

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 sciences de l'eau,
discipline: écotoxicologie, option comportement animal

Jury d'évaluation

Examineur externe

Joseph Rasmussen
Département de biologie
Université McGill

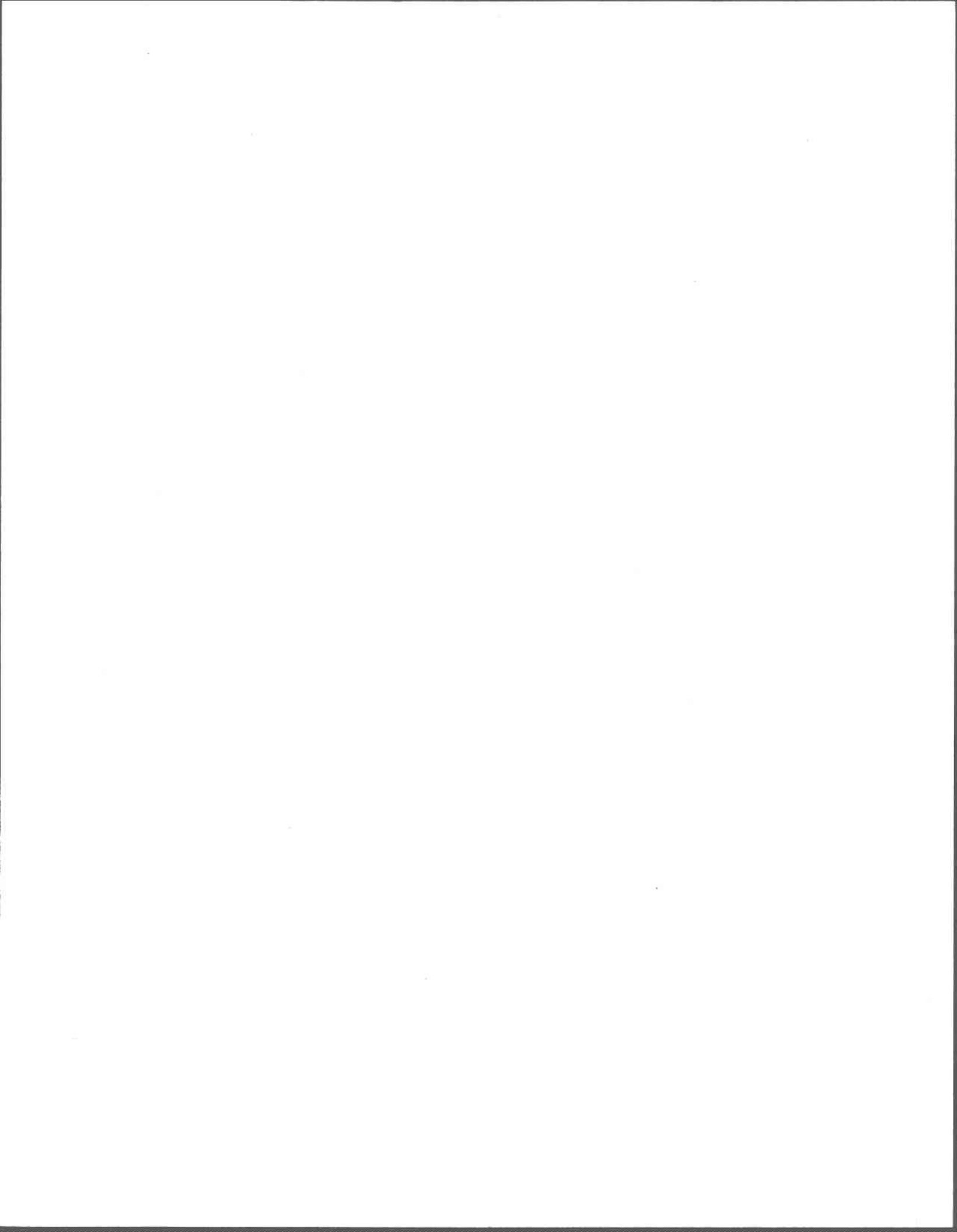
Examineur interne

André Tessier
Équipe métaux traces
INRS-Eau

Directeur de recherche

Landis Hare
Équipe métaux traces
INRS-Eau

juillet 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

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 mud-dwelling 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.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	v
AVANT-PROPOS	vii
TABLE DES MATIÈRES	ix
LISTE DES FIGURES	xi
LISTE DES TABLEAUX	xiii
SYNTHÈSE	1
1- Introduction	1
1.1- Le comportement fouisseur	1
1.2- Les méthodes utilisées pour l'étude du comportement fouisseur des animaux marins et d'eau douce	2
1.3- L'utilisation de la radiographie en géologie et en biologie	3
2- Objectifs	3
3- Matériel et Méthodes	4
3.1- Le matériel biologique	4
3.2- Les sédiments, le Mo ₂ C et la radiographie (rayons-X)	7
3.3- Le marquage	9
3.4- Application <i>in situ</i>	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 <i>Chironomus spp.</i>	23
4.4- Résultats <i>in situ</i>	26
5- Discussion	27
5.1- Synthèse des résultats	27
5.1.1- 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- Écotoxicologie	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 biogéniques	36
5.2.2.4- Couplage de techniques	36
5.3- Limites de la méthode	37
5.3.1- Mise en garde	37
5.3.2- La taille des animaux	38
5.3.3- Les parois des aquariums	38
5.4- Suggestions d'amélioration de la technique de la radiographie	38
5.4.1- Les agents de contraste	38

5.4.2- Le marquage des individus	39
5.4.3- Échographie (ultrasons)	39
5.4.4- Mesures <i>in situ</i>	40
5.4.5- La mesure du pourcentage d'eau des sédiments (laboratoire et <i>in situ</i>)	40
6- Références	42
7- Liste des articles du mémoire	52
CHAPITRE 1: MÉTHODOLOGIE (Article 1)	53
1.1- Résumé	55
1.2- Acknowledgments	57
1.3- Abstract	57
1.4- The use of X-ray images and a contrasting agent to study the behavior of animals in soft sediments.	58
1.5- References	64
1.6- Figure captions and figures	66
CHAPITRE 2: COMPORTEMENT FOUISSEUR ET STRUCTURES BIOGÉNIQUES (Article 2)	73
2.1- Résumé	75
2.2- Acknowledgments	77
2.3- Abstract	77
2.4- Burrowing behavior and biogenic structures of mud-dwelling insects.	78
2.4.1- Introduction	78
2.4.2- Methods	79
2.4.3- Results and discussion	80
2.4.3.1- Burrow forms and dimensions	80
2.4.3.2- Spatial and temporal evolution of biogenic structures	82
2.4.3.3- Burrowing rate	83
2.4.3.4- Variation among congeners	83
2.4.3.5- Application of X-ray images to the study of bioturbation	84
2.5- References	86
2.6- Figure captions and figures	90
ANNEXES	99
Annexe A: Fiche technique.	99
Annexe B: Protocole pour l'addition de carbure de molybdène (Mo₂C) dans les sédiments	101
Annexe C: Protocole pour le développement des radiographies.	102
Annexe D: Résultat du développement réussi d'une radiographie (<i>Hexagenia limbata</i>).	103
Annexe E: Estimation de la bioturbation par <i>Hexagenia limbata</i>.	104
Annexe F: Idée à l'origine du projet CRX.	105
Annexe G: Contenu du boîtier prélevé sur le terrain.	106

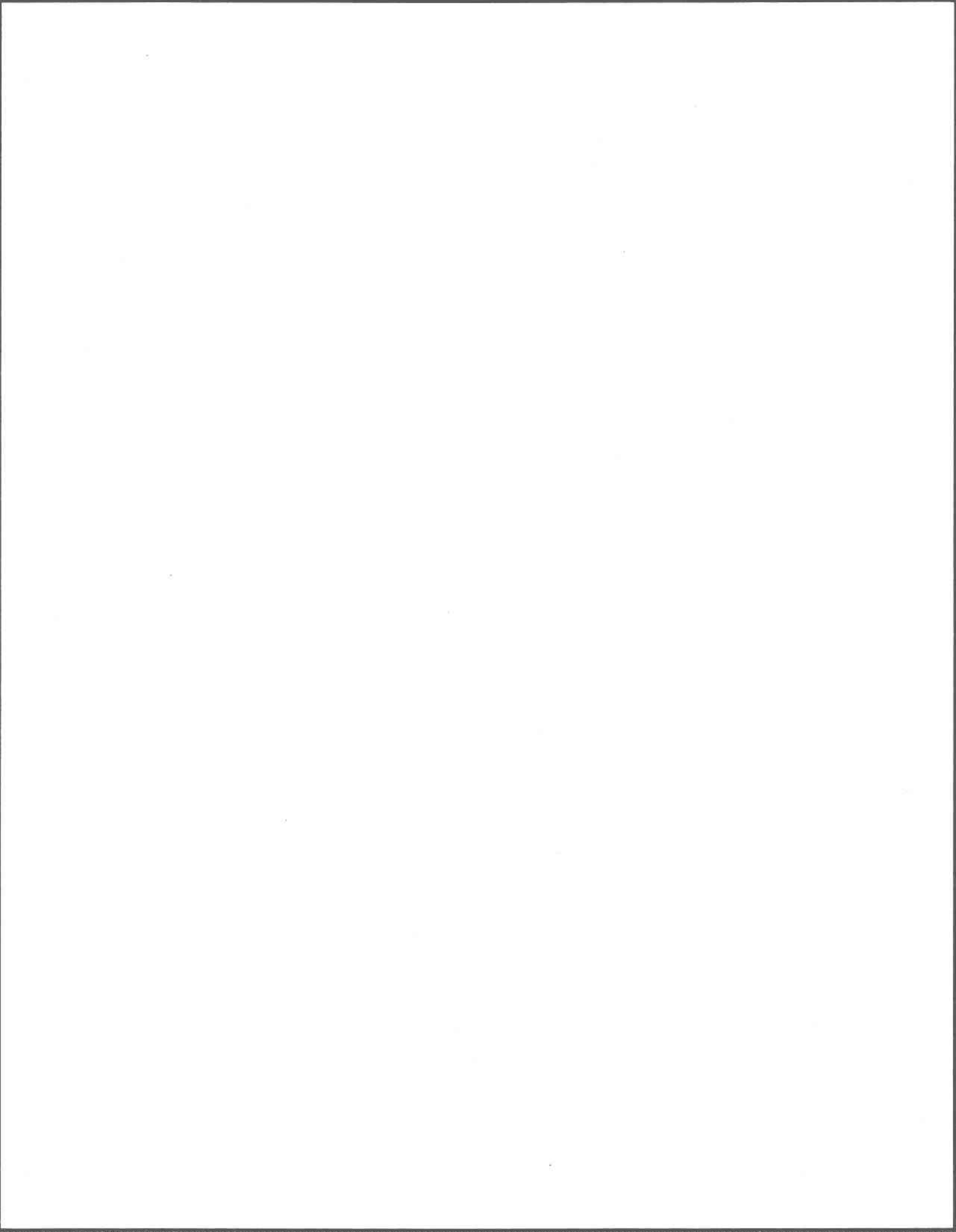
LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Taxa à l'étude: A) *Hexagenia limbata* (Ephemeroptera), B) *Sialis* sp. (Megaloptera), C) *Polycentropus* sp. (Trichoptera), D) *Chironomus* sp. (Diptera), E) *Glyptotendipes* sp. (Diptera) et F) *Procladius* (*Holotanypus* gr.) sp. (Diptera). (Taille moyenne des individus utilisés pour l'étude \pm erreur-type).6
- Figure 2. Montage en laboratoire. Microcosme et disposition pour la radiographie.8
- Figure 3. Radiographies des tubes faits par *Chironomus* spp. dans des sédiments de faible densité (95% d'eau par unité de poids) mélangés avec plusieurs concentrations d'agent contrastant, le carbure de molybdène (en g Mo₂C L⁻¹): (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 (\approx 1.5x) (la région pâle près du tube est un artefact suite au développement de la radiographie).12
- Figure 4. Radiographies montrant l'utilisation du carbure de molybdène (Mo₂C) 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 Mo₂C aux sédiments, B) et C) 8 g Mo₂C L⁻¹ 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 (Mo₂C-epoxy).14
- 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.16
- Figure 6. Profondeurs moyennes (\pm 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.17
- Figure 7. Relation entre la taille moyenne (\pm erreur-type) des individus de chaque taxa et la longueur moyenne d'un tunnel, ou tube, simple de chacun des taxa.18
- 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.20

Figure 9.	Longueur cumulatives des structures biogéniques (moyenne \pm erreur-type) construits par les larves des 6 taxa étudiés pendant 3 jours.	21
Figure 10.	Distribution des longueurs des structures biogéniques pour 6 genres d'insectes autour d'une médiane. L'extrême gauche de la boîte indique le 75 ^{ième} percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrême droite indique le 25 ^{ième} percentile. La barre d'erreur sur le côté gauche de la boîte indique le 90 ^{ième} percentile alors que celle de droite indique le 10 ^{ième} percentile. Les cercles représentent les points se trouvant à l'extérieur des bornes des 90 ^{ième} et 10 ^{ième} percentiles.	22
Figure 11.	Profondeurs moyennes (\pm erreurs-types), minimales et maximales des tubes de <i>Chironomus staegeri</i> , <i>Chironomus tigris</i> et <i>Chironomus (decorus gr.)</i> sp., après 9 jours dans les sédiments.	23
Figure 12.	Longueur cumulative des tubes (moyenne \pm erreur-type) construits par <i>Chironomus staegeri</i> , <i>Chironomus tigris</i> and <i>Chironomus (decorus gr.)</i> sp. pendant 9 jours.	24
Figure 13.	Distribution des longueurs de tubes pour 3 espèces de <i>Chironomus</i> spp. autour d'une médiane. L'extrême gauche de la boîte indique le 75 ^{ième} percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrême droite indique le 25 ^{ième} percentile. La barre d'erreur sur le côté gauche de la boîte indique le 90 ^{ième} percentile alors que celle de droite indique le 10 ^{ième} percentile. Les cercles représentent les points se trouvant à l'extérieur des bornes des 90 ^{ième} et 10 ^{ième} percentiles.	25
Figure 14.	Radiographie montrant les structures biogéniques <i>in situ</i> de 2 insectes. Les structures biogéniques sont mises en évidence par l'injection de l'agent de contraste (Mo ₂ C) directement sur le terrain.	26
Figure B1.	Processus pour mélanger le carbure de molybdène (Mo ₂ C) aux sédiments et obtenir un milieu homogène (pour 15 microcosmes).	101
Figure D1.	Résultat du développement réussi d'une radiographie. Tunnels d' <i>Hexagenia limbata</i>	103
Figure F1.	Radiographie d'un colon humain, non sain, après un lavement barité (injection d'une solution de sulfate de baryum).	105

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'étude.	18
Tableau 2.	Taille, poids humide (moyenne \pm erreur-type) et nombre d'individus des trois espèces de <i>Chironomus</i> 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.	104
Tableau G1.	Identification et dénombrement des genres et espèces contenus dans les sédiments du boîtier radiographié sur le terrain.	106



SYNTHÈSE

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 répandu chez les larves, notamment 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 prêtes 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 sont favorables 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

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

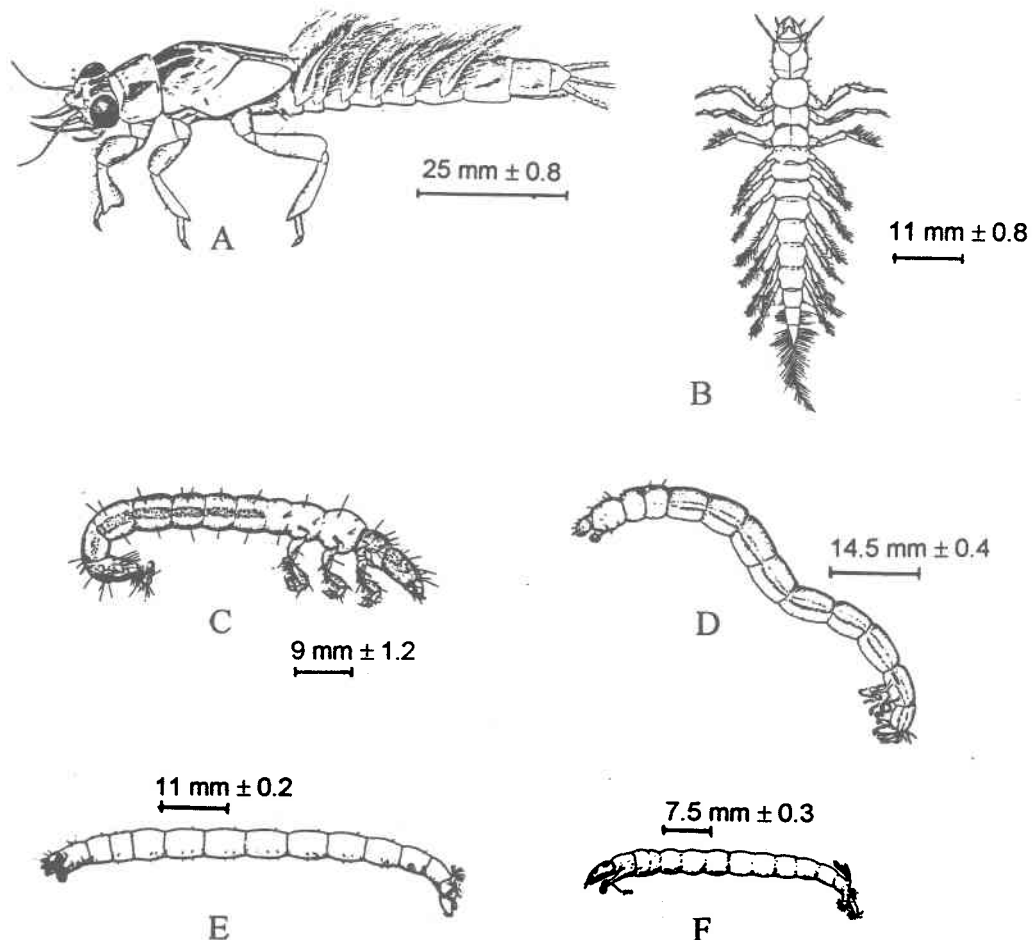


Figure 1. Taxa à l'étude: A) *Hexagenia limbata* (Ephemeroptera), B) *Sialis* sp. (Megaloptera), C) *Polycentropus* sp. (Trichoptera), D) *Chironomus* spp. (Diptera), E) *Glyptotendipes* sp. (Diptera) et F) *Procladius* (*Holotanypus* gr.) sp. (Diptera). (Taille moyenne des individus utilisés pour l'étude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

3.2- Les sédiments, le Mo₂C 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 (BaSO₄) (voir Annexe F pour plus de détails), mais c'est le carbure de molybdène (Mo₂C) 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 sous-marine. 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 sumageant 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 Mo₂C L⁻¹). 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 (≈ 6.4) et d'oxygène (≈ 8.3 mg L⁻¹) 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 portable (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).

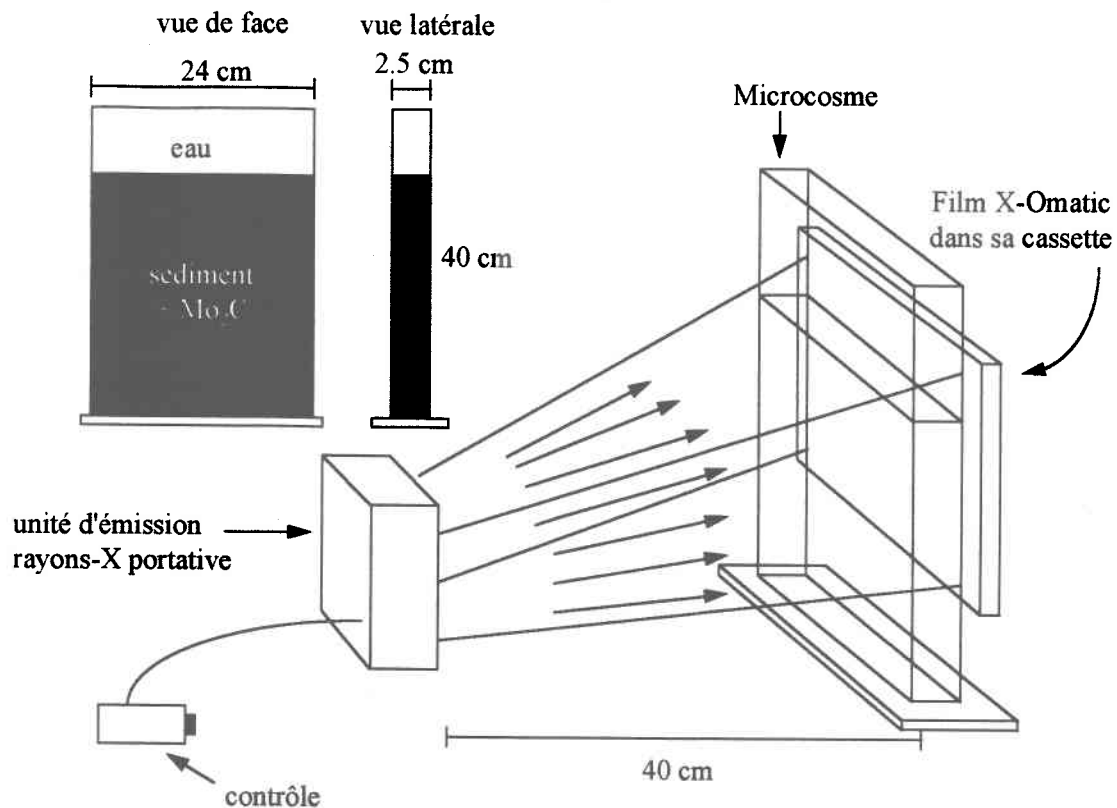


Figure 2. Montage en laboratoire. Microcosme et disposition pour la radiographie.

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 $8 \text{ g Mo}_2\text{C L}^{-1}$ de sédiments (pour le lac St-Joseph seulement).

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^{-1}) 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

contrastant fut facile à faire car des deux agents, c'est le Mo_2C qui se mélangeait le mieux à l'époxy. En effet, le Mo_2C est une poudre très fine et le BaSO_4 se retrouve sous forme de cristaux grossiers. Le carbure de molybdène peut donc s'incorporer à l'époxy 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™ (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_2C -époxy 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_2C -époxy. D'autres colles devront être testées pour le marquage de ce diptère.

3.4- Application *in situ*

L'agent contrastant (Mo_2C) 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 retourné 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_2C , 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 $16 \text{ g Mo}_2\text{C L}^{-1}$ 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).

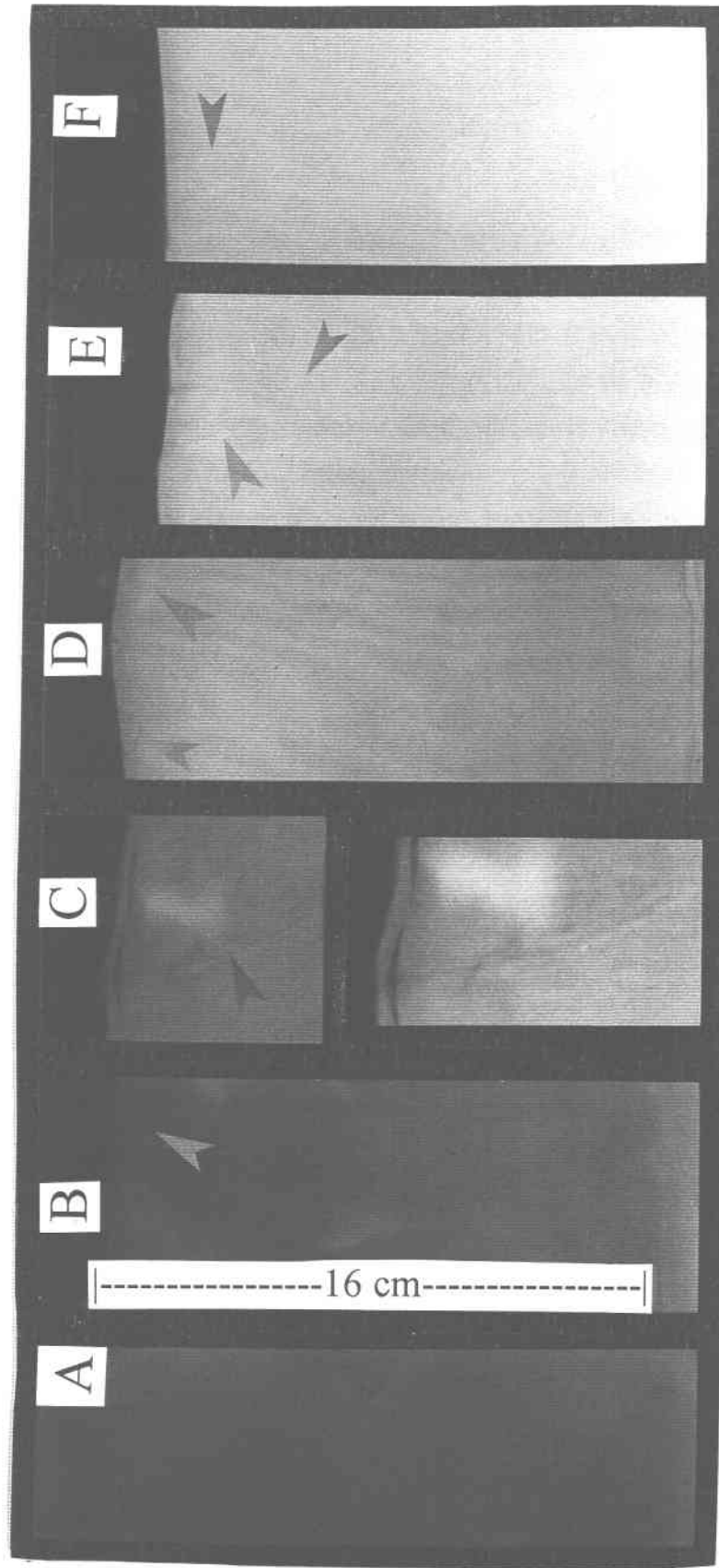


Figure 3. Radiographies des tubes faits par *Chironomus* spp. dans des sédiments de faible densité (95% d'eau par unité de poids) mélangés avec plusieurs concentrations d'agent contrastant, le carbure de molybdène (en $\text{g Mo}_2\text{C L}^{-1}$): (A) 0, (B) 8, (C) 16, (D) 24, (E) 32, (F) 40. Les flèches marquent la position des tubes. Le tube en (C) est agrandi ($\approx 1.5x$) (la région pâle près du tube est un artefact suite au développement de la radiographie).

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 Mo₂C-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 Mo₂C 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).

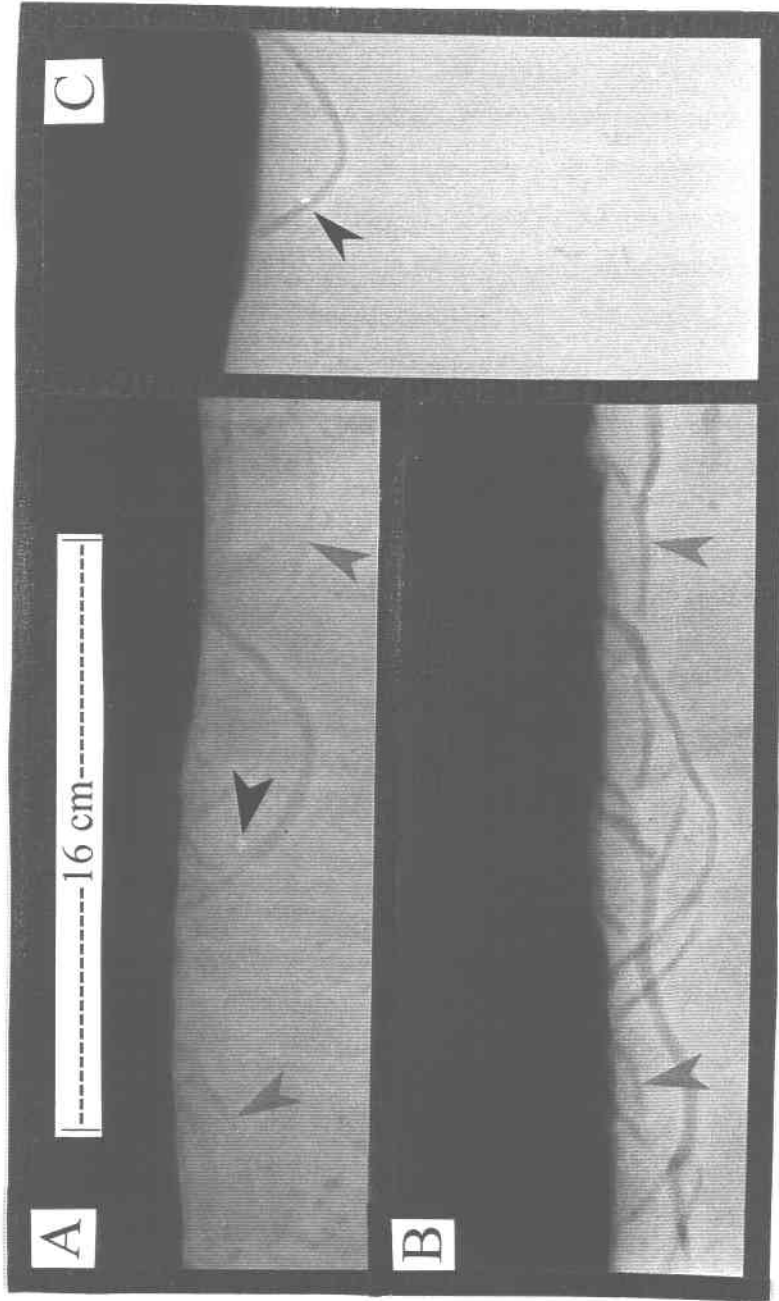


Figure 4. Radiographies montrant l'utilisation du carbure de molybdène (Mo_2C) pour augmenter le contraste entre les sédiments de densité modérée (70% d'eau par unité de poids) et les tunnels de l'éphémère *Hexagenia limbata*: A) aucune addition de Mo_2C aux sédiments, B) et C) 8 g $\text{Mo}_2\text{C L}^{-1}$ 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 ($\text{Mo}_2\text{C-epoxy}$).

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 I ou J.

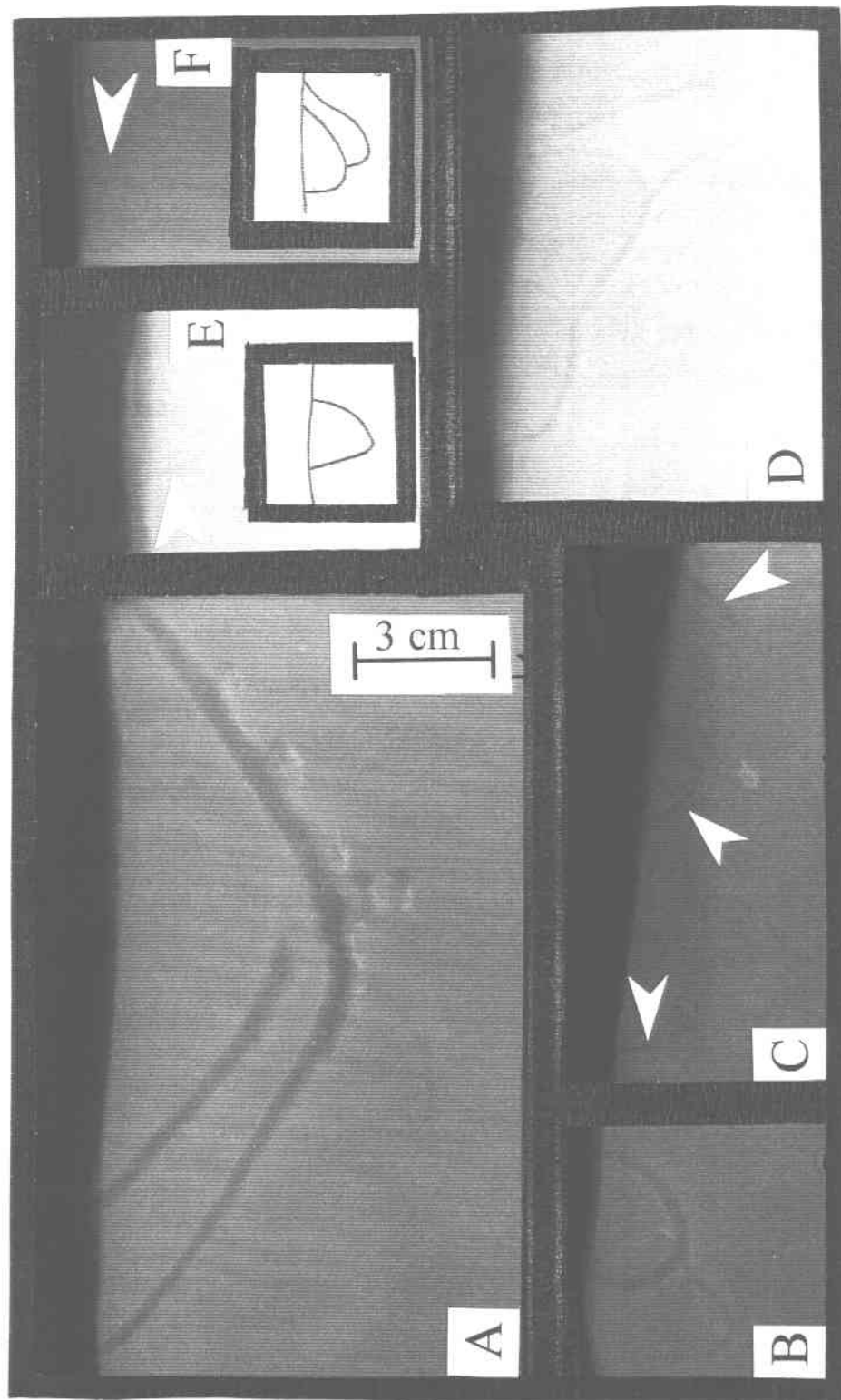


Figure 5. Radiographies des structures biogéniques faites par les larves d'insectes de: (A) l'éphémère *Hexagenia limbata*, (B) le mégaloptère *Sialis* sp., (C) le trichoptère *Polycentropus* sp., et les chironomides (D) *Chironomus* spp., (E) *Glyptotendipes* sp., (F) *Procladius* (*Holotanypus* gr.) sp. Les médaillons en E et F sont des dessins provenant des radiographies originales.

La Figure 6 présente les profondeurs des tunnels, après 3 jours dans les sédiments, de l'Éphéméroptère *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.

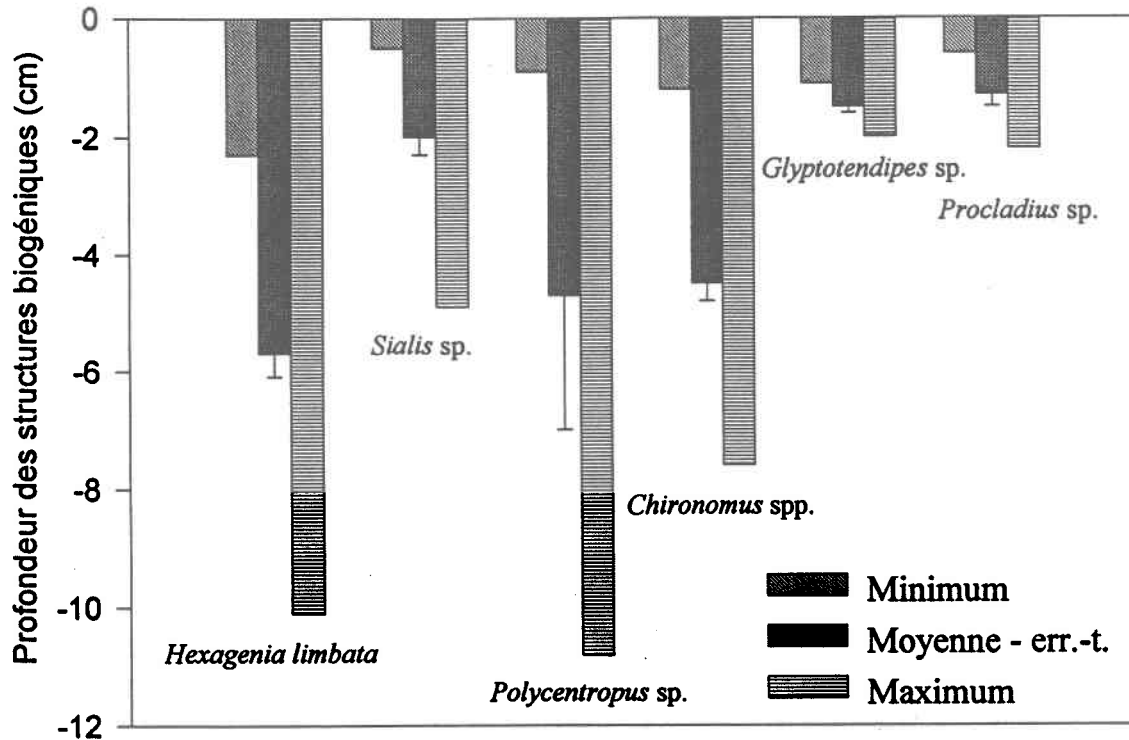


Figure 6. Profondeurs moyennes (\pm erreurs-types), minimales, et maximales des structures biogéniques, après 3 jours, des insectes des taxa suivants: *Hexagenia limbata*, *Sialis* sp., *Polycentropus* sp., *Chironomus* spp., *Glyptotendipes* sp et *Procladius* (*Holotanypus* gr.) sp.

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.

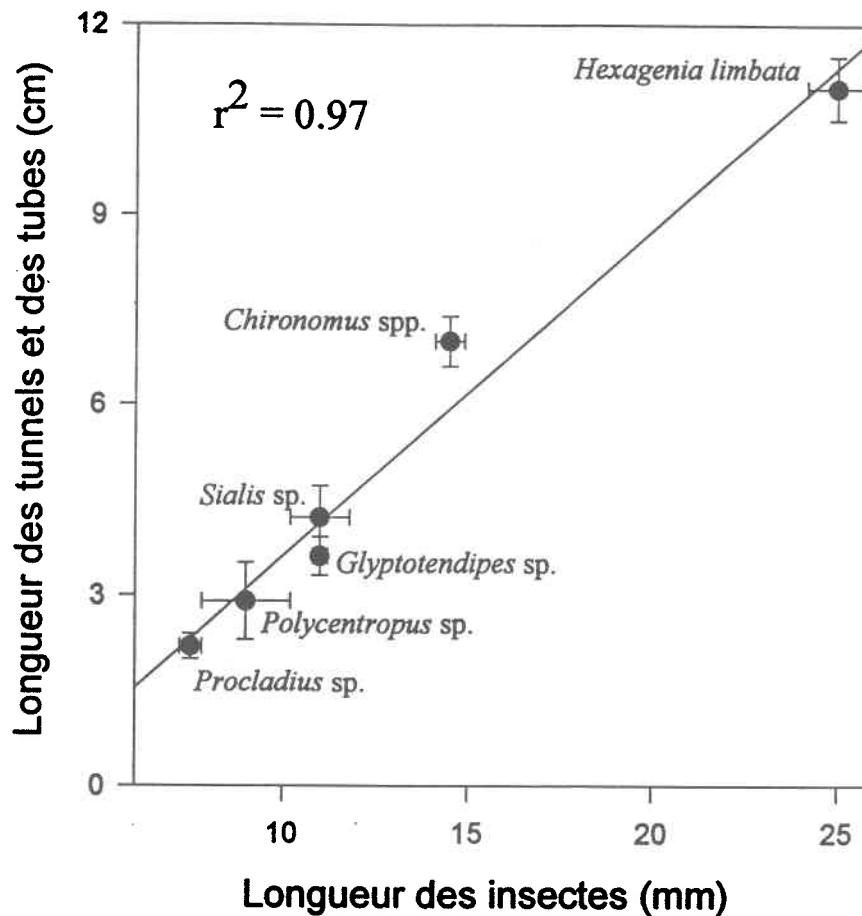


Figure 7. Relation entre la taille moyenne des individus de chaque taxa et la longueur moyenne d'un tunnel, ou tube, simple de chacun des taxa. Les barres d'erreurs sont les erreurs-types.

Tableau 1. Longueur, poids humide (moyenne \pm erreur-type), nombre d'individus et 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	<i>Hexagenia limbata</i>	23	25.0 \pm 0.8	138.0 \pm 10.4	Collecteur
Megaloptera	<i>Sialis</i> sp.	18	11.0 \pm 0.8	15.0 \pm 3.6	Prédateur
Trichoptera	<i>Polycentropus</i> sp.	4	9.0 \pm 1.2	12.0 \pm 1.7	Prédateur
Diptera	<i>Chironomus</i> spp.	37	14.5 \pm 0.4	7.0 \pm 0.6	Collecteur
	<i>Glyptotendipes</i> sp.	7	11.0 \pm 0.2	4.5 \pm 0.7	Détritivore
	<i>Procladius</i> sp.	7	7.5 \pm 0.3	2.0 \pm 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).

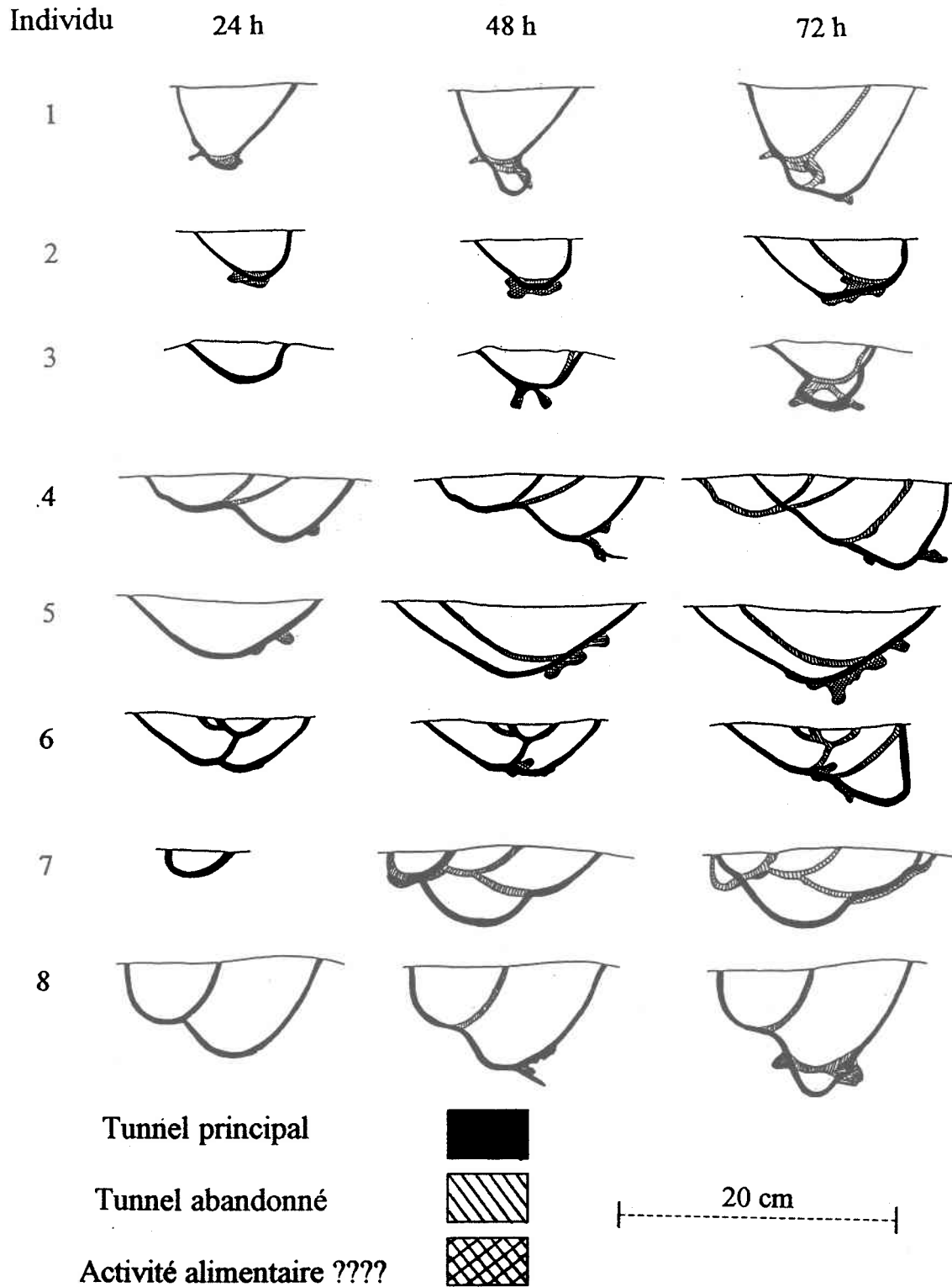


Figure 8. Progression temporelle des tunnels des nymphes *Hexagenia limbata* (la taille des individus varie entre 22-28 mm en excluant les cerci) illustrant la variabilité individuelle de l'activité de fouissage. Les dessins ont été tracés directement sur les radiographies qui ont été prises par intervalles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

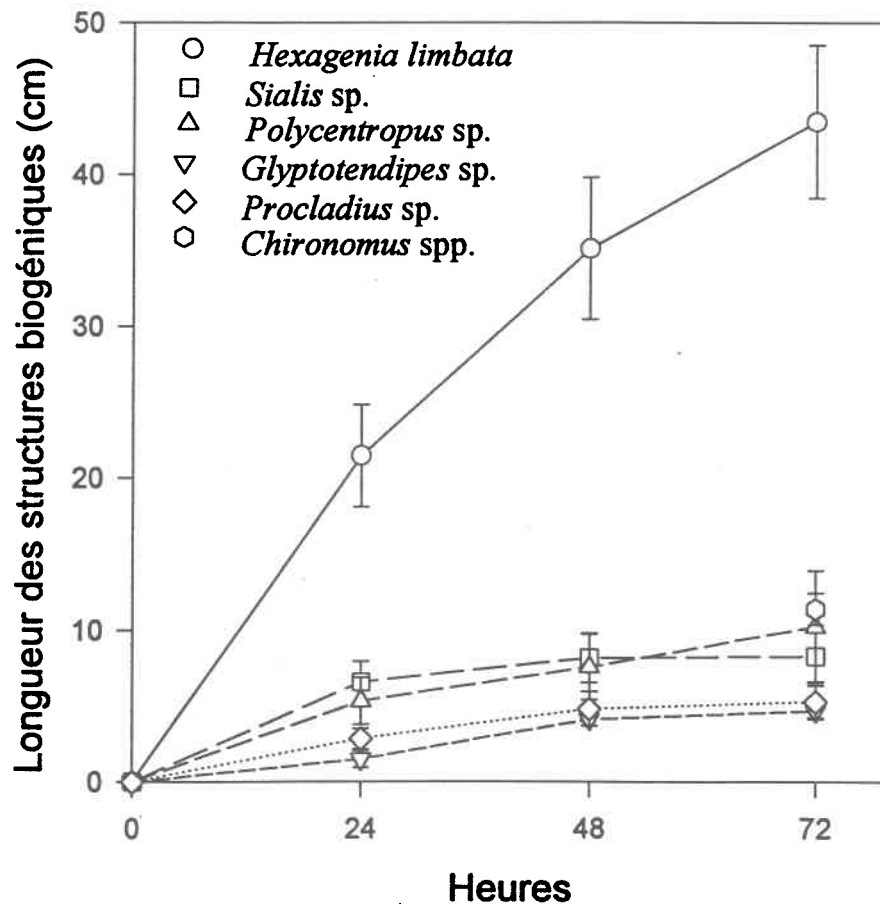


Figure 9. Longueurs cumulatives des structures biogéniques (moyenne \pm erreur-type) construits par les larves des 6 taxa étudiés pendant 3 jours.

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.

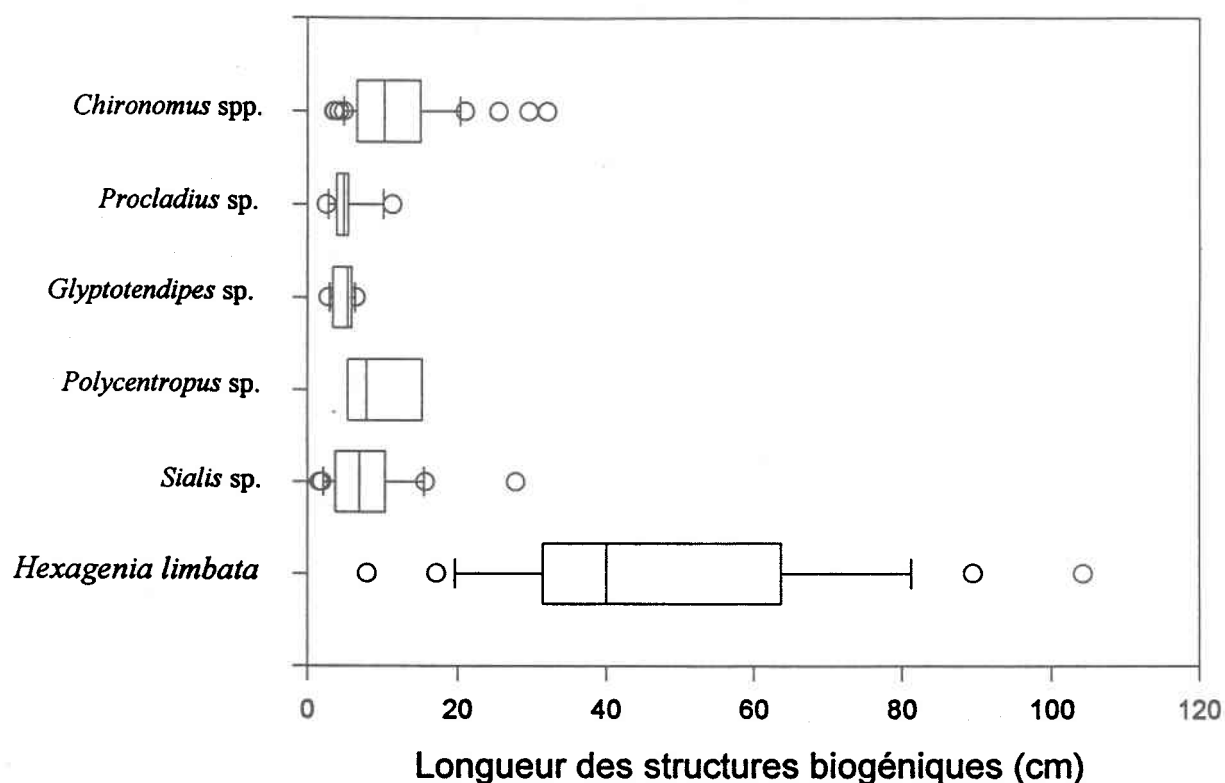


Figure 10. Distribution des longueurs de structures biogéniques pour 6 genres d'insectes autour d'une médiane. L'extrême gauche de la boîte indique le 75^{ème} percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrême droite indique le 25^{ème} percentile. La barre d'erreur sur le côté gauche de la boîte indique le 90^{ème} percentile alors que celle de droite indique le 10^{ème} percentile. Les cercles représentent les points se trouvant à l'extérieur des bornes des 90^{ème} et 10^{ème} 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 profondeur 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.

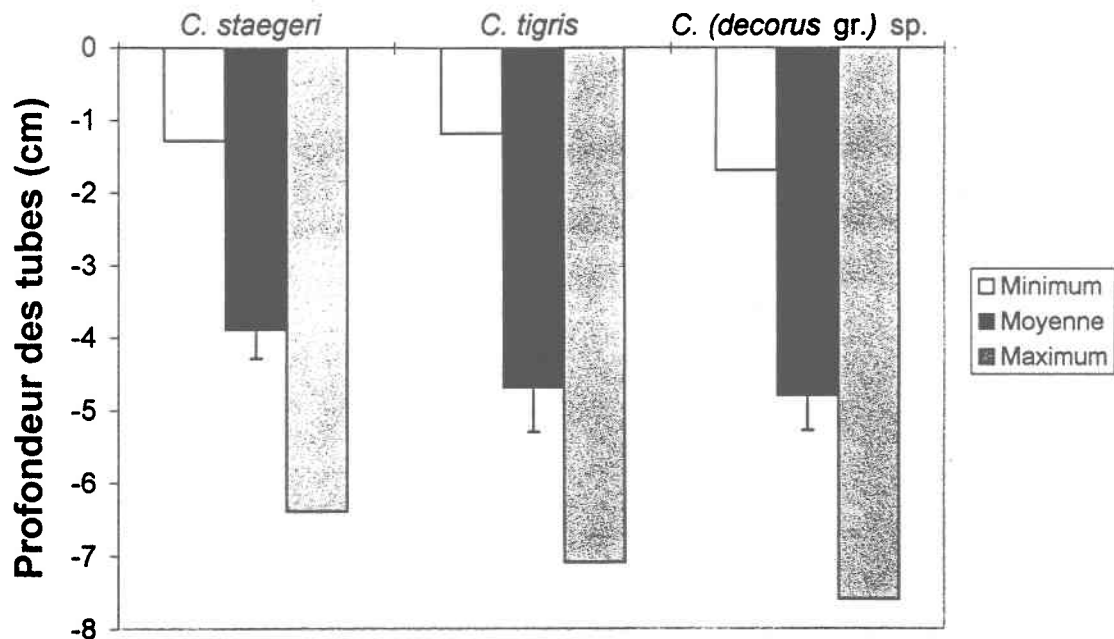


Figure 11. Profondeurs moyennes (\pm erreurs-types), minimales et maximales des tubes de *Chironomus staegeri*, *Chironomus tigris* et *Chironomus (decorus gr.)* sp., après 9 jours dans les sédiments. Les barres d'erreurs sont les erreurs-types.

Tableau 2. Taille, poids humide (moyenne \pm erreur-type) et nombre d'individus des trois espèces de *Chironomus* étudiés.

Ordre	Espèce	n	Taille (mm)	Poids humide (mg)
Diptera	<i>Chironomus staegeri</i>	14	16.0 \pm 0.4	6.5 \pm 0.6
	<i>Chironomus tigris</i>	11	14.5 \pm 0.6	9.0 \pm 1.1
	<i>Chironomus (decorus gr.)</i> sp.	12	13.0 \pm 0.2	5.5 \pm 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).

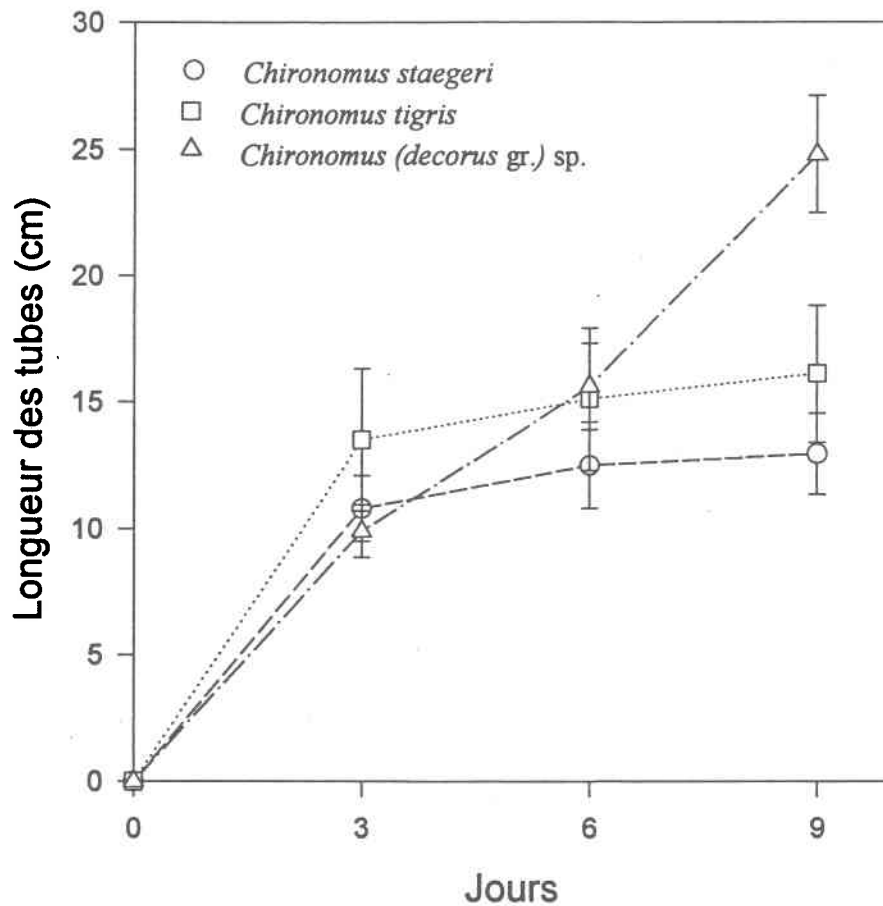


Figure 12. Longueur cumulative des tubes (moyenne \pm erreur-type) construits par *Chironomus staegeri*, *Chironomus tigris* et *Chironomus (decorus gr.)* sp. pendant 9 jours.

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.

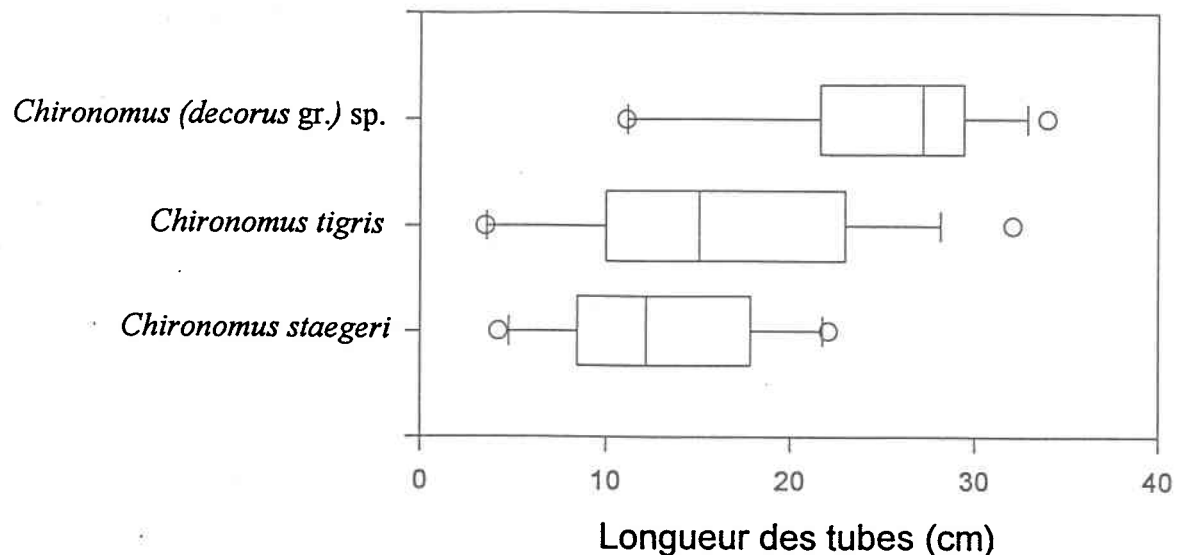


Figure 13. Distribution des longueurs de tubes pour 3 espèces de *Chironomus* spp. autour d'une médiane. L'extrême gauche de la boîte indique le 75^{ième} percentile, la ligne à l'intérieur de la boîte marque la médiane, et l'extrême droite indique le 25^{ième} percentile. Les barres d'erreurs sur les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

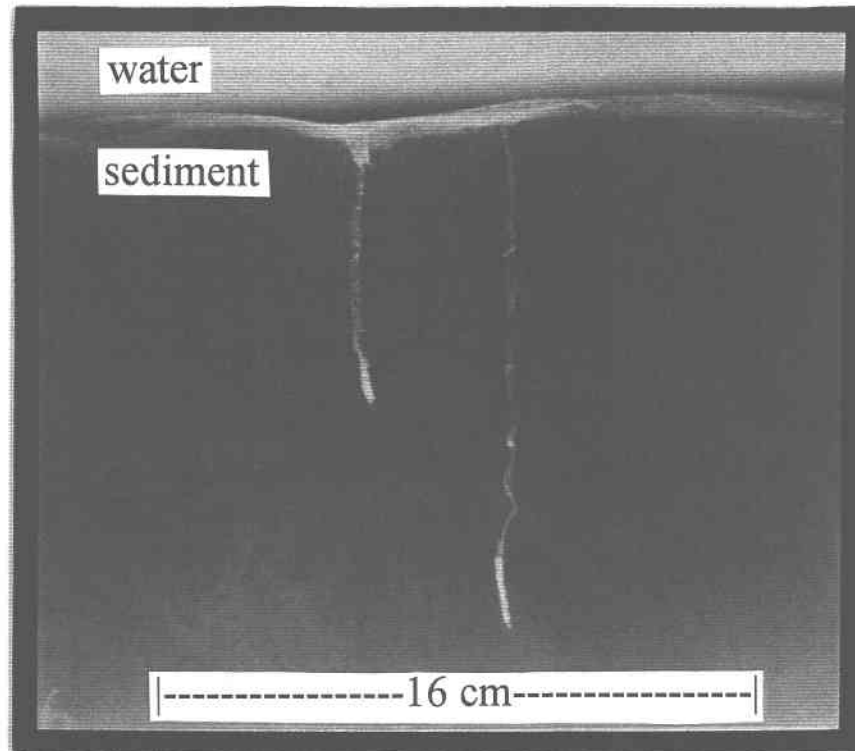


Figure 14. Radiographie montrant les structures biogéniques *in situ* de 2 insectes. Les structures sont mises en évidence par l'injection de l'agent de contraste (Mo_2C) directement sur le terrain.

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 I 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 oxiqne 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 anaérobie 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 (Walshe 1947, 1951). Par contre certains chironomides, comme *Chironomus 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 analysant 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

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 utiliser 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

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^3 après 24 heures dans les sédiments, et la densité des nymphes étant évaluée à $13 \text{ individus m}^{-2}$ (Hare, non publié), nous avons évalué la bioturbation faite par *H. limbata* à $52 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ 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 $1 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ pour les 4 genres confondus. On note donc une bioturbation de $53 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ pour le littoral et une bioturbation d'environ $1 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ par *Chironomus*

spp. (densité de 18 individus m^{-2} et un volume de 0.1 cm^3 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 1988¹; 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 $591 \pm 125 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ (moyenne \pm err.-t.) pour une densité moyenne de 160 ± 33 individus m^{-2} (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

¹ Lorsque les études ne présentaient pas de densités pour les larves d'*H. limbata* mais uniquement un poids humide m^{-2} , les densités de ces études ont été estimées 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 $3.9 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2}$ par individu.

bioturbation face à la sédimentation. En sachant que, pour le lac St-Joseph, une bioturbation de $53 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ équivaut à une épaisseur de $0.05 \text{ mm m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ ($\sim 18 \text{ mm m}^{-2} \text{ an}^{-1}$) 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 $34 \text{ cm}^2 \text{ m}^{-2}$ par individu après 24 heures dans les sédiments. Donc, pour le lac St-Joseph, on note, pour une densité de $13 \text{ nymphes m}^{-2}$, une surface de tunnel de $0.04 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ et $0.55 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ pour une densité de $160 \text{ nymphes m}^{-2}$. 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 dépendent 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 respiration, 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 limnologues. 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

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 intégrant 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, lorsqu'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 ($BaSO_4$), 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 $\text{Mo}_2\text{C-H}_2\text{O}$ 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 $\text{BaSO}_4\text{-H}_2\text{O}$ 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_4 versus Mo_2C) 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_2C -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 fœtus 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

de densité entre les animaux et les sédiments (les animaux ayant une meilleure résonance 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 plates-formes 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^{ième} 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* and *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.