement réussi d'une radiographie. Structures biogéniques d'Hexagenia limbata.

# Annexe E: Estimation de la bioturbation par *Hexagenia limbata*.

Tableau E1. Estimation du volume de sédiments déplacé par l'activité des larves de l'éphémère *Hexagenia limbata* à partir de 12 études provenant de la littérature (\* erreure-type)

Lac	Densité (larves/m <sup>2</sup> )	Volume de sédiments remaniés (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> /d)	Référence
Bradenberg Pond (Ohio)	473	1845	Rutter et Wissing (1975)
Bradenberg Pond (Ohio)	351	1369	Zimmerman (1977)
Boomer (Oklahoma)	453	1767	Craven et Brown (1969)
Brome (Québec)	17	66	Rasmussen (1988)
Brompton (Québec)	21	82	Rasmussen (1988)
Clarke (Dakota du Sud)	347	1353	Swanson (1967)
D'Argent (Québec)	23	90	Rasmussen (1988)
Dauphin (Manitoba)	91	355	Heise et al. (1988)
Dauphin (Manitoba)	37	144	Heise et al. (1988)
Drolet (Québec)	12	47	Rasmussen (1988)
Gun (Michigan)	261	1018	Hunt (1953)
Lewis (Dakota du Sud)	153	597	Swanson (1967)
Magog (Québec)	7	27	Rasmussen (1988)
Memphremagog (Québec)	15	58	Rasmussen (1988)
Orford (Québec)	15	59	Rasmussen (1988)
Pine (Michigan)	260	1014	Hunt (1953)
Saint-Joseph (Québec)	13	51	Hare (non publié)
Silver (Québec)	12	47	Rasmussen (1988)
Tantaré (Québec)	250	975	Hare (1995)
Texoma (Oklahoma)	100	390	Sublette (1953)
Tuttle Creek (Kansas)	47	183	Horst et Marzolf (1975)
Waco (Texas)	195	761	Welch et Vodopich (1989)
Lac Érié Ouest	388	1123	Britt (1955)
Movenne	160 ± 33*	591 ± 125*	2

### Annexe F: Idée à l'origine du projet CRX.

Au début du projet de recherche, nous connaissions les avenues de la radiographie pour l'étude des animaux marins. Mais son application directe sans modification ne pouvait pas s'appliquer aux sédiments de faible densité. Nous avons considéré l'usage du sulfate de baryum (BaSO<sub>4</sub>), substance de contraste utilisée en médecine pour la visualisation du tube digestif (Figure F1). Pour nos besoins, le sulfate de baryum devait être utilisé de la même manière qu'en médecine; soit ingérer une solution de sulfate de baryum. L'hypothèse était qu'en injectant une suspension de sulfate de baryum (5 g de BaSO4 dans 25 ml d'eau) dans les ouvertures des tunnels, à la surface des sédiments. et en prenant une radiographie du microcosme, nous aurions eu des images radiographiques de tunnels complets construits par les insectes. En s'appuyant sur cette hypothèse, et sur la croyance que l'activité de bioirrigation des insectes était suffisante pour transporter la suspension de baryum dans toute la longueur du tunnel, nous avons fait des essais en laboratoire avec des larves de Chironomus spp., de quatrième stade Les images radiographiques ont présenté des sections de tunnels car la larvaire. bioirrigation n'était probablement pas assez intense pour disperser homogènement la suspension dans toute la longueur des tunnels. D'autres essais devront être fait pour améliorer l'utilisation de cet agent de contraste.



Figure F1. Radiographie d'un colon humain, non sain, après un lavement barité (Harrison 1992).

ĩ

# Annexe G: Contenu du boîtier prélevé sur le terrain.

Tableau G1. Identification et dénombrement des genres et espèces contenus dans les sédiments du boîtier radiographié sur le terrain.

Ordre	Genre ou espèce	n	
Diptera	Chironomus staegeri	5	
Diptera	Procladius (Holotanypus gr.) sp.	5	
Diptera	Chaoborus punctipennis	= 14	
Trichoptera	Polycentropus sp.	1	