

Protocole expérimental d'échantillonnage des « macro-invertébrés » en cours d'eau profond

Décembre 2009

P.USSEGLIO-POLATERA, Université de Metz
JG. WASSON & V.ARCHAIMBAULT, Cemagref Lyon

Avant-propos

Le but du présent protocole de prélèvement des macro-invertébrés benthiques en rivière profonde est d'échantillonner sur un point de prélèvement, à la fois :

- 1) les habitats de la zone de berge, souvent les plus biogènes, considérés comme marginaux à l'échelle du point de prélèvement,
- 2) les habitats de la zone profonde les plus représentatifs, considérés comme dominants à l'échelle du point de prélèvement,
- 3) les habitats de la zone intermédiaire, considérés comme dominants à l'échelle du point de prélèvement.

Les modalités préalables permettant le choix du point de prélèvement et la définition précise de ses limites amont et aval ne sont pas traitées dans ce présent document.

Les phases ultérieures de laboratoire et de calculs d'indices n'entrent pas dans le champ de ce protocole. Pour la phase de laboratoire, se référer à la norme XP T 90-388 et à l'annexe 1 de ce présent document.

1) Domaine d'application

Le présent protocole concerne le prélèvement des macro-invertébrés dans les cours d'eau sur un point de prélèvement fixé.

Il s'applique aux cours d'eau dont la profondeur ne permet pas l'échantillonnage des macro-invertébrés benthiques dans le strict respect des conditions d'application du protocole décrit dans la norme XP T90-333.

Cette méthode a été développée pour un usage en France métropolitaine, son application est possible sur d'autres territoires présentant les mêmes types de cours d'eau et de faune macro-invertébrée.

2) Termes et définitions

2.1

Appareils de prélèvement de type Surber (voir § 5.2)

Cadre équipé d'un filet de 0,5 mm de vide de maille (environ) et d'une base de 1/20 m² environ

2.2

Appareils de prélèvement de type Haveneau (voir § 5.2)

Cadre carré ou rond équipé du même filet que le Surber mais sans base de 1/20 m². Il peut être équipé d'un manche permettant d'échantillonner des substrats non prélevables avec la main en raison de la profondeur

2.3

Appareils de prélèvement de type Drague (voir § 5.2)

Cadre triangulaire en fonte de 39 cm environ d'ouverture pour les substrats les plus grossiers ou cadre cylindro-conique de 30 cm environ de diamètre d'ouverture pour les substrats fins, équipé d'un filet de 0,5 mm de vide de maille (environ). Les cadres sont reliés à une chaîne et peuvent être tractés à partir d'un bateau

2.4

Appareils de prélèvement de type « Substrats artificiels » (voir § 5.2)

Panier en grillage plastique de 30 x 20 x 5 cm environ de côté et de vide maille 2 cm (environ) renfermant des pierres qui seront dans la mesure du possible de même nature et de même taille que celles présentes sur le point de prélèvement

2.5

Echantillon

Ensemble des 12 **échantillons élémentaires** réalisés sur **un point de prélèvement à une date donnée**

2.6

Echantillon élémentaire

Éléments récoltés (substrat et macroinvertébrés) résultant d'un prélèvement élémentaire

2.7

Substrat

Éléments ou association d'éléments minéraux (pouvant inclure des éléments organiques), et/ou d'éléments végétaux, présentant des caractères physiques visiblement homogènes sur une certaine surface.

La liste des substrats est donnée au chapitre 5.2.2.

2.8

Macro-invertébrés aquatiques

Les macro-invertébrés aquatiques regroupent les insectes (larves, nymphes ou adultes), les crustacés, les mollusques, les vers et autres invertébrés, fixés sur un substrat ou non, dont une partie au moins du cycle de vie est aquatique. Ils doivent être retenus dans un filet de 0,5 mm de vide de maille

2.9

Habitat

Combinaison d'un **substrat** et d'une **classe de vitesse** de courant en surface. Le chapitre 5.2 liste les 12 types de substrats (bryophytes, hydrophytes ...) et les 4 classes de vitesse de courant utilisées

2.10

Prélèvement élémentaire

Prélèvement d'une placette (d'environ 1/20 de m²) réalisé au filet Surber ou au filet Haveneau ou prélèvement réalisé au moyen d'une drague ou résultant de l'immersion d'un substrat artificiel et permettant d'obtenir un échantillon élémentaire

2.11

Point de prélèvement représentatif

Portion de cours d'eau, où s'effectuent les prélèvements, représentative de l'hydro-morphologie d'un tronçon en termes de diversité des habitats physiques, y compris les éventuelles altérations hydro-morphologiques

2.12

Point de prélèvement

Portion de cours d'eau précisément délimitée sur laquelle a lieu l'opération de prélèvement ; sous-espace caractéristique et représentatif d'une station de mesure (voir 2.13) (d'après SANDRE 2008)

2.13

Station de mesure

Lieu situé sur un cours d'eau, sur lequel sont effectuées des mesures ou des prélèvements en vue d'analyses biologiques. Ces mesures peuvent être réalisées en différents points de prélèvement (voir 2.10), tous réputés cohérents et représentatifs de la même station de mesure (d'après SANDRE 2008)

2.14

Taxon

Unité systématique de détermination

2.15

Zone de berge

Zone de faible profondeur (≤ 1 m environ) dont la distance à une rive (ou à un îlot) est au plus égale à 5 % environ de la largeur mouillée moyenne (ou du bras délimité par la rive et cet îlot) à la date d'échantillonnage, au niveau du point de prélèvement (Cf. Fig. 1 § 5.1.2)

2.16

Zone profonde

Zone de profondeur voisine de la profondeur maximale sur le point de prélèvement, **non accessible à pied**, de faible pente moyenne (Cf. Fig. 1 § 5.1.2)

2.17

Zone intermédiaire

Zone de plus ou moins forte pente, de profondeur inférieure à environ 70% de la profondeur maximale sur un point de prélèvement, en continuité avec la zone de berge et à la limite du chenal dans les rivières à chenal unique (Cf. Fig. 1 § 5.1.2)

3) Principes de la méthode

Les étapes consistent à :

1. Identifier sur le terrain les trois zones de prélèvement (zone de berge, zone intermédiaire et zone profonde) (Cf. Fig.1 § 5.1.2) ;
2. Etablir un plan d'échantillonnage ;
3. Réaliser :
 - o un groupe de 4 prélèvements élémentaires dans **la zone de berge**, suivant l'ordre d'habitabilité des substrats (phase A) ;
 - o un groupe de 4 prélèvements élémentaires dans **la zone profonde** (phase B) ;
 - o un groupe de 4 prélèvements élémentaires dans **la zone intermédiaire** (phase C) ;
4. Remplir la fiche de prélèvement.

Les résultats seront exprimés sous la forme de 3 listes faunistiques par échantillon, soit une liste pour chaque phase quand la technique d'échantillonnage utilisée pour une zone donnée est homogène. Si la zone intermédiaire a été échantillonnée en associant 2 techniques d'échantillonnage, fournir alors 2 listes faunistiques séparées correspondant aux invertébrés aquatiques capturés par chacune des 2 techniques utilisées pour la phase correspondante (colonnes C et C' du tableau « quantification de l'échantillon » de la feuille d'échantillonnage cf. Annexe 2).

Ces listes permettront notamment par différentes combinaisons de recalculer par analogie avec le protocole de prélèvement des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes (norme XP T90-333 de septembre 2009) :

- une liste « habitats du chenal » (i.e. habitats « dominants » dans la norme XP T90-333) (phase B + phase C),
- une liste « habitats de berge » (i.e. habitats « marginaux ») (phase A),

- une liste « faune globale » (phase A + phase B + phase C).

4° Réactifs et appareillage

Avertissement concernant la sécurité :

- la manipulation des produits chimiques doit respecter les consignes des fiches de sécurité (notamment port de gants et de lunettes sur le terrain, étiquetage des flacons).
- les conditions de prélèvements en rivière doivent respecter les législations d'hygiène et sécurité en vigueur.

4.1° Réactifs

Il est rappelé que, dans la mesure où le formol présente des risques graves pour la santé, des techniques de conservation équivalentes doivent être privilégiées, comme par exemple la congélation ou la conservation à l'alcool.

4.1.1

Formol

La solution de commerce est diluée pour atteindre une concentration finale de formaldéhyde d'environ 3-4% dans l'échantillon. Le formol pourra être neutralisé avec du carbonate de calcium de façon à éviter la dissolution des coquilles de mollusques.

4.1.2

Ethanol (concentration finale dans l'échantillon de 70% à 80 % environ).

Attention : compte-tenu de la teneur en eau des échantillons, même égouttés sur tamis, cette teneur finale doit souvent être obtenue par ajout d'éthanol à 90% aux échantillons.

4.2° Matériel

- 4.2.1 **Echantillonneur Surber** à filet de maille 500 µm environ et de surface de base de 1/20 m² environ.
- 4.2.2 **Echantillonneur Haveneau** à filet de maille 500 µm environ et de largeur de base de 25 cm environ.
- 4.2.3 **Echantillonneur de type drague** à filet de maille 500 µm environ d'une longueur d'un mètre environ réglable, de largeur de base de 30 cm environ pour les circulaires et 39 cm environ pour les triangulaires.
- 4.2.4 **Substrats artificiels**
- 4.2.5 **Embarcation adaptée**
- 4.2.6 **Matériel d'estimation des distances**
- 4.2.7 **Glacière(s) et pains réfrigérants ou autres systèmes** permettant de conserver les échantillons à basse température (Indispensables en cas de congélation ultérieure).

5) L'échantillonnage

5.1) Etapes préalables aux prélèvements

5.1.1) Conditions des prélèvements

Le présent protocole est applicable en toute saison, toutefois, il est préférable d'éviter les périodes de hautes eaux. D'autres critères peuvent conduire à choisir une période de prélèvement particulière, ces conditions n'entrent pas dans le champ de ce présent document.

Les prélèvements ne doivent pas être réalisés durant des événements hydrologiques exceptionnels dommageables pour les invertébrés (e.g. forte crue ou assec).

5.1.2) Reconnaissance du point de prélèvement, repérage des zones de berge, intermédiaire et profonde

Les limites amont et aval du point de prélèvement sont supposées connues (cf. Avant propos) lors de l'échantillonnage. L'échantillonnage doit donc être précédé d'une reconnaissance du point de prélèvement, à partir **des 2 berges, en évitant dans la mesure du possible de piétiner le lit mineur**, pour :

A) Estimer la superficie mouillée

La largeur mouillée moyenne est estimée à partir de mesures de transects régulièrement espacés sur le point de prélèvement. Il est recommandé d'utiliser un télémètre. Cette largeur mouillée est notée L_m (en mètres, avec une décimale pour les largeurs inférieures à 5 m). La longueur totale (L_t) étant déjà définie lors du choix du point de prélèvement (cf. Avant-propos), la superficie mouillée, calculée par le produit $\{L_t * L_m\}$, est estimée en m^2 et notée S_m .

B) Repérer les différentes zones à échantillonner

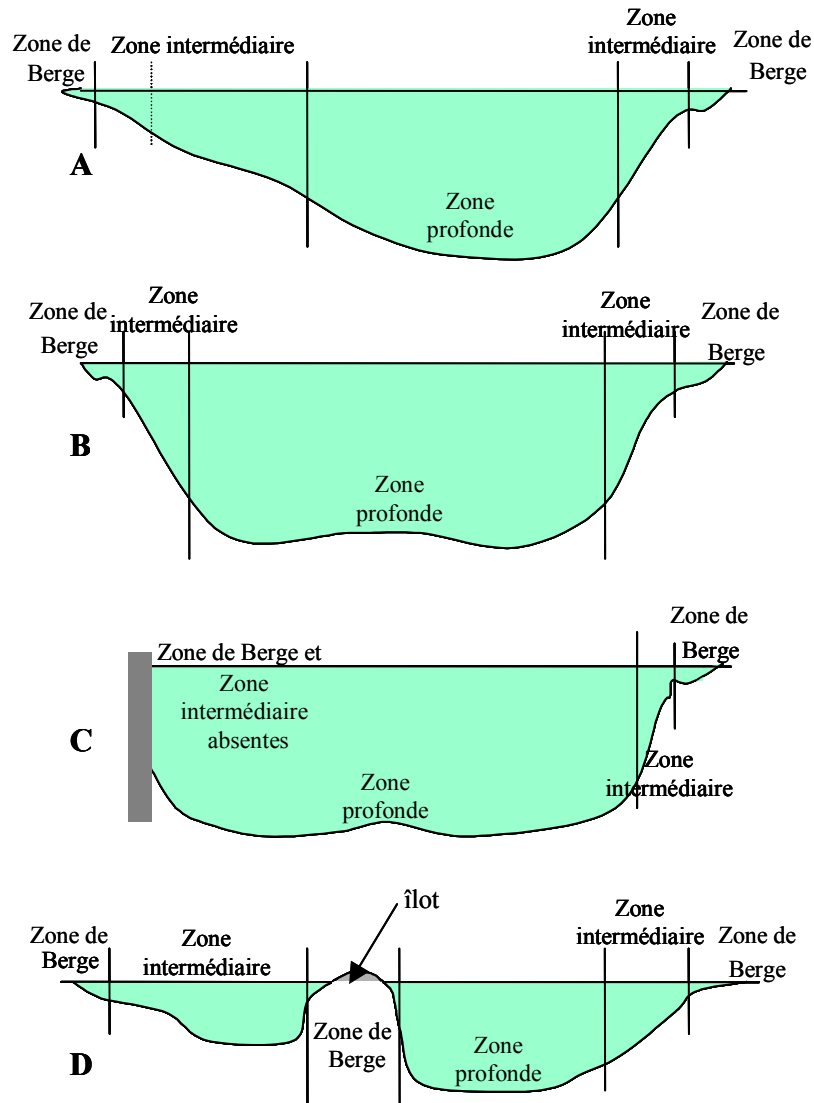


Figure 1 : Coupe transversale d'un cours d'eau profond. A) Exemple d'une zone intermédiaire accessible à pied. B) Exemple d'une zone intermédiaire inaccessible à pied. C) Exemple d'une zone de berge et d'une zone intermédiaire inexistantes. D) Exemple d'une zone intermédiaire sur un point de prélèvement à plusieurs chenaux d'écoulement de profondeurs nettement différentes.

Pour définir la zone intermédiaire, il est nécessaire de réaliser, au moins lors du premier passage sur le point de prélèvement, des transects à l'aide d'un écho-sondeur. Le nombre de transects devra varier de 3 à 10 en fonction de la complexité morphologique du cours d'eau (cf. Figure 2).

Il n'est pas nécessaire de faire des « points-contacts », dans la mesure où seuls des profils de profondeurs sont recherchés (et non une identification précise des substrats présents). La limite inférieure de la zone intermédiaire (i.e. limite zone intermédiaire / chenal profond) est définie comme correspondant à **une hauteur d'eau approximativement égale à 70% de la hauteur d'eau maximale dans la zone la plus profonde du point de prélèvement.**

Sa largeur est variable en fonction de sa pente, de la profondeur et de la largeur moyenne de la zone profonde.

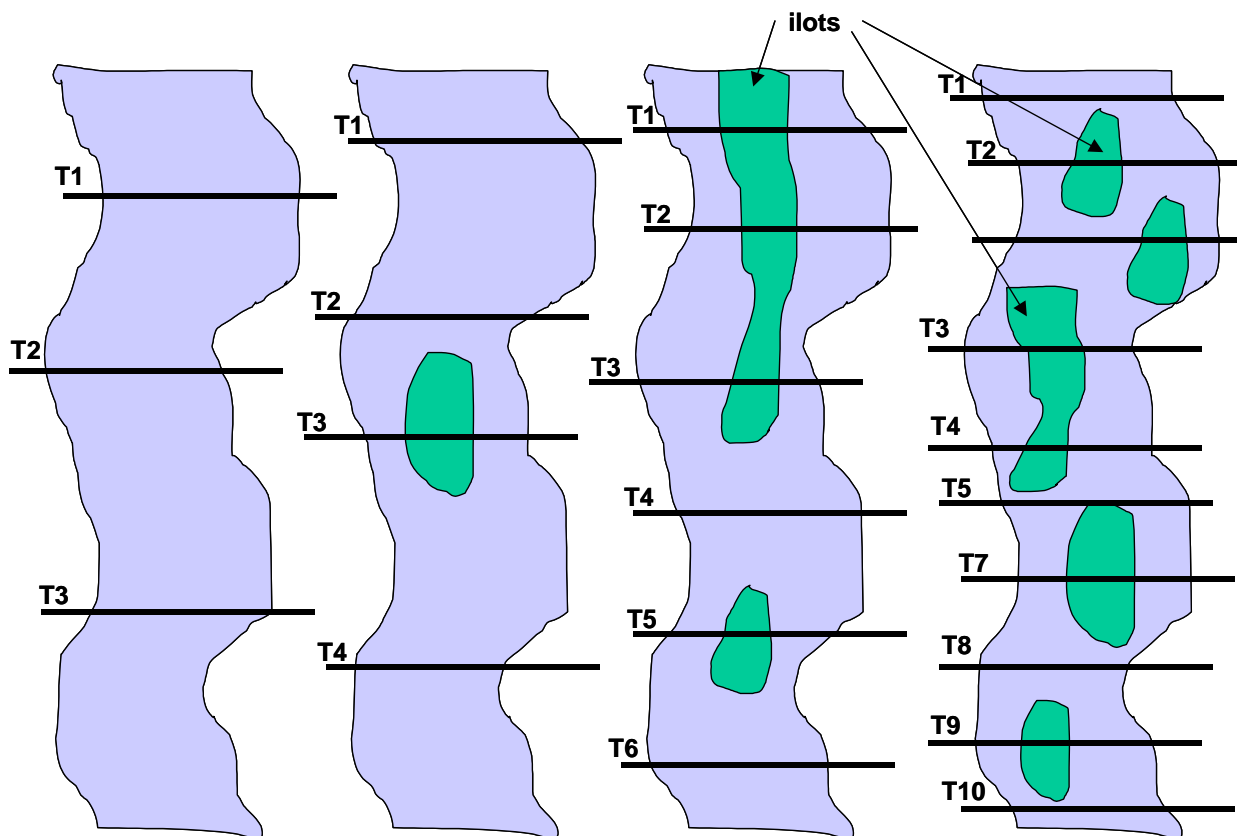


Figure 2 : Nombre de transects à réaliser à l'écho-sondeur compte tenu d'un gradient de complexité morphologique croissant (de la gauche vers la droite) d'un cours d'eau (présence d'îlots ou non). T1 à T10 = transects 1 à 10.

5.1.3^o) Plan d'échantillonnage prévisionnel

Suite aux repérages ci-dessus et avant tout prélèvement, l'opérateur doit définir un plan d'échantillonnage prévisionnel (c'est à dire les 12 prélèvements élémentaires et les méthodes d'échantillonnage associées pour les 3 combinaisons de 4 substrats-vitesses qu'il devra prélever).

Le plan d'échantillonnage prévisionnel devra respecter au mieux les directives ci-dessous :

A^o) Règles générales s'appliquant aux trois phases de prélèvement :

- Renseigner systématiquement, dans la zone correspondante de la feuille d'échantillonnage fournie en Annexe 2 (tableau « % de recouvrement de chaque zone »), l'occupation relative de chacune des 3 zones sur l'ensemble de la station ;
- Renseigner, pour les phases B et C, par une croix (X) dans la colonne « recouvrement » de la zone correspondante de la feuille d'échantillonnage, la nature des substrats présents ;
- Relever systématiquement, dans la colonne correspondante du tableau « information sur l'échantillon » de la feuille d'échantillonnage, la nature du substrat dominant, la classe de vitesse de surface, la technique de prélèvement, la phase d'appartenance et la classe de hauteur d'eau pour chaque prélèvement unitaire ;
- Tous les prélèvements unitaires par filet Surber (ou filet Haveneau) peuvent être réalisés à partir d'une seule rive, sauf si la zone de berge ou la zone intermédiaire situées à proximité de l'autre rive présente un type de substrat original, qui doit être obligatoirement prélevé compte tenu des critères de sélection des substrats à appliquer dans le plan d'échantillonnage ;

- Les substrats artificiels doivent obligatoirement être posés à partir des deux rives (sauf si la zone intermédiaire est inexistante sur l'une des deux rives) même si les rives paraissent homogènes ;
- Prévoir la pose d'un nombre suffisant de substrats artificiels (4 à 6 pour en récupérer 2 ; 6 à 8 pour en récupérer 4) ;
- Les dragages peuvent être réalisés à pied et à la main, à partir de la rive pour les petits cours d'eau profonds à condition de pouvoir atteindre - à pied - la moitié de la largeur du lit mouillé ;
- Lorsque des prélèvements doivent être réalisés à la drague, il est vivement conseillé de réaliser plusieurs dragages afin de conserver les 4 (ou 2 selon le nombre à réaliser par zone) premiers, parmi ceux réalisés, présentant un volume de substrat au moins égal au volume minimal à recueillir (i.e. 1 L pour les sédiments fins ou substrats organiques et 5 L pour les sédiments grossiers).

B) Règles générales s'appliquant, aux prélèvements réalisés par filet Surber ou par filet Haveneau :

- **Pour un substrat donné**, le premier prélèvement élémentaire est réalisé dans la **classe de vitesse la plus représentée en surface** pour ce substrat. Le cas échéant, les suivants sont réalisés en faisant **varier, si possible, la classe de vitesse par ordre décroissant de représentativité**. Si nécessaire, lorsque toutes les classes de vitesses représentées sur le point de prélèvement pour ce substrat ont été échantillonnées, celles-ci sont à nouveau échantillonnées dans l'ordre décroissant de représentativité ;
- Si un seul prélèvement élémentaire doit être réalisé dans un type de substrat végétal (hydrophytes, héliophytes), il est réalisé si possible sur le **taxon végétal dominant en superficie** (et dans la classe de vitesse la plus représentée) **au sein de ce type de substrat**. Si plusieurs prélèvements élémentaires doivent être réalisés dans un même type de substrat végétal et dans une même classe de vitesse, ils sont réalisés si possible sur les différents taxons végétaux présents par ordre décroissant de représentativité. Il n'est pas nécessaire de tracer cette information sur les fiches de prélèvement ;
- Lorsque le choix entre plusieurs substrats différents est possible dans un même type de substrat (e.g. racines ou branchages, sables ou limons), choisir, parmi les différents substrats possibles, le **substrat dominant** de façon à privilégier la reproductibilité. Si plusieurs prélèvements élémentaires doivent être réalisés dans un même type de substrat et dans la même classe de vitesse, ils sont réalisés si possible sur les différents substrats par ordre décroissant de représentativité.

C) Règles concernant chacune des 3 phases

- Règles concernant la phase A : échantillonnage de la **zone de berge**

Dans la zone de berge, **4 prélèvements unitaires** sont réalisés, par filet Surber ou filet Haveneau, avec priorité à l'habitabilité du substrat selon l'ordre préconisé dans le tableau I (cf. § 5.2.2) et les règles définies au paragraphe 5.1.3.B.

Les priorités d'échantillonnage sont les suivantes :

- **Si plus de 4 substrats à prélever avec un filet Surber** ou Haveneau ont été identifiés, seuls les **4 premiers dans l'ordre du tableau I** sont échantillonnés ;
- **Si seulement 3 substrats à prélever avec un filet Surber** ou Haveneau ont été identifiés, le **4ème prélèvement est effectué sur le substrat présentant la plus grande superficie**. Si deux substrats présentent des surfaces de recouvrement équivalentes, échantillonner le substrat le plus habitable selon l'ordre du tableau I ;

- **Si seulement 2 substrats à prélever avec un filet Surber** ou Haveneau ont été identifiés, les **2 prélèvements restants sont effectués sur ces deux substrats** ;
- **Si un seul substrat à prélever avec un filet Surber** ou Haveneau a été identifié, les 4 prélèvements sont effectués sur ce même substrat.

Les différents substrats représentatifs de la zone de berge sont identifiés, et leur surface relative sera évaluée de manière semi-quantitative au sein de la zone de berge, en utilisant 3 modalités à renseigner dans la colonne « recouvrement zone de berge » de la feuille d'échantillonnage :

- « + » = faible surface de recouvrement du substrat (< 10% de la zone de berge sur le point de prélèvement),
- « ++ » = surface de recouvrement moyenne (\geq 10-50% de la zone de berge sur le point de prélèvement),
- « +++ » = surface de recouvrement importante (\geq 50% de la zone de berge sur le point de prélèvement).

Si la zone de berge n'existe pas, racler au filet Haveneau la zone de bordure sur 1 m de profondeur maximum à quatre reprises (pour conserver un effort d'échantillonnage correspondant à 4 prélèvements unitaires) en différents points le long du point de prélèvement.

- Règles concernant la phase B : échantillonnage de la zone profonde.

La zone profonde est prospectée par dragage du fond à partir d'une embarcation en cherchant à obtenir une image représentative des habitats profonds présents.

Réaliser 4 dragages répartis sur toute la longueur du point de prélèvement et sur toute la largeur de la zone du chenal (Cf. Fig. 3) selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.A.

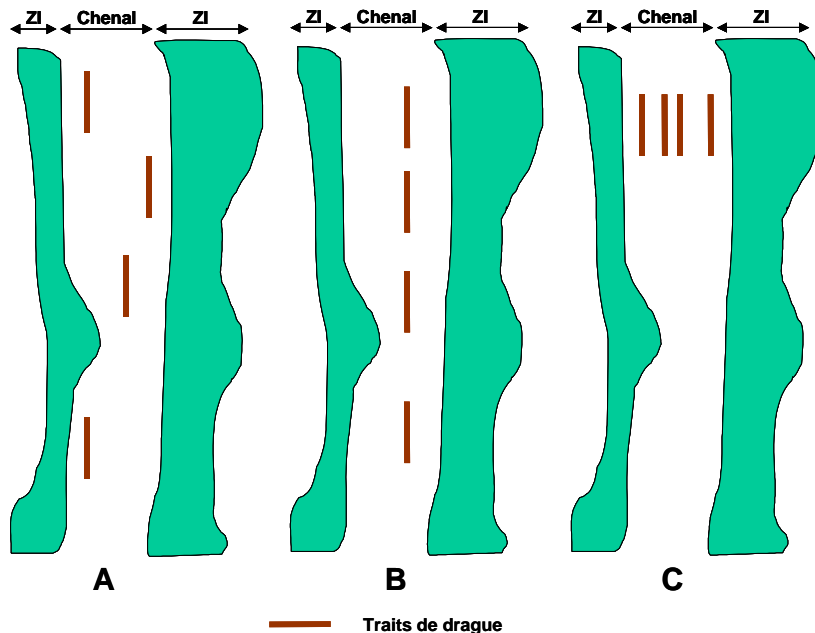


Figure 3 : Exemple de répartition des dragages à effectuer dans la zone du chenal. A : cas conseillé, B et C : cas déconseillés. ZI = Zone intermédiaire.

Si le substrat est fin et la profondeur inférieure à 2m, le dragage peut éventuellement être remplacé par un prélèvement au filet Haveneau à partir d'une embarcation.

- Règles concernant la phase C : échantillonnage de la zone intermédiaire.

Les techniques d'échantillonnage sont à adapter à la nature et à l'accessibilité des substrats présents.

(i) Si tous les types de substrat de la zone intermédiaire sont accessibles à pied (profondeur ≤ 1 m) et visibles ou sondables : 4 prélèvements unitaires au filet Surber sont à réaliser selon les mêmes règles que pour la phase A.

(ii) Si une partie seulement des types de substrat de la zone intermédiaire est accessible à pied, associer 2 prélèvements au filet Surber (ou filet Haveneau) dans la zone accessible à pied à 2 prélèvements dans la zone profonde (> 1 m) réalisés avec une technique d'échantillonnage à adapter en fonction de la nature du substrat.

- Dans la zone accessible à pied, réaliser 2 prélèvements au filet Surber ou au filet Haveneau avec priorité à l'habitabilité du substrat selon l'ordre du tableau I. Si un seul type de substrat est identifié, faire 2 prélèvements sur ce type de substrat selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.B.,
- Dans la zone non accessible à pied, si la pente est faible ou la granulométrie ≤ 250 mm, réaliser au moins 2 dragages, selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.A.,
- Si la pente est forte (supérieure à 45° environ) et la granulométrie > 250 mm (conditions de dragage impossible), poser 2 substrats artificiels selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.A.

(iii) Si tous les types de substrat de la zone intermédiaire ne sont pas accessibles réaliser, lorsque la pente est faible ou la granulométrie ≤ 250 mm, 4 dragages selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.A.

Si la pente est trop forte et la granulométrie > 250 mm (conditions de dragage impossibles) : poser 4 substrats artificiels selon les règles définies au paragraphe 5.1.3.A.

(iv) Si les rives sont verticales ou à très forte pente ne permettant pas la pose de substrats artificiels, on considèrera la zone intermédiaire comme absente. 4 dragages supplémentaires seront alors réalisés dans la zone profonde.

5.1.4) Difficulté de réalisation du plan d'échantillonnage et recommandations/prescriptions

Le plan d'échantillonnage et l'estimation semi-quantitative des surfaces de recouvrement des différents substrats de la zone de berge peuvent être difficiles à élaborer pour les raisons suivantes :

- accès aux berges difficile ou impossible (ceinture de végétation, clôture infranchissable ...) ;
- difficulté pour voir le fond correctement, (turbidité chronique de l'eau, colmatage du fond par des fines ou autres, turbulence, profondeur, ombrage ...) ;
- mélange difficilement quantifiable (par exemple : Surfaces/Blocs/Pierres en montagne, pierres enchâssées dans du sable, mélange limon/sable/vase) ; ...
- colmatage (par des limons, des vases ...).

Les difficultés rencontrées pour établir le plan d'échantillonnage et estimer semi-quantitativement le % de recouvrement devront être indiquées sur la feuille d'échantillonnage.

Dans les **zone de marnage** : échantillonner au niveau le plus bas (débit réservé, étiage), ou à marée basse (pour les zones sous l'influence des marées).

5.2) Echantillonnage

5.2.1) Généralités

Les prélèvements élémentaires peuvent être réalisés dans un ordre quelconque des phases et à l'intérieur de chaque phase.

Les prélèvements élémentaires doivent si possible être réalisés de l'aval vers l'amont pour éviter :

- 1) la gêne occasionnée par le trouble éventuel de l'eau,
- 2) de récolter des invertébrés en dérive,
- 3) d'endommager des habitats non prélevés.

Les recommandations d'utilisation d'une technique d'échantillonnage suivant la profondeur sont les suivantes :

- 1- jusqu'à 60 cm : filet Surber,
- 2- jusqu'à 2 m : filet Haveneau
- 3- pour une profondeur supérieure à 2 m : drague (ou Substrat artificiel selon les conditions de pente et granulométrie).

A) Echantillonnage au filet Surber ou Haveneau

La méthode consiste (cf. tableau I paragraphe 5.2.2) :

1. soit à ramener dans le filet, à la main, une partie du substrat présent sur la placette ;
2. soit à agiter, frotter ou gratter le substrat avec les doigts, sans le prélever, dans le but de décrocher les individus fixés.

Les prélèvements en courant rapide se feront en veillant à ce que le courant entraîne les éléments récoltés (macroinvertébrés et, le cas échéant, le substrat) dans le filet. Pour les courants lents, l'entraînement dans le filet peut être réalisé, par exemple, par le mouvement de la main de l'agent préleveur.

Dès que la profondeur est supérieure à la longueur du bras, la prospection au filet Haveneau est réalisée :

1. soit par traction sur 50 cm dans un substrat meuble,
2. soit en ramenant le substrat dans le filet à l'aide du pied. Toutefois, la méthode par simples coups de pied devant le filet est à proscrire ;
3. soit, à défaut, par mouvement de va et vient sur une surface équivalente (agitation). La surface supplémentaire prospectée par rapport à celle du filet Surber compense la fuite d'une partie des individus.

Il est recommandé que le filet soit vidé dans un récipient entre chaque prélèvement élémentaire. Et cela dans des conditions limitant les pertes (projection hors du récipient de récupération), en plaçant par exemple un tamis de 0,5mm de vide de maille environ sous le récipient.

B) Echantillonnage par dragage

Les substrats des zones intermédiaires et du chenal profond de type sable à limon peuvent être échantillonnés à l'aide d'une drague cylindro-conique de modèle océanique.

Les substrats grossiers du chenal profond de granulométrie > 2mm pourront être échantillonnés à l'aide d'une drague triangulaire (Cf. Fig. 4). Cette drague est particulièrement conseillée pour les granulométries les plus grossières.

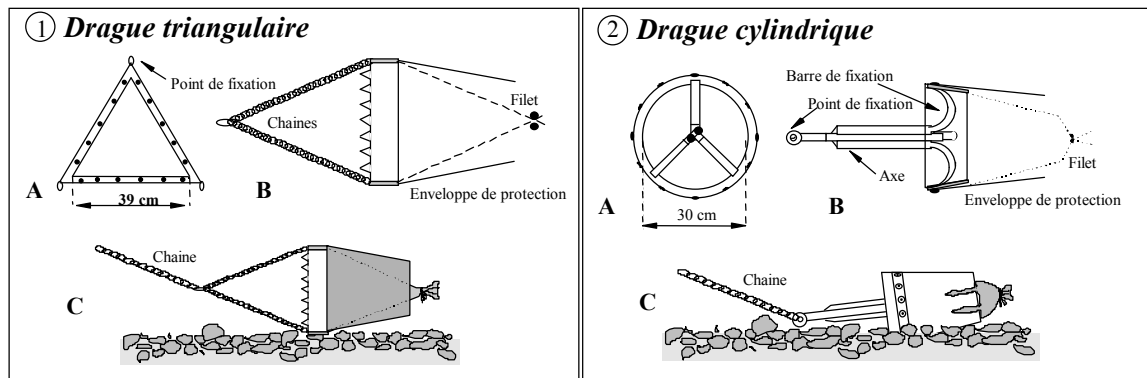


Figure 4 : Appareil de prélèvement : dragues. 1) Drague triangulaire. 2) Drague cylindro-conique. A) Vue de face. B) Vue de côté. C) Vue de la drague en position d'échantillonnage. (D'après Bachmann, 2000¹)

Pour que la drague résiste au courant, éviter qu'elle rebondisse sur le fond de la rivière, et ne prélève du sédiment que très superficiellement et épisodiquement, il est préconisé d'utiliser une drague en fonte d'environ 25 kg (et non en aluminium, trop légère).

Pour certains fonds très grossiers ou des vitesses de courant élevées, la drague devra être lestée.

Il est préconisé d'utiliser un filet ouvert d'une longueur de 1m environ, réglable, de façon à adapter la longueur du filet au volume de substrat à prélever compte-tenu de sa granulométrie.

L'échantillonnage s'effectue à partir d'une embarcation motorisée. La drague est remorquée face au courant sur une distance suffisante pour récolter au moins un litre de sédiment meuble (< 2mm) et jusqu'à 5 litres de sédiment grossier (>= 2mm) (quelques mètres à dizaines de mètres sont habituellement nécessaires, suivant la granulométrie du substrat).

Les sédiments recueillis sont déversés dans une cuvette et le filet de la drague est soigneusement lavé en veillant à récupérer tous les invertébrés accrochés au filet.

Afin de réduire le volume du prélèvement à fixer, les éléments les plus grossiers (e.g. sédiments minéraux de grande taille) seront brossés sur le terrain pour recueillir la faune et laissés dans le milieu naturel.

C) Echantillonnage par pose de substrats artificiels

Les substrats artificiels sont constitués de pierres qui seront dans la mesure du possible de même nature et de même granulométrie que celles présentes dans le cours d'eau sur le point de prélèvement. Le substrat minéral peut éventuellement être associé à de la corde sisal (environ 20 m de diamètre 5 mm) pour augmenter la diversité des habitats disponibles au sein du substrat artificiel (Cf. Fig. 5).

Si le substrat présent dans le milieu est assimilable à de la roche dure ou de l'argile compacte, remplacer les pierres par une tuile.

¹ Bachmann, V., 2000. Dynamique spatio-temporelle d'espèces invasives, particulièrement *Corbicula spp.* et *Dreissena polymorpha* (Mollusca : Bivalvia) en hydrosystème fluvial : évolution des populations et effets de l'artificialisation sur les peuplements macrobenthiques. Thèse, Université de Metz, Metz. 229p

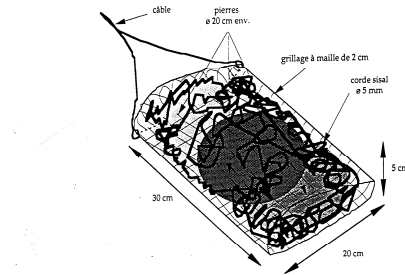


Figure 5 : Appareil de prélèvement : substrat artificiel (exemple de remplissage).

Les substrats artificiels seront toujours répartis sur les 2 rives, même si les rives paraissent homogènes (sauf si la zone intermédiaire n'existe pas sur une des 2 rives) dans des habitats présentant des caractéristiques différentes (de vitesse, de nature des fonds, de profondeur) en respectant les conditions d'utilisation décrites dans le paragraphe 5.1.3.A.

Ils seront déposés dans la zone intermédiaire « non accessible à pied » (i.e. dans plus d'un mètre d'eau), sur le fond du cours d'eau, au bout d'un câble relié à la rive en veillant à ce qu'il n'y ait pas de risque d'exondation.

Si ces deux conditions sont respectées, le substrat artificiel sera considéré comme à la « bonne profondeur ».

Si le déplacement « naturel » des substrats (e.g. par un épisode de crue violent) et/ou si une réduction importante du débit lors de la phase de colonisation font que certains substrats artificiels sont retrouvés dans une combinaison « distance à la rive x hauteur d'eau » qui ne correspond plus exactement aux caractéristiques de la zone intermédiaire, retenir de préférence, parmi les substrats artificiels déposés, ceux qui ont été retrouvés dans les conditions environnementales les plus proches de la définition de la zone intermédiaire. Ne pas retenir un substrat artificiel, s'il y a suspicion d'exondation (naturelle ou anthropique), même temporaire, au cours de la phase de colonisation.

Selon la distance à la berge, le substrat artificiel peut être posé soit à partir de la rive, soit à partir d'une embarcation, mais toujours relié à la berge par un filin à camoufler soigneusement pour éviter les retraits/dégradations/pertes intempestifs d'origine anthropique. On évitera de les poser dans des secteurs à trop forte sédimentation de façon à éviter un colmatage trop rapide du substrat artificiel par du sédiment fin.

Les substrats posés dans des zones à courant rapide doivent être lestés pour éviter qu'ils ne se retrouvent suspendus en pleine eau.

Les substrats artificiels sont immergés pendant une période de 3 à 6 semaines : durée qui correspond à une colonisation optimale du substrat artificiel par la faune macro-invertébrée benthique. Parmi les substrats artificiels récupérés après colonisation, ne conserver que les 2 ou 4 (selon les règles d'échantillonnage présentées au paragraphe 5.1.3) qui présentent manifestement une bonne efficacité de capture de la faune [i.e. les substrats qui a priori n'ont pas subi d'accident apparent pendant la période de colonisation (pas d'exondation, non emportés par le courant) ou pendant la phase de « récolte » (absence de lessivage visible des organismes lors de la remontée du substrat artificiel), Cf ci-dessous)].

Si tous les substrats retirés ont été colonisés dans de bonnes conditions, conserver les 2 ou 4 substrats qui correspondent à la plus grande variété des habitats (i.e. en termes de nature du substrat, vitesse de courant) sur lesquels ils ont été positionnés.

Les substrats artificiels sont obligatoirement à **retirer** (et non à placer) lors de l'échantillonnage de la zone de berge et du chenal profond de la station. En effet, la communauté benthique au sein du substrat artificiel, doit avoir subi les mêmes événements hydrologiques que la faune benthique en place.

Pour le retrait, le substrat est d'abord rapproché en douceur de la rive, jusqu'à la surface de l'eau, puis il est conseillé de le mettre le plus rapidement possible dans un filet de vide de maille 0,5 mm environ (filet troubleau ou filet Haveneau) avant de le remonter. Le filet sera glissé sous le substrat artificiel avant son émergence afin de limiter les pertes d'organismes qui peuvent se produire par lessivage lors du retrait de l'eau. Il s'avère que le lessivage du substrat artificiel est limité s'il est déplacé lentement

et tant qu'il n'est pas exondé par l'opérateur. Il faut donc prévoir de le glisser avec précaution dans un filet **AVANT** de le sortir de l'eau.

Il est fortement recommandé de le retirer à partir d'une embarcation, car avec un bateau on peut plus rapidement entourer le substrat artificiel par un filet avant sa sortie de l'eau, et le récupérer en minimisant les pertes d'organismes par lessivage.

Si les substrats artificiels ne peuvent être lavés et analysés dans les 24h après prélèvement, ils devront être fixés sur le terrain.

Les substrats artificiels permettent d'échantillonner une zone qui n'est pas échantillonnable à l'aide d'un filet Haveneau (car trop profonde) ou par dragage à partir d'une embarcation (car la pente y est trop importante).

Ils ne concernent que la zone intermédiaire, et **ne sont à utiliser que lorsque les autres techniques d'échantillonnage ne sont pas envisageables [i.e. une granulométrie très grossière ($\phi > 250$ mm), une forte pente].**

5.2.2) Liste des substrats et méthodes de prélèvement associées

Les différents types de substrat sont classés dans le tableau I selon l'ordre d'habitabilité décroissante à appliquer pour l'échantillonnage des phases A et C (dans la zone accessible à pieds). Ce tableau précise également la technique d'échantillonnage propre à chacun d'eux.

Pour tous les substrats, il est rappelé qu'ils ne doivent pas être nettoyés **avant** le prélèvement (par exemple en enlevant une fine couche d'algues sur le substrat « pierres »).

Tableau I : Mode de prélèvement des substrats :

Définition du substrat principal	Habitabilité	Récupération du substrat	Agitation du substrat seulement
Bryophytes	11		X (frotter, peigner)
Spermaphytes immergés (<i>hydrophytes</i>)	10	X (couper)	
Débris organiques grossiers (<i>litières</i>)	9	X (volume final (1) maximum 1 L environ)	
Chevelus racinaires libres dans l'eau (2)	8		X (frotter, peigner)
Substrats ligneux		X pour les dépôts de petites branches (volume final (1) maximum de 1 L environ)	X pour les grosses branches (frotter toute la surface)
Sédiments minéraux de grande taille (<i>pierres, galets</i>) (25 à 250 mm)	7		X (frotter toute la superficie des pierres volumineuses (3) et s'assurer visuellement qu'il n'y a plus d'organismes accrochés. Agiter la couche sous les pierres sur environ 3 cm d'épaisseur)
Blocs facilement déplaçables (> 250 mm)	6		X (frotter la superficie de toutes les faces des blocs et s'assurer visuellement qu'il n'y a plus d'organismes accrochés. Agiter la couche sous les blocs comme le substrat 7)
Granulats grossiers (<i>graviers</i>) (2 à 25 mm).	5	X (récolter sur environ 3 cm d'épaisseur)	
Spermaphytes émergents (<i>hélophytes</i>) (4)	4		X (frotter, peigner)
Vases : <i>sédiments fins</i> (< 0,1 mm) avec <i>débris organiques fins</i>	3	X (récolter sur environ 3 cm d'épaisseur pour un volume final (1) d'environ 1 L maximum)	
Sables (< 2mm)	2	X (récolter sur environ 3 cm d'épaisseur pour un volume final (1) maximum de 1 L environ)	
Limons		X (récupérer la couche sur environ 3 cm d'épaisseur, même si le limon n'est pas retenu par le filet par la suite)	
Algues	1	X (couper)	
Surfaces uniformes dures naturelles ou artificielles (<i>roches, dalles, blocs non facilement déplaçables, marnes et argiles compactes</i>) (5)	0		X (frotter toute la superficie)

- (1) Le volume final est celui récupéré **après** les traitements de terrain (cf. chapitre 5.3)
 (2) Le chevelu racinaire libre dans l'eau inclut les racines libres d'hélophytes.
 (3) Cf. chapitre 5.3.1 pour le terme « volumineux »
 (4) le terme « hélophytes » inclut la partie immergées – mais en dehors du substrat sous-jacent - des hélophytes de la strate basse » type cresson, bérule, véronique ..., ainsi que celle des hélophytes de la strate haute (roseaux, iris, massettes ...).
 (5) cette définition s'applique aux substrats significativement cimentés par des concrétions calcaires ou enchâssés (impossibilité de retirer les pierres par exemple)

5.2.3) Liste des classes de vitesses

Les classes de vitesses sont estimées à partir de la vitesse de surface exprimée en cm.s^{-1} .

Tableau II : Définition des classes de vitesse :

CLASSE VITESSE (cm/s)	VITESSE	CODE SANDRE
$v < 5$	Nulle	N1
$25 > v \geq 5$	Lente	N3
$75 > v \geq 25$	Moyenne	N5
≥ 75	Rapide	N6

Les vitesses peuvent être estimées à vue (par exemple en observant la dérive d'un objet flottant).

5.3) Traitement de l'échantillon sur le terrain

5.3.1) Lavage du substrat

1) Dans le cas où des éléments volumineux (par la taille : pierres, branches ...) sont entraînés dans le filet, ils peuvent être nettoyés à la main ou à la brosse, soit dans le courant et devant le filet, soit dans le filet, soit sur un tamis de 0,5 mm environ.

**Ces éléments volumineux doivent être soigneusement examinés avant d'être rejetés.
 Les autres éléments (= non volumineux) doivent être conservés après le lavage du substrat.**

2) Les graviers peuvent aussi être éliminés sur le terrain après un lavage, par exemple sur une colonne de tamis de 5 mm et 0,5 mm environ, et s'être assuré visuellement qu'il n'y a plus d'organismes sur le tamis de 5 mm.

3) Dans les cas où le volume prélevé est trop important, une élutriation peut être réalisée soit sur le volume excédentaire, soit sur la totalité du volume présent dans le filet. Dans le deuxième cas, une partie du refus d'élutriation sera récupérée dans le récipient afin de conserver les taxons résistants à l'élutriation, le reste pourra être éliminé sur le terrain.

5.3.2) Cas des taxons fragiles ou protégés

Les organismes fragiles (par exemple Ephéméroptères, Triclades, Spongiaires, Bryozoaires ...) peuvent être mis dans un récipient séparé, étiqueté comme le récipient principal.

Les individus d'espèces protégées dont l'identification est possible sur le terrain seront comptés et remis dans le milieu naturel (par exemple écrevisses indigènes, moules d'eau douce, ...).

5.4) Traitement des échantillons élémentaires

Les regroupements d'échantillons élémentaires d'une même zone, réalisés avec la même technique d'échantillonnage sont possibles sur le terrain mais ils doivent être compatibles avec la méthode appliquée pour la suite du traitement des échantillons.

Chaque récipient, contenant tout ou partie d'un échantillon, doit être identifié de manière non équivoque (le nombre et le numéro des prélèvements qui ont été regroupés doivent être clairement indiqués et il est nécessaire de bien indiquer à quelle zone ils correspondent).

Il n'est pas possible de regrouper les prélèvements de deux zones différentes.

Dans la zone intermédiaire, si deux techniques d'échantillonnage différentes ont été utilisées, ne regrouper que les prélèvements effectués avec la même technique.

5.5) Conservation des échantillons

Le mode de conservation des échantillons reste au choix du laboratoire.

Les échantillons peuvent être conservés selon les méthodes suivantes :

- Congélation.
- Fixation par l'alcool. L'alcool doit être homogénéisé rapidement dans l'échantillon
- Fixation par le formol. Le formol doit être homogénéisé rapidement dans l'échantillon.
- Toute autre technique permettant d'obtenir des résultats équivalents.

L'association de plusieurs de ces méthodes est envisageable.

L'usage d'une fixation ou de la congélation demande le respect des conditions suivantes :

1. Dès que les échantillons sont prélevés, si la fixation ou la congélation ne peut être faite immédiatement, ils doivent être conservés dans une glacière réfrigérée ou un système équivalent.
2. Au plus tard dans les 12 h suivant l'échantillonnage, les prélèvements doivent être fixés ou congelés.

Il n'est pas nécessaire de procéder à un contrôle des températures de conservation.

En cas de constat de dégradation des individus, l'essai devra être déclaré non-conforme à la présente norme.

La congélation détruisant des taxons comme les planaires et certains oligochètes, si la conservation de ces taxons est demandée, il est recommandé, préalablement à la congélation, de procéder à une élutriation/alcoolisation du surnageant sur le terrain (ou toute autre méthode de fractionnement et conservation présentant des résultats au moins équivalents).

5.6) Informations à relever sur le terrain et informations à présenter sur le rapport d'essai

Note : l'utilisation des définitions et valeurs du SANDRE est fortement recommandée pour toutes les informations codées par cet organisme.

Informations obligatoires à reporter dans le tableau correspondant de la feuille d'échantillonnage (« fiche envoi CEMAGREF » de l'Annexe 2).

- au niveau du point de prélèvement : la présence de chacune des 3 zones,
- au niveau du point de prélèvement : l'occupation relative de chacune des 3 zones,
- au niveau du point de prélèvement : la présence des différents types de substrats identifiés dans chacune des 3 zones,
- pour chacun des 12 prélèvements unitaires :
 - o le code du substrat (pour les substrats artificiels indiquer le code du substrat dominant sur lequel le dispositif a été posé ; si le substrat n'est pas connu le noter comme non déterminé (code sandre « non déterminé » = S31)

- o la classe de vitesse (cf. Tableau II),
- o la classe de hauteur d'eau (cf. Tableau III),

Tableau III – Définition des classes de hauteur d'eau.

CLASSE DE HAUTEUR D'EAU	CODE SANDRE	HAUTEUR D'EAU en m
1	M6	<= 1m
2	M4	> 1-2m
3	M7	> 2-4m
4	M8	> 4-8m
5	M9	> 8-16m
6	M10	> 16m

- o la technique d'échantillonnage,
- o le numéro de phase.

5.6.1) Description du point de prélèvement et de l'opération de prélèvement

	A relever sur la fiche de terrain	A présenter dans le rapport d'essai
1) Point de prélèvement et localisation géographique précise du point de prélèvement		
Indications sur l'emplacement du point de prélèvement de façon suffisamment explicite et précise permettant de retrouver la localisation exacte du point avec certitude.	X	X
2) Opération de prélèvement		
Date du prélèvement	X	X
Nom Organisme préleveur	X	X
Commentaire de l'opération de prélèvement pouvant inclure -1) conditions de prélèvement y compris écart au protocole 2) difficulté à réaliser le plan d'échantillonnage (turbidité, profondeur) ; 3) observation sur le site et son environnement	X	X
3) Description du point de prélèvement et de son environnement		
Longueur du point de prélèvement	X	X
Largeur mouillée moyenne lors du prélèvement	X	X
Situation hydrologique apparente (basses eaux ...)	X	X
Situation hydrologique les jours précédant le prélèvement		X
Visibilité du fond moyenne évaluée	X	X

5.6.2) Description des prélèvements élémentaires

Les informations sont listées dans le tableau IV.

Tableau IV : Description des prélèvements élémentaires :

N° prélèvement élémentaire	Substrat prélevé	Substrat secondaire 1 (facultatif)	Classe de vitesse	Classe de Hauteur d'eau	Colmatage (nature) (facultatif)	Colmatage (Intensité) (facultatif)	Matériel de prélèvement	Commentaire sur le prélèvement	Phase
1 à 12	Cf. Tableau I	Cf. Tableau I	Cf. Tableau II	Cf. Tableau III			Surber Haveneau, Drague , Substrat artificiel	libre	A à C

Bibliographie

Norme XP T 90-333 : Qualité écologique des milieux aquatiques. Qualité de l'eau. Prélèvement des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes. 2009.

Prénorme XP T 90-388 : Qualité écologique des milieux aquatiques. Qualité de l'eau. Traitement au laboratoire d'échantillons contenant des macro-invertébrés de cours d'eau. 2010.

Annexe 1 : Taxons invasifs susceptibles d'être prochainement rencontrés et à intégrer dans la liste faunistique

« Groupe »	Familles	Genres
Crustacea	Gammaridae	<i>Gmelinoides</i> *
	Pontogammaridae	<i>Obesogammarus</i> *
	/	<i>Pontogammarus</i> *
	Mysidae	<i>Paramysis</i> *
	Parastacidae	<i>Cherax</i> *
	Panopeidae	<i>Rhithropanopeus</i> *
Bivalvia	Cardiidae	<i>Hypanis</i> *
	Dreissenidae	<i>Mytilopsis</i> *
	Mytilidae	<i>Limnoperna</i> *
Gastropoda	Planorbidae	<i>Helisoma</i> *
	Thiaridae	<i>Melanoides</i> *

Annexe 2 : Feuille d'échantillonnage

Cf. tableau EXCEL joint