



**HAL**  
open science

# LA CONGÉLATION : UNE ALTERNATIVE AU FORMOL POUR LA CONSERVATION DES MACRO-INVERTÉBRÉS AQUATIQUES

Mazuer Pierre, Heudre David, Matte Jean-Luc, Laura Moreau

► **To cite this version:**

Mazuer Pierre, Heudre David, Matte Jean-Luc, Laura Moreau. LA CONGÉLATION : UNE ALTERNATIVE AU FORMOL POUR LA CONSERVATION DES MACRO-INVERTÉBRÉS AQUATIQUES. DIREN Lorraine. 2008, pp.57. hal-04875932

**HAL Id: hal-04875932**

**<https://hal.science/hal-04875932v1>**

Submitted on 9 Jan 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# LA CONGÉLATION : UNE ALTERNATIVE AU FORMOL POUR LA CONSERVATION DES MACROINVERTÉBRÉS

COMPARAISON DES DEUX MÉTHODES SUR LE RÉSEAU DE RÉFÉRENCE (2005/2006)



## **La congélation : une alternative au formol pour la conservation des macroinvertébrés**

### **Comparaison des deux méthodes sur le Réseau de référence (2005/2006)**

Editeur :  
Direction Régionale de l'Environnement  
19 avenue Foch, BP 60223  
57005 Metz cedex 1  
Tel : 03-87-39-99-99  
Fax : 03-87-39-99-50

Auteurs :  
Heudre D.<sup>1</sup>, Mazuer P.<sup>2</sup>, Matte J.L.<sup>3</sup>, Moreau L.<sup>4</sup>.

- 1 : Hydroécologue
- 2 : Hydroécologue, responsable de la Cellule Eau et Milieux Aquatiques, spécialiste des macroinvertébrés
- 3 : Chef Technicien, Responsable assurance qualité
- 4 : Hydroécologue

© Novembre 2008 – DIREN LORRAINE – Tous droits réservés  
Ce rapport est disponible sur <http://www.lorraine.ecologie.gouv.fr/>

Les données utilisées dans cette synthèse ont été produites par la DIREN Lorraine et sont disponibles auprès de celle-ci.

Tous clichés DIREN Lorraine

En couverture : *Siphonoperla sp.* (à gauche) ; *Haplotaxis sp.* (en haut à droite) ; *Polycelis sp.* (en bas au centre) *Pisidium sp.* (en bas à droite) ; Tous issus du prélèvement sur La Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe le 31/03/2008.

## Table des matières

<b>LA CONGELATION : UNE ALTERNATIVE AU FORMOL POUR LA CONSERVATION DES MACROINVERTEBRES .....</b>	<b>1</b>
<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>2</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>4</b>
<b>I°) INCONVENIENTS LIES A L'UTILISATION DU FORMOL.....</b>	<b>5</b>
1-1°) Caractéristiques chimiques et toxicité du formol .....	5
1-2°) Précautions prises par le laboratoire d'hydrobiologie de la DIREN Lorraine.....	5
1-3°) Comparaison théorique des différentes formes de conservation .....	7
<b>II°) MODE OPERATOIRE MIS EN PLACE ADAPTE A LA CONGELATION.....</b>	<b>10</b>
2-1°) Prélèvement .....	10
2-2°) Transport et congélation .....	12
2-3°) Décongélation .....	12
2-4°) Tri sur matériel décongelé .....	12
2-5°) Détermination du matériel décongelé.....	12
2-6°) Conservation des échantillons témoins.....	14
<b>III°) COMPARAISON DES LISTES FAUNISTIQUES ENTRE LES PRATIQUES « FORMOL » ET « ELUTRIATION/ALCOOLISATION + CONGELATION » .....</b>	<b>14</b>
3-1°) Le jeu de données .....	14
3-2°) Comparaison des campagnes de prélèvements 2005 (avec formol) et 2006 (avec élutriation/alcoolisation + congélation) .....	15
3-3°) Analyse comparative entre fraction alcoolisée et fraction congelée (printemps 2006) : .....	27
3-4°) Comparaison entre sous-échantillon formolé (été 2005) et sous-échantillon congelé (été 2006) : .....	32
<b>IV°) OBSERVATIONS SUR L'ETAT DES TAXONS EN FONCTION DU MODE DE CONSERVATION</b>	<b>33</b>
<b>VI°) CONSEILS POUR LIMITER LES INCONVENIENTS DE LA CONGELATION.....</b>	<b>34</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>35</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>36</b>

## Résumé

Le formol est utilisé historiquement pour conserver les échantillons de macroinvertébrés aquatiques des eaux douces.

Cependant, compte-tenu des connaissances actuelles sur sa toxicité, il n'est plus possible pour un laboratoire d'hydrobiologie de continuer à travailler avec ce produit comme par le passé, sans réelles précautions pour le personnel ou avec des précautions insuffisantes ou non réellement appliquées, en raison des lourdes contraintes de terrain et de laboratoire.

La responsabilité pénale de l'encadrement du laboratoire pourrait être engagée<sup>1</sup>, d'autant plus qu'il existe une méthode alternative comme la congélation, sans risque pour la santé des agents. De même, lors de l'élaboration de nouvelles méthodes, il n'est plus possible de s'en tenir à l'usage exclusif du formol, en le justifiant par la destruction d'un faible nombre de taxons par la congélation.

La DIREN Lorraine a donc décidé en 2006 de remplacer l'usage du formol pour la conservation des échantillons de macroinvertébrés, par une méthode mixte « congélation + alcool ».

La DIREN a donc évalué dans le présent rapport l'impact de ce changement de méthode sur les résultats obtenus. Pour cela, ont été utilisées, les listes faunistiques issues des campagnes printemps et été 2005 du Réseau de référence<sup>2</sup>, entièrement conservées au formol, et celles de printemps et été 2006 de ce même réseau, conservées par « congélation + alcoolisation ».

Les résultats obtenus dans le présent rapport, montrent que la congélation seule donne de bons résultats sur presque tous les groupes taxonomiques. Deux exceptions notables sont toutefois mises en évidence : la destruction des Triclades et la dégradation probable d'une grande partie des Oligochètes.

Néanmoins, le maintien d'une fraction alcoolisée de certains prélèvements élémentaires choisis permet de conserver une information qualitative de la présence de ces taxons.

La congélation se présente donc comme une alternative intéressante au formol, car si elle induit d'autres contraintes de travail, l'impact sur les résultats est mineur et elle permet de s'affranchir de l'utilisation de produits cancérigènes.

Il est aussi pertinent, dans le contexte des révisions de méthodes en cours pour mettre en œuvre la Directive cadre sur l'eau (DCE)<sup>3</sup>, de s'interroger sur la nécessité de maintenir le recensement des taxons détruits par la congélation. En effet, les méthodes actuelles ont pour vocation de traduire l'état écologique des eaux douces et n'ont pas la prétention d'être des relevés exhaustifs des taxons présents.

Les taxons détruits par la congélation pourraient donc être optionnels pour l'évaluation de l'état écologique des cours d'eau.

---

<sup>1</sup> Le précédent de l'amiante ne doit pas être oublié.

<sup>2</sup> Réseau mis en place en application de la circulaire du Ministère chargé de l'écologie : DCE 2004/08 relatif au Réseau de référence pour les eaux douces de surface.

<sup>3</sup> Directive européenne 2000/60/CE du 23 octobre 2000 dite Directive cadre sur l'eau (DCE).

## Introduction

Le formol est utilisé depuis plus d'un siècle pour fixer les tissus biologiques et notamment pour conserver les macroinvertébrés aquatiques des eaux douces.

Sa toxicité a fini par le faire classer cancérigène par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2004 (cancer des sinus, des fosses nasales, de la cavité buccale et de la gorge, leucémie).

Il s'avère néanmoins difficile, lors des différentes étapes d'acquisition de données sur les macroinvertébrés aquatiques, de mettre en oeuvre les conditions de sécurité préconisées dans les fiches d'utilisation (port de gants et de masques, utilisation sous hotte ... ) :

- utilisation dans les conditions de prélèvement en rivière de gants spécifiques, de masque et de lunettes, présence d'un flacon de lave-oeil ;
- mise en place de protection vis-à-vis des vapeurs lors du transport dans les véhicules,
- mise en place de protections lors de toutes les phases de traitement de l'échantillon au laboratoire (« dégorgement » des substrats, notamment organiques, continuant après le lavage, émanation provenant des macroinvertébrés lors de leur détermination sous loupe binoculaire etc.)
- protection contre les émanations provenant des échantillons en attente de traitement et des échantillons témoins conservés après détermination.

Ces difficultés de mise en oeuvre ne permettent pas de protéger convenablement les agents <sup>4</sup>.

De même, la récupération des jus formolés les plus concentrés, souhaitable du point de vue de l'environnement, crée une difficulté supplémentaire à la protection du personnel (émanation depuis les canalisations et récipients de récupération.).

Une première étape a consisté, au laboratoire de la DIREN Lorraine, à conserver les échantillons témoins (après détermination) et les taxons de la collection dans l'alcool et non plus dans du formol. Cette première mesure est sans impact sur les résultats puisqu'elle se situe en aval de la constitution des listes faunistiques.

La DIREN Lorraine a ensuite décidé de remplacer en 2006 le formol par une conservation par congélation, complétée par une conservation à l'alcool d'une fraction des échantillons.

Les listes faunistiques obtenues sur des stations identiques du Réseau de référence selon ces deux modes de conservation sont comparées dans le présent rapport. Tous les résultats bruts (description des point de prélèvement, grille d'échantillonnage, liste faunistiques) ont été publiés par ailleurs (cf. Bibliographie).

---

<sup>4</sup> Notons que cette réalité est actuellement valable pour la majorité des structures, publiques ou privées, comme le démontrent nos nombreux contacts.

## I°) Inconvénients liés à l'utilisation du formol

### 1-1°) Caractéristiques chimiques et toxicité du formol

Le formol est un fixateur des tissus biologiques, empêchant toute dégradation ultérieure. Il est utilisé comme conservateur depuis plus d'un siècle par les biologistes.

Le formol est la solution aqueuse du formaldéhyde (ou méthanal). Les principales caractéristiques chimiques du formaldéhyde peuvent être résumées ainsi :

1. sa formule chimique est HCHO.
2. à température ordinaire c'est un gaz.
3. il est extrêmement soluble dans l'eau mais il se polymérise facilement à froid et devient insoluble. Il est donc stabilisé avec du méthanol.
4. en solution, il s'oxyde lentement et forme **de l'acide formique**, puis du CO<sub>2</sub> et de l'eau.
5. il est sensible à la lumière (destruction rapide par photolyse).

Il présente de nombreux dangers pour les utilisateurs :

1. il est facilement **inflammable** sous forme gazeuse et liquide.
2. il est **corrosif, toxique** par inhalation, par contact avec la peau (irritation) et par ingestion. Dans l'organisme, il se fixe sur les protéines (d'où son pouvoir de fixateur des tissus) et les acides nucléiques cellulaires. Il se dégrade en acide formique, lui-même toxique.
3. il est classé groupe 1 : **cancérigène** pour l'homme par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), dépendant de l'OMS, depuis 2004.
4. bien qu'il soit soluble, sa température de vaporisation est de -19°C à pression atmosphérique pour une solution 37 %<sup>5</sup>. Ce qui signifie qu'il se retrouve **facilement dans l'atmosphère, notamment en présence des utilisateurs (véhicules de prélèvement, laboratoire ...)**.

**L'utilisation du formol présente donc deux principaux inconvénients majeurs : un risque pour la santé des agents et un risque pour l'environnement.**

### 1-2°) Précautions prises par le laboratoire d'hydrobiologie de la DIREN Lorraine

Un ensemble de précautions ont été prises par la DIREN Lorraine : à partir de 1995, une ventilation de type VMC a été installée pour le laboratoire<sup>6</sup>, avec un bras d'aspiration branché sur celle-ci permettant une aspiration localisée par cloche, notamment lors des phases de lavage et de tri.

<sup>5</sup> Fiche INRS n°7 (édition 1997). Néanmoins, les sources sont contradictoires sur la température de vaporisation.

<sup>6</sup> Ventilation dotée d'un circuit de soufflerie et d'un circuit d'aspiration indépendants reliés chacun à une série de bouches réparties sur la longueur du laboratoire

Mais les inconvénients suivants n'ont pas été résolus :

1. Le contact avec le formol reste important pour les agents :
  - lors de la phase terrain : risque de projection du formol pur sur les yeux, la peau ou le matériel lors de la formulation des échantillons en bocaux, puis émission de vapeur de formol dans le véhicule lors du retour au laboratoire (soit en raison de la présence de formol sur les parois extérieurs des récipients (flacon de formol, échantillons) ou sur autres matériels (gants, cuissardes..), soit par manque d'étanchéité des joints des récipients). Notons que le port de lunettes de chimie sur le terrain est difficile et n'a pas été pratiqué. Par contre, des gants sont portés systématiquement depuis une dizaine d'années (surtout pour éviter les égratignures dans des eaux sales) ;
  - lors de la phase de lavage puis de tri des échantillons : risque de projection (idem terrain), émanation résiduelle de vapeurs de formol malgré un lavage sous le bras d'aspiration, particulièrement pour les habitats organiques (vases et végétaux par exemple) ;
  - Lors de la détermination sous loupe binoculaire, la proximité entre l'opérateur et les individus formolés et l'échauffement du à l'éclairage favorisant la contamination
2. Les rejets de notre laboratoire dans l'environnement sont de l'ordre de 15 litres de formol à 37 % par an. Aucun système de récupération du « premier jus » (avant lavage) n'a été mis en place, en premier lieu pour protéger les agents des vapeurs et limiter le contact avec le produit (toute goutte de formol laissée à l'air libre génère une contamination notable de l'atmosphère).

Notons que dans le cadre de la médecine du travail, un contrôle de la qualité de l'air du laboratoire de la DIREN Lorraine a été effectué en mars 2000, dans des conditions habituelles de tri et de détermination (*INRS, LICE, mars 2000*). Les résultats ont montré des concentrations non négligeables :

Concentration en ppm	Mesures individuelles longues durées (matin 4 h et après-midi 3 h)	Mesures individuelles courtes durées (15 à 22 mm) sur les phases : 1° d'ouverture et lavage des bocaux, 2° de tri	Mesures individuelles courtes durées (15 à 22 mm) sur la phase de validation de taxons déjà formolés en pilulier témoin	Mesures d'ambiance de l'atmosphère du laboratoire
Matin (test sans mise en route de la VMC)	0,3	0.2 à 0.37	-	0,17
Après midi (avec mise en route de la VMC)	0,2	0.2 à 0.41	0.07 à 0.85	0.09 à 0.13

**Document 1 :** Valeurs d'exposition au formol au sein du laboratoire de la DIREN Lorraine

Les concentrations ont toujours été inférieures à la VME (valeur moyenne d'exposition : longue durée) de 0,5 ppm et à la VLE (valeur limite d'exposition : courte durée) de 1 ppm, mais parfois supérieures à la valeur seuil des Etats-Unis courte durée (0,3 ppm pour la valeur TVL-STEL) lors de certaines mesures individuelles lors des phases d'ouverture de bocaux et lavage et lors de la phase de validation de taxons formolés issus du pilulier témoin.

Au vu de toutes ces données et résultats, la DIREN Lorraine a donc

- remplacé l'utilisation du formol par celui de l'alcool pour les échantillons témoins après détermination. **Cette mesure, sans impact sur les résultats puisque l'on se situe après l'établissement de la liste faunistique, pourrait être mise en œuvre par l'ensemble des laboratoires.**
- comparé les avantages et inconvénients de l'utilisation du formol et de techniques alternatives pour les phases allant du prélèvement à la détermination des échantillons.

### **1-3°) Comparaison théorique des différentes formes de conservation**

Différentes méthodes de conservation ont été envisagées :

- 1) Utilisation du formol : la méthode la plus courante et jadis imposée par les normes.
- 2) Conservation entièrement à l'alcool : éliminée d'office du fait des grandes quantités d'alcool nécessaire (environ 20 L pour 5 IBGN) et du danger de transporter ceux-ci en voiture (risque lié à l'inflammabilité du produit notamment en cas d'accident.).
- 3) Congélation seule : l'expérience d'autres laboratoires (DIREN Pays de Loire et Université de Metz) montre que quelques taxons sont partiellement ou totalement détruits par la congélation, dont les planaires et les oligochètes....
- 4) Congélation associée à un sous-échantillon alcoolisé : pour pallier le problème précédent, il a été envisagé de conserver à l'alcool un sous-échantillon concentré en nombre d'individus, le reste de l'échantillon étant congelé
- 5) Utilisation d'autres conservateurs : quelques autres produits sont proposés dans le commerce comme alternative au formol. Les fiches techniques que nous avons pu consulter font toutefois état de composés également cancérigènes ou mutagènes.
- 6) Tri-détermination sur le vivant : alternative intéressante mais qui présente néanmoins le gros inconvénient d'une longue durée de la période de prélèvement (tri immédiat dans une camionnette laboratoire ou dès le retour au laboratoire) incompatible, dans notre cas, avec le volume de stations à prélever, le respect d'une période cohérente pour toutes les stations et le respect des conditions hydrologiques.

Avant de prendre une décision de changement de méthode, deux techniques seulement ont donc été finalement comparées plus en détail, toujours de manière théorique, d'après le retour d'expérience de la DIREN Pays de Loire, de l'Université de Metz et nos réflexions préalables :

- 1°) formol (technique en cours au laboratoire) et
- 4°) « congélation avec alcoolisation de fractions d'échantillons » (nouvelle technique envisagée).

La comparaison s'est basée sur le protocole IBGN avec 8 échantillons élémentaires par station, représentant grossièrement 6 L de substrat aquatique (végétaux, vases, ...).

**1-3-1°) comparaison de la phase terrain**

Critère :	Formol à 37 % :	Congélation + alcool :
Matériel spécifique	Bocaux en verre (le plastique étant poreux au formol) et caisses en plastique	Bocaux en plastique et <b>glacières</b> (+ pain de glace), piluliers.
Conservation	Ajout approximatif de 5 à 10 % de formol à l'échantillon (~ 4 % de formaldéhyde en concentration finale) → <b>risque de projection, vapeur de formol respirée par les agents, notamment dans la voiture.</b> Rinçage du flacon de formol et des bocaux de prélèvement sur place ou dans la rivière → <b>contamination du milieu</b>	Utilisation d'un volume très limité d'alcool : pilulier de 31 ml à 70 % en concentration finale.
Volume moyen utilisé	Environ 400 ml par IBGN, soit pour 40 stations : 16 L	Environ 250 ml d'alcool par IBGN (8 éluviations) soit pour 40 stations : 10 L
Durée de manipulation	10 mn par station pour l'ajout du formol	cf ci-après (éluviation)
Durée de la campagne	1 à 2 jours	<b>Un jour seulement : Obligation de congeler le soir au laboratoire (augmentation de la durée de transport au détriment du nombre de prélèvements)</b>
Qualification du personnel	Sans difficulté	Sans difficulté
Risque pour le personnel	Malgré tous les rinçages, impossibilité d'éliminer les émanations gazeuses dans le véhicule de prélèvement → <b>risque pour la santé du personnel.</b> Nécessité d'utiliser <u>un masque, des gants, de disposer d'un rince-œil et d'un doseur sur le terrain</u> → <b>lourd à utiliser</b>	Pas de stérilisation de l'échantillon par le formol : risque de survie d'agents pathogènes non évalué : bactéries, virus, protozoaires (amibes), vers ...

**Document 2 :** Comparaison des pratiques de prélèvement des macroinvertébrés aquatiques (formol/congélation+ alcool)

**1-3-2°) comparaison de la phase laboratoire**

Critère :	Formol :	Congélation + alcool :
Matériel spécifique	<u>Mettre en place un poste de travail sous hotte sécurisée</u> de grande taille, poste inclus dans une cabine étanche → <b>investissement important</b> + équipement de travail lourd à utiliser (masque, gants ...)	Congélateurs Ventilation localisée pour le traitement des piluliers alcoolisés
Lavage et tri	<b>Récupération sous hotte</b> (cf. ci-dessus) <b>du 1<sup>er</sup> jus à 4 % et traitement</b> par une société. Nécessité d'un local à part pour conservation des bidons. Rejet résiduel dans le réseau domestique	Pas de jus à récupérer
Détermination des individus	Dégradation des couleurs	Facilitée par la conservation des couleurs et la plasticité des individus (décongélation et alcool)
Durée d'analyse	Temps de lavage pour l'élimination du formol	temps de décongélation de 1 h à 3 h. ( <b>pas d'élimination de formol à assurer mais lavage pour éliminer les fines particules</b> )
Impact sur les résultats	Sans objet	Certains taxons sont détruits (nombre total à déterminer)
Risque d'incident	Chute et casse des bocaux en verre → <b>émanation toxique du formol, risque de blessures.</b>	<b>Panne du congélateur ; réparation ou remplacement dans un délai à définir</b> <sup>7</sup> (attaque par champignons et bactéries, perte rapide des individus)

**Document 3 :** Comparaison des pratiques de laboratoire de tri et détermination des macroinvertébrés aquatiques (formol/congélation+ alcool)

<sup>7</sup> Les congélateurs ont une autonomie de 48h pour garantir la sécurité alimentaire. Le délai de dégradation est donc plus important.

### 1-3-3°) conservation ultérieure

(indépendant de la méthode utilisée pour la conservation entre prélèvement et tri-détermination)

Critère :	Formol :	Alcool :
Conservations des échantillons à court terme (qq. années)	Formol à 4 % en concentration finale ou alcool après formolisation, piluliers dans armoire ventilée	Alcool à 70 % en concentration finale
Conservation des échantillons pour collection	Formol à 4 % en concentration finale ou alcool après formolisation, piluliers dans armoire ventilée. La conservation ultérieure à l'alcool est peut être meilleure pour les individus préalablement formolés, qui ont été durcis par ce premier type de conservation et qui conservent probablement une part de formol en eux	Alcool à 70 % (risque de conservation difficile à long terme)
Conservation des produits chimiques	Mettre en place une ventilation des armoires pour les flacons de formol ouverts	La ventilation ci-contre reste actuellement nécessaire dans notre laboratoire (conservation d'autres produits que le formol) mais pourrait ne plus l'être à terme si une politique vigoureuse de remplacement des toxiques est effectuée (dernièrement, l'alcool a été également substitué avec succès au formol dans notre laboratoire pour la conservation des diatomées)
Elimination des échantillons après la durée de conservation préconisée	Risque pour le milieu	<b>Sans problème</b>

**Document 4** : Comparaison des pratiques de conservation finale des macroinvertébrés aquatiques (formol/ alcool)

### 1-3-4°) Synthèse

Il est apparu nettement que continuer la conservation des macroinvertébrés par utilisation de formol aboutissait à de grosses contraintes :

- obligation de travailler avec des contraintes pour les agents (port de masques et de gants sur le terrain et au laboratoire, lavage des prélèvements sous hotte, règles de sécurité lourdes ...)
- achat de matériel (véhicule à espace de stockage totalement séparé et ventilé, hotte adaptée au formol pour les espaces de lavage, de tri et de détermination, armoires ventilées pour les prélèvements en attente de tri) ;
- mise en place d'une récupération et élimination du formol des bocal avant lavage (« 1<sup>er</sup> jus »), conçue de manière à n'induire aucune émanation dans l'atmosphère du laboratoire, et coût induit du traitement ;
- mais surtout, risque toujours présent pour la santé des agents (accident, vapeur résiduelle lors du tri et de la détermination...) et pour l'environnement.

L'utilisation de la congélation présente aussi des difficultés :

- obligation de rapporter les échantillons chaque soir d'où des aller-retour plus nombreux pour les tournées de plusieurs jours sur stations éloignées ;
- risque de panne des congélateurs, ou de coupure de l'électricité prolongée.
- pertes de certains taxons (d'après les informations recueillies auprès d'autres services pratiquant déjà la congélation : DIREN Pays de Loire et Université de Metz), les pertes concerneraient surtout les oligochètes, les planaires et les hydraires.
- Notons également, indépendamment de la méthode de conservation entre prélèvement et tri-détermination, que si le formol est remplacé par l'alcool dans les échantillons témoins après détermination, la conservation des échantillons témoins risque d'être moins bonne à long terme et il peut être nécessaire de réfléchir à une solution pour les piluliers de collection et de certaines stations patrimoniales.

### 1-2-4°) Conclusion

Nous avons donc retenu la solution d'abandonner l'utilisation du formol dès la campagne de prélèvement du printemps 2006, et d'utiliser une méthode « congélation + alcool ».

Afin de pallier les problèmes résiduels liés à l'utilisation de la congélation, les solutions suivantes ont été mises en place :

- rapatriement des glacières au laboratoire, chaque soir, par un agent (pour les tournées sur deux jours, travail à trois agents le premier jour (deux véhicules) et à deux le second (1 véhicule)) ;
- achat de 3 congélateurs bahuts de type domestique de 48h d'autonomie pour compenser les risques de panne ;
- élutriation (= « flottation ») des échantillons sur le terrain et conservation de la partie flottante à l'alcool (cf. chapitres suivants) pour conserver les taxons détruits par la congélation.
- conservation de tous les échantillons témoins à l'alcool à 70 %, la conservation à long terme n'étant pas une priorité pour notre service.

## II°) Mode opératoire mis en place adapté à la congélation

### 2-1°) Prélèvement

Un mode opératoire a été conçu pour la campagne de **printemps 2006**, notamment pour conserver les taxons susceptibles d'être détruits par la congélation et demeurer ainsi compatibles avec l'IBGN<sup>8</sup>.

Il comporte les principales phases caractéristiques suivantes :

1°) Une élutriation dans un seau a été réalisée sur le terrain pour **tous les prélèvements élémentaires** à l'exception des substrats pour lesquels cela n'est pas réalisable (vase,

---

<sup>8</sup> Indice biologique global normalisé : norme AFNOR NFT 90-350

litière ...), ou des cas où cela ne présente pas d'intérêt (faible volume permettant une conservation entièrement en pilulier alcoolisé). L'élutriation permet de séparer :

- **une partie «flottante** (chargée en macroinvertébrés), mise en pilulier de 31 ml avec de l'alcool à 70° en concentration finale (« pilulier terrain » qui n'est pas congelé).
- et le « **refus** » **d'élutriation** (pierre, sables ...) qui est transféré dans un bocal pour congélation.

2°) Dans le cas des substrats non élutriable (vase, litière), une fraction (sous échantillonnage à vue) de celui-ci a été placée dans le pilulier alcoolisé, le reste étant placé dans le bocal pour congélation.

Néanmoins, ce mode opératoire (*points 1°) et 2°) ci-dessus*) étant consommateur de temps sur le terrain, au vu des premiers résultats de la campagne de printemps, **le mode opératoire a été simplifié au cours de la campagne d'été 2006**<sup>9</sup>: l'élutriation n'a plus été réalisée que pour **trois prélèvements élémentaires** au minimum sur les 12 exigés par la méthode<sup>10</sup>, sur des substrats censés contenir les taxons susceptibles d'être détruits par la congélation (planaires et hydrozoaires). Ces substrats sont définis d'après le tableau 5T1 page 87 de Tachet *et al* (2002) définissant les traits biologiques. Ce sont par ordre de priorité conseillée :

- pierres, dalles et blocs ;
- sinon les litières ;
- sinon les macrophytes (y compris bryophytes et algues filamenteuses) ;
- sinon les branches et racines.
- Ces habitats doivent être choisis dans les vitesses ne dépassant pas 50 cm/s.

Seule la présence (et non la densité) de ces taxons est recherchée par cette manipulation.

Description des principales phases du prélèvement :

*Nota :*

1°) dans les deux cas ci-dessous, le prélèvement est réalisé en amenant dans le Surber<sup>11</sup> le substrat présent sur la placette. La méthode est donc significativement différente de celle qui consiste à agiter ou frotter le substrat devant le Surber

2°)le travail est réalisé par **deux agents**

Protocole 2005 (formol)	durée par prélèvement élémentaire	Protocole 2006 (congélation + alcool)	durée par prélèvement élémentaire
Vidage du Surber en berge : - soit sur un tamis ; - soit sur une colonne de 2 tamis (5 mm et 0.5 mm) puis tamisage de manière à éliminer les éléments grossiers (réalisé à deux agents) pour garder en moyenne. un volume de 0,5 à 1 litre. Mise en bocal du refus de tamis, formulation et étiquetage	5 à 10 mn	Vidage du Surber dans un seau et séparation de la partie flottante (reversée dans le tamis et mis en pilulier de 31 ml, puis alcoolisée) et du refus d'élutriation (reversé par la suite dans le tamis, mis en bocal puis dans une glacière (congelé le soir du prélèvement au plus tard)).	10 à 20 mn

**Document 5** : Comparaison des pratiques de terrain : « formol » et « élutriation/alcolisation + congélation »

<sup>9</sup> Ainsi, la campagne d'été 2006 a été réalisée entièrement avec le protocole simplifié, excepté pour deux stations (le Dorlon à Charency et le ruisseau de Forges à Bethincourt) où tous les échantillons ont été élutriés

<sup>10</sup> Annexe 5 de la circulaire DCE 2004/08 : Protocole de prélèvement et de traitement des échantillons de macroinvertébrés benthiques.

<sup>11</sup> Le Surber est le matériel d'échantillonnage constitué d'un cadre de base 1/20 m<sup>2</sup> et d'un filet de maille 500 µm.

## 2-2°) Transport et congélation

Les échantillons sont mis dans des glacières (type camping ; 1 à 2 stations par glacière) contenant des blocs eutectiques (blocs réfrigérants bleus préalablement congelés). Ces précautions permettent de maintenir les bocaux au frais, probablement à une température inférieure à 10 °C toute la journée.

Les glacières sont impérativement vidées dans les congélateurs au plus tard le soir du prélèvement.

Ces conditions de transport ont été suffisantes pour obtenir de bons résultats (*cf. chapitres suivants*).

## 2-3°) Décongélation

Les échantillons sont décongelés à température ambiante dans un seau rempli d'eau fraîche ou tiède du réseau. La durée est d'une heure environ (pierres ...) à trois heures (litière, végétaux ...).

## 2-4°) Tri sur matériel décongelé

Les échantillons décongelés sont traités au laboratoire de la DIREN Lorraine par la même technique que celle utilisée pour les échantillons formolés. Les échantillons sont vidés sur une colonne de tamis et le contenu de chaque tamis est traité par une élutriation (sans sucre) afin de séparer une phase flottante et un refus d'élutriation (non flottant).

Chaque phase est triée séparément soit à vue (tamis de 5 mm), soit à la lampe loupe avec un grossissement de 2 (tamis de 1 mm et 0.5 mm)<sup>12</sup>.

## 2-5°) Détermination du matériel décongelé

Les taxons sont déterminés à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissement de 140 max).



Larve d'*Elmis* sp.

(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)

<sup>12</sup> le laboratoire a été équipé fin 2006 de 2 Mantiss de grossissement 4 à 10. Ce matériel n'a donc pas été utilisé pour les données traitées dans le présent rapport



*Hydraena sp.*

(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)



*Pisidium sp.*

(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)



Larve d'*Odontocerum albicone*.

(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)

## 2-6°) Conservation des échantillons témoins

Après détermination, les échantillons-témoins (destinés à être conservés pour vérification éventuelle) sont conservés dans de l'alcool à concentration finale 70 %.

### III°) Comparaison des listes faunistiques entre les pratiques « formol » et « élutriation/alcoolisation + congélation »

Afin de mettre en évidence la pertinence de cette nouvelle méthode et d'éventuelles altérations des résultats qu'elle pourrait engendrer, il a été réalisé une comparaison des listes faunistiques obtenues sur les mêmes stations en 2005 (utilisation de formol) et 2006 (élutriation/alcoolisation + congélation).

### 3-1°) Le jeu de données

Il est constitué de données des stations du **Réseau de référence** soit 17 stations prélevées en 2005 et 2006, dont 6 n'ont été prospectées qu'au printemps et 11 au printemps et en été, soit un total de 28 échantillons par année (*cf. liste des stations en Annexe 1*).

Ces stations sont intéressantes car elles caractérisent des milieux faiblement perturbés par les activités humaines et présentant donc une stabilité probable des populations de macroinvertébrés d'une année sur l'autre. Elles disposent, de plus, d'une faune diversifiée, ce qui permet de voir l'impact de la méthode sur une plus grande gamme de taxons.

Il est indispensable de réaliser la comparaison des données saison par saison (printemps et été). En effet :

- l'impact de la saison sur les populations interdit toute comparaison de prélèvements réalisés à des époques différentes sur une même station,
- la méthode employée au printemps 2006 consiste en une congélation avec élutriation + alcoolisation d'une fraction **des 12 échantillons élémentaires**, alors que **seuls trois d'entre eux** sont élutriés et alcoolisés lors de la campagne d'été 2006 (*cf Chap II-2-1*). Les données statistiques doivent donc être établies séparément pour les campagnes de printemps et d'été.

Notons enfin que tous les résultats sur les effectifs d'oligochètes doivent être analysés avec précaution :

1°) avec le formol, les tissus sont bien fixés mais les oligochètes se fragmentent le plus souvent en de nombreux morceaux lors des manipulations de terrain et de laboratoire (transport, lavage ...). Or, seule la présence de l'embranchement est pris en compte dans les méthodes françaises actuelles (IBGN, Directive cadre sur l'eau : référence et contrôle de surveillance). L'estimation est donc faite rapidement à la loupe sur les « fragments » (il est bien évidemment contre-productif de monter entre lame et lamelle les fragments d'oligochètes pour compter les têtes pour avoir les effectifs précis). **Le formol a pour conséquence une sur-estimation des effectifs d'oligochètes.**

2°) avec la congélation, les oligochètes les plus fragiles perdent leur consistance. Seul parfois un tégument extérieur (qui se désagrège si l'on veut le prendre avec des pinces) est

encore visible lors du tri. **La congélation a pour conséquence une sous-estimation des effectifs d'oligochètes.**

3°) Notons qu'avec l'alcool, les oligochètes sont bien conservés et ont moins tendance à se fragmenter qu'avec le formol (souplesse conservée). L'estimation des effectifs doit être relativement fiable (mais à vérifier pour des familles de petites tailles comme les Naididae).

### 3-2°) Comparaison des campagnes de prélèvements 2005 (avec formol) et 2006 (avec élutriation/alcoolisation + congélation)

#### 3-2-1°) Comparaison des listes faunistiques des printemps 2005 et 2006

Pour des raisons techniques (déplacements des stations ou des points de prélèvements entre les deux campagnes), seules neuf stations sont exploitées pour la campagne de printemps.

Nom de station	GFI (1)(2)		Richesse totale (2) (3)		Indice « équivalent IBGN » (4)		Indice (2)		Effectif total arrondi (2)(5)	
	2005p	2006p	2005p	2006p	2005p	2006p	2005p	2006p	2005p	2006p
LE RUISSEAU DU PRE AUX BOIS À CHAMAGNE	9	7	36	35	16	15	18	16	2400	2800
L'AIRE à COURCELLES-SUR-AIRE	7	7	42	35	18	15	18	16	4900	5700
LA MEURTHE AU VALTIN (AMONT)	9	9	29	32	17	17	17	17	5400	4700
LA PLAINE À RAON-SUR-PLAINE	9	9	38	37	19	18	19	19	3400	2500
LA SARRE ROUGE À SAINT-QUIRIN (LES DEUX RIVIERES)	9	9	32	35	17	18	17	18	1000	2100
LA SARRE-BLANCHE À TURQUESTEIN-BLANCRUPT	9	9	38	34	19	18	19	18	2800	1400
La SAULX à RUPT AUX NONAINS	8	8	36	41	16	17	17	19	7800	14000
LE DORLON À CHARENCY-VEZIN	8	8	27	27	15	13	15	15	4000	5000
LE RUISSEAU DES VINTERGES À VENTRON	9	9	27	27	16	15	16	16	1800	1900
<i>Moyenne</i>	8,5	8,3	33,9	33,7	17	16,2	17,3	17,1	3722	4456
<i>Evolution en %</i>		- 2,0 %		-0,7 %		- 4,6 %		- 1,3%		+ 19,7 %
<i>Plus importante baisse</i>		- 2		- 7		- 3		- 2		- 1 400
<i>Plus importante hausse</i>		0		+ 5		+ 1		+ 1		+ 6 200

**Document 6 :** Comparaison sur 9 stations des indices et paramètres associés pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

- (1) Niveau de groupe indicateur selon la norme IBGN  
 (2) sur 12 échantillons élémentaires par stations (méthode DCE)  
 (3) La richesse est ici le nombre de taxons déterminés selon la norme IBGN (généralement la famille)  
 (4) sur 8 échantillons élémentaires  
 (5) effectifs estimés et arrondis

#### 3.2.1.1°) Indices et métriques associées, effectifs :

Les variations constatées sont peu significatives. Nous ne constatons sur aucune station de véritable « chute » d'indice, de groupe indicateur, de richesse taxonomique et/ou d'effectif due au protocole « élutriation/alcoolisation + congélation sur 12 échantillons élémentaires », au printemps 2006.

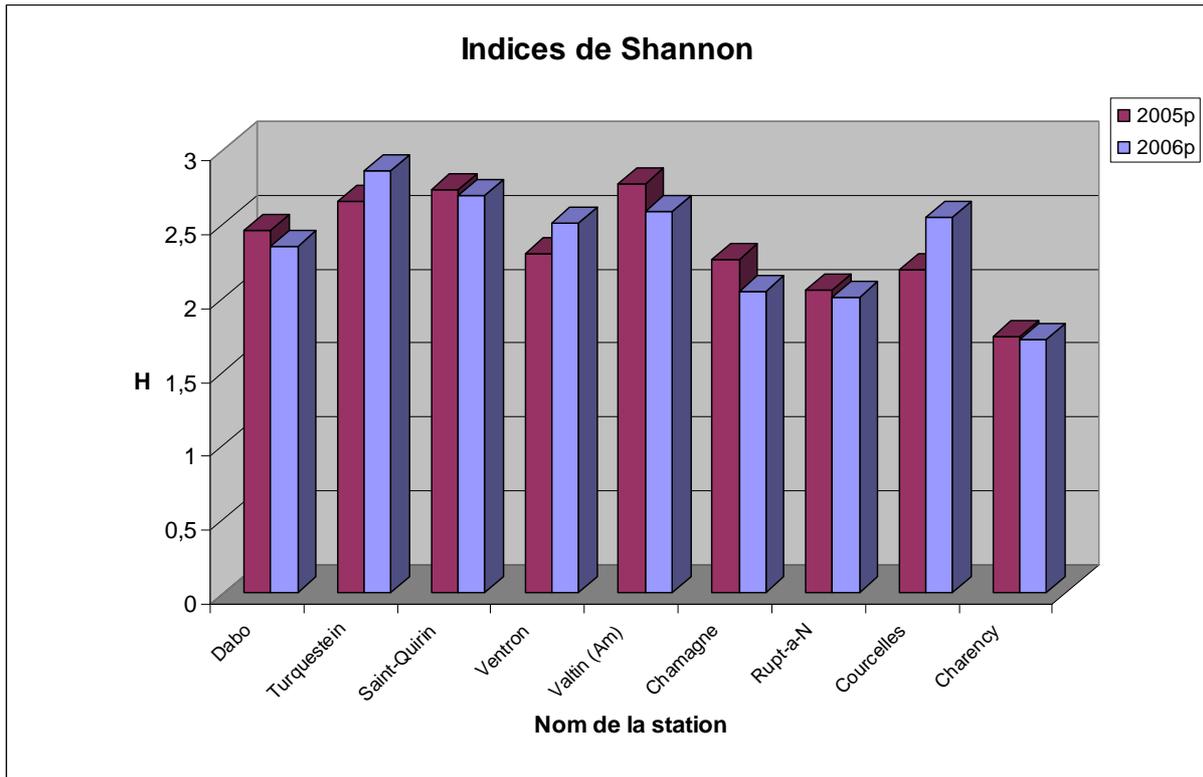
Le paramètre « effectif total » semble être davantage soumis à variation, mais c'est une métrique particulièrement instable dans le temps, même avec un protocole identique. Il est

toutefois à noter que dans la plupart des cas (7 sur 11), on observe une augmentation des effectifs en 2006.

Une baisse générale des paramètres ne peut donc pas être imputée à la méthode utilisée au printemps 2006.

### 3.2.1.2\* diversité :

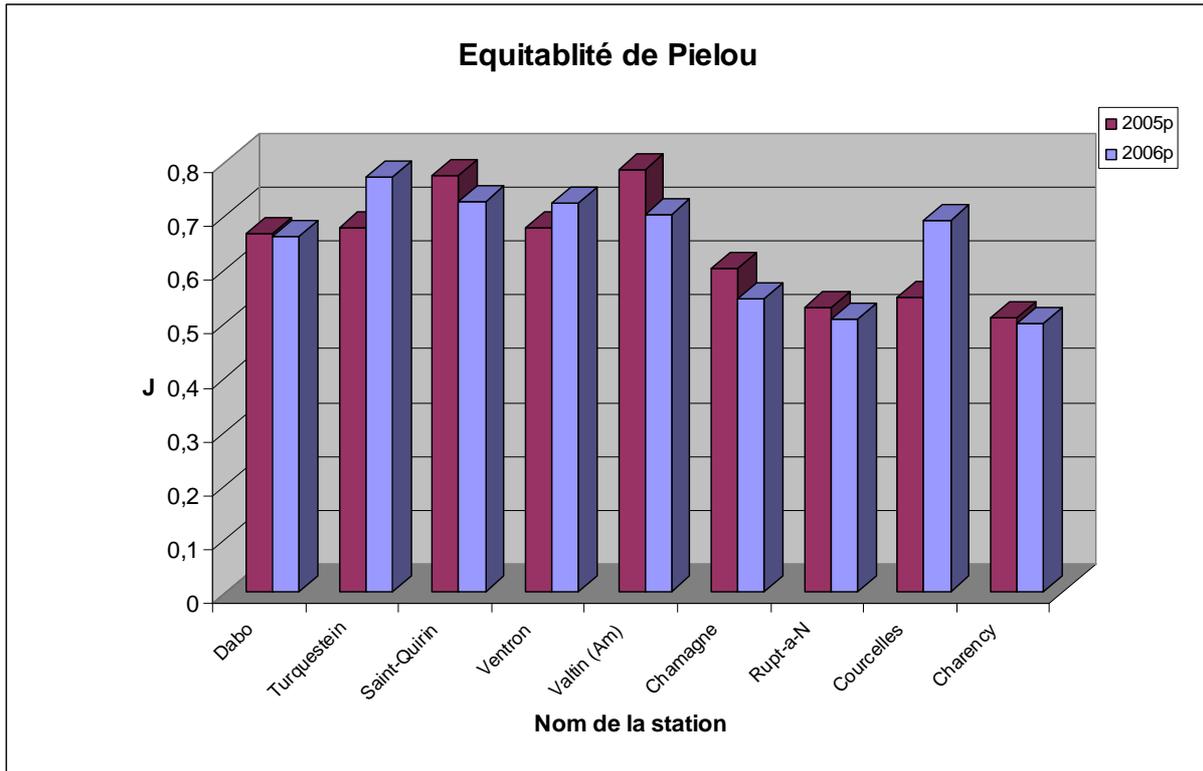
L'indice de Shannon et l'Équitabilité de Pielou (*ces deux indices et leur interprétation sont décrits en annexe 3*) sont également tout à fait équivalents entre les deux méthodes :



**Document 7 :** Indice de Shannon sur les listes faunistiques pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (éluatriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)



Larve de  
*Siphonoperla* sp.  
(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)



**Document 8 :** Equitabilité de Pielou pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

Les valeurs exactes pour ces stations sont données à l'annexe 3.

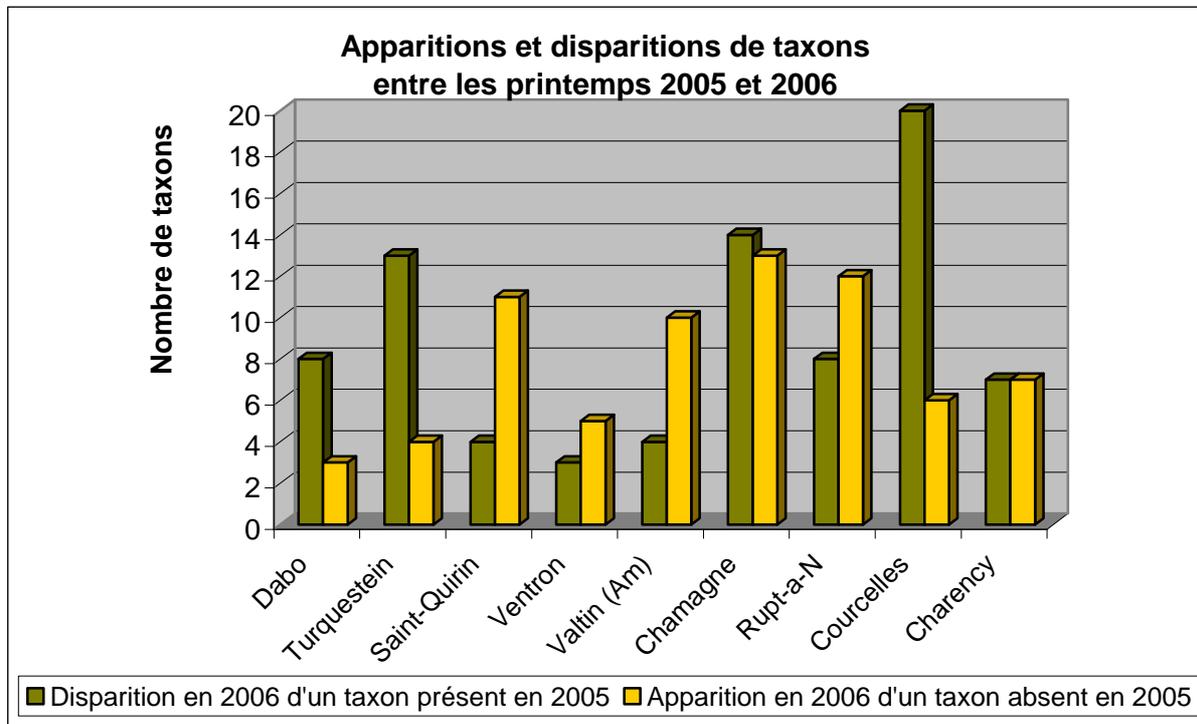
Les deux indices dressent le même constat tant sur les populations des stations que sur l'écart entre les deux méthodes comparées : nous n'observons pas de baisse significative de diversité avec le protocole du printemps 2006, les écarts en faveur de l'une et l'autre année (donc l'une et l'autre méthode) semblant plutôt équilibrés.

	Indice de Shannon	Equitabilité de Pielou
<b>Plus forte baisse</b>	-0,223	-0,084
<b>Plus forte hausse</b>	0,363	0,143
<b>Moyenne des écarts</b>	0,017	0,006

**Document 9 :** Variation de l'indice de Shannon et l'équitabilité de Pielou pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

### 3.2.1.3\*) *apparition/disparition de taxons*

Si l'on considère, toujours station par station, non plus la différence globale du nombre de taxons entre les deux années, mais ses composantes en nombre d'apparitions et nombre de disparitions, les conclusions sont identiques : il n'y a pas de tendance marquée à la disparition de taxons dû au protocole du printemps 2006.



**Document 10 :** Apparition et disparition de taxons entre le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (éluatriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires) sur 9 stations

Les écarts et notamment les disparitions de taxons, relativement importantes sur certaines stations (Turquestein : 13 taxons ; Courcelles-sur-Aire : 20 taxons, *cf. le détail en annexe 2*), peuvent être imputés à la variabilité annuelle des peuplements et aux facteurs aléatoires liés à l'incertitude de prélèvement.

En effet, la grande majorité des disparitions **concerne des taxons qui n'étaient présents qu'en faible abondance en 2005** : quelques individus présents par taxon, voire un seul le plus souvent.

Il en va de même pour la plupart des apparitions qui ne concernent qu'un faible nombre d'individus. Ce phénomène est souvent constaté, même sur des prélèvements réalisés strictement selon une même méthodologie<sup>13</sup>.

Pour les disparitions de taxons en faible abondance, comme pour les rares cas de disparitions de taxons ayant un effectif important (*Bithynia sp.* : 1 station : Courcelles-sur-Aire ; *Micrasema sp.* : 2 stations : Dabo et Turquestein-Blancrupt), il s'agit de groupes

<sup>13</sup> Voir notamment l'étude inter-Diren sur « L'évaluation de l'influence du choix des placettes de prélèvement sur l'indice IBGN » : Diren Lorraine 2005, téléchargeable sur le site internet de la Diren Lorraine

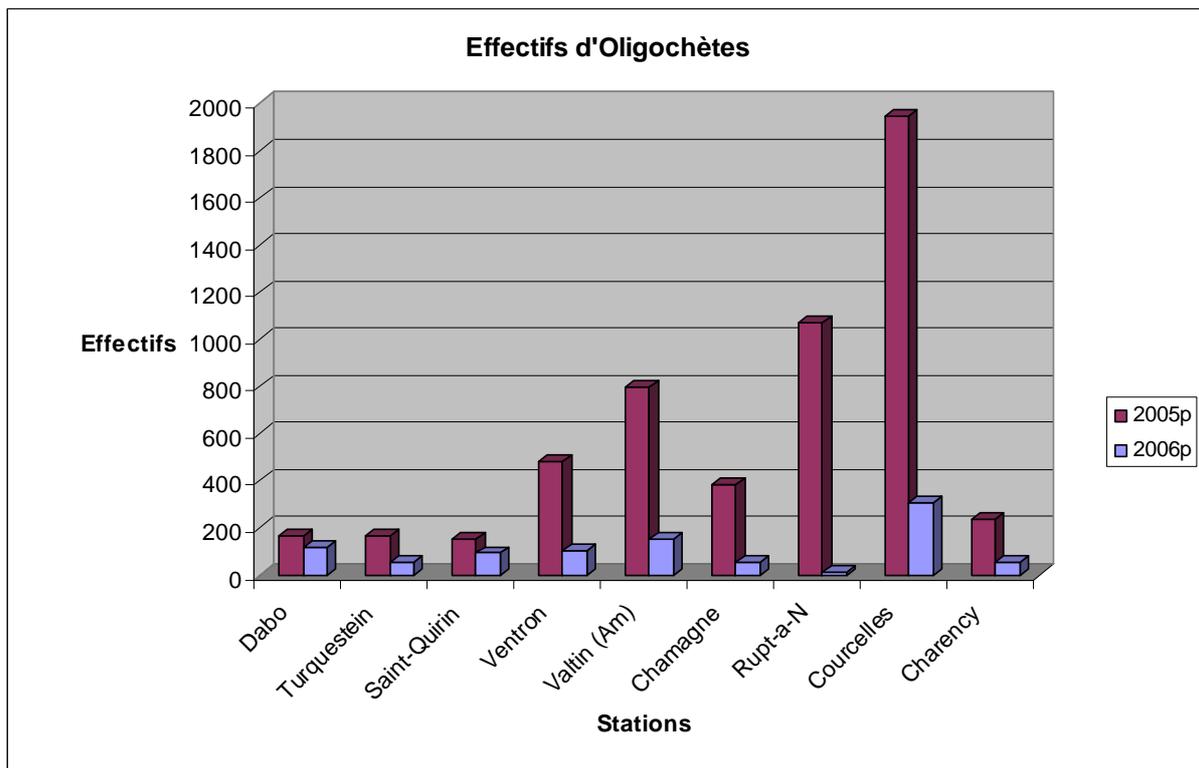
systematiques non détruits par la congélation car retrouvés en quantité importante sur d'autres stations.

La seule exception, c'est-à-dire la disparition d'un taxon présent en effectif important en 2005 concerne le genre *Polycelis*. **Il s'agit là d'une conséquence notable et prévue de la congélation.**

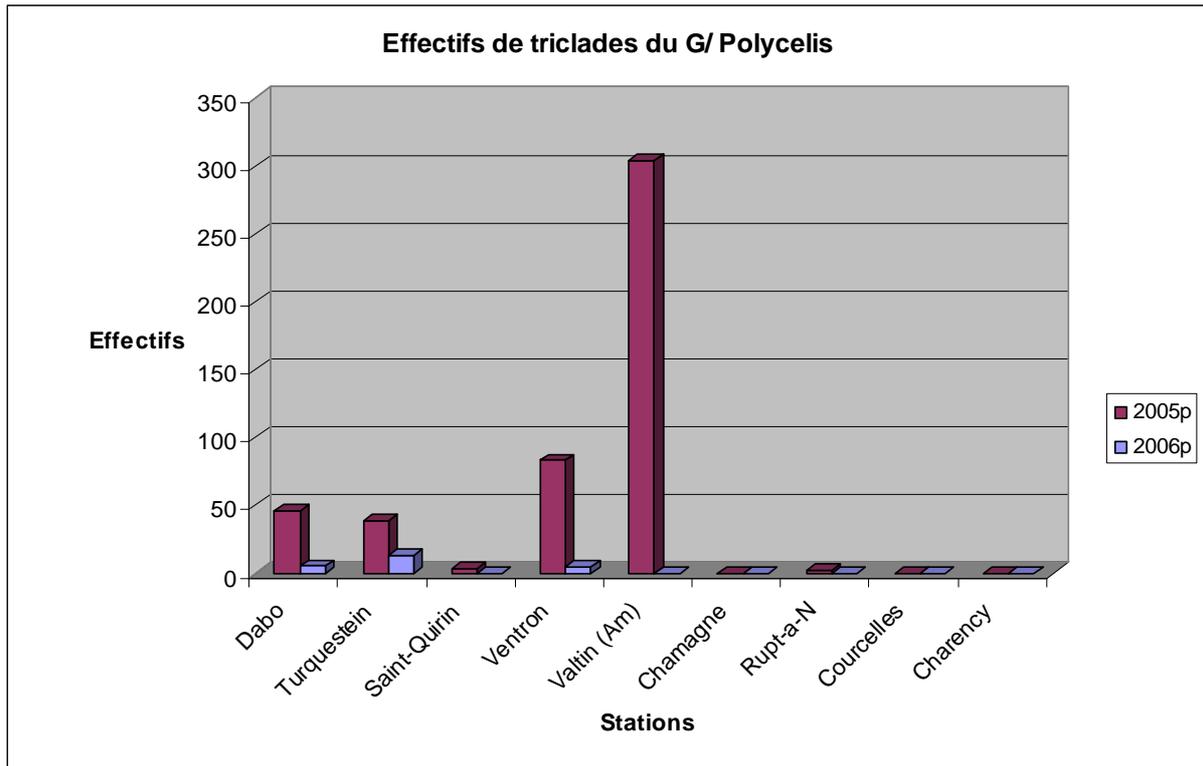
### 3.2.1.4\*) baisses d'effectifs

Lorsque nous observons les listes faunistiques plus en détail, nous observons que **deux groupes sont systématiquement en forte baisse d'effectifs** (cf Annexe 4). Ce sont ceux attendus : **les Oligochètes** (mais voir la réserve au chapitre 3-1) **et les Triclades**. Mais l'alcoolisation d'une fraction de l'échantillon (selon la méthode décrite au chap 2.1) permet visiblement d'avoir une bonne idée qualitative de la présence de ces taxons.

Seuls les triclades du genre *Polycelis* ont été comptabilisés car les autres genres (*Dugesia*, *Dendrocoelum*) ne sont présents que de manière anecdotique sur les stations du Réseau de référence au printemps.



**Document 11** : Effectif d'oligochètes pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires) pour 9 stations



**Document 12 :** Effectif de Polycelis pour le printemps 2005 (formol) et le printemps 2006 (éluatriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires) pour 9 stations



*Gammarus sp.*  
(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)

### 3-2-2°) Comparaison des listes faunistiques des étés 2005 et 2006

Il est rappelé (*cf. chapitre 3-1*) que « l'élutriation + alcoolisation » n'est réalisé que pour 3 prélèvements élémentaires.

#### 3.2.2.1°) Indices et métriques associées, effectifs :

Nom de station	GFI (1)		Richesse totale (2) (3)		Indice "équivalent IBGN" (4)		Indice (2)		Effectif total arrondi (2)(5)	
	2005e	2006e	2005e	2006e	2005e	2006e	2005e	2006e	2005e	2006e
LA MEURTHE A AZERAILLES	8	8	37	43	17	18	18	19	4700	3700
LA MEURTHE AU VALTIN (AMONT)	9	9	34	32	17	17	18	17	8400	4900
LA MEUSE A BANNONCOURT	8	7	50	55	19	20	20	20	14000	6100
LA MEUSE A DIEUE-SUR-MEUSE	8	7	40	51	18	19	18	20	8400	7900
LA MEUSE A SAINT-MIHIEL	8	8	47	50	19	19	20	20	16000	4300
LA MEUSE A TAILLANCOURT	6	7	37	43	14	15	16	18	5400	4500
LA MOSELLE A BAINVILLE-AUX-MIROIRS	7	7	34	31	13	13	16	15	11000	2900
LA PLAINE A RAON-SUR-PLAINE	9	9	35	38	18	19	18	19	2200	3700
LA SARRE ROUGE A SAINT-QUIRIN (LES DEUX RIVIERES)	9	9	28	30	16	16	16	17	980	1500
LA SARRE-BLANCHE A TURQUESTEIN-BLANCRUPT	9	9	27	36	15	18	16	18	650	1700
LA SAULX A RUPT AUX NONAINS	8	8	37	46	17	19	18	20	7000	12000
LA ZORN A DABO	9	9	29	32	15	16	17	17	3100	1900
L'AIRE A COURCELLES-SUR-AIRE	7	7	46	46	18	18	19	19	5000	19000
LE DORLON A CHARENCY-VEZIN	8	9	25	26	14	16	15	16	9600	7400
LE RUISSEAU DES FORGES A BETHINCOURT	8	8	31	45	16	19	16	20	3500	9100
LE RUISSEAU DES VINTERGES A VENTRON	9	9	29	33	16	17	17	18	880	1500
LE RUISSEAU DU PRE AUX BOIS A CHAMAGNE	7	7	30	39	14	16	15	17	3400	2400
<i>Moyenne</i>	<i>8,1</i>	<i>8,1</i>	<i>35,1</i>	<i>39,8</i>	<i>16,2</i>	<i>17,4</i>	<i>17,2</i>	<i>18,2</i>	<i>6130</i>	<i>5559</i>
<i>Evolution en %</i>		<i>0,00%</i>		<i>+ 13,4 %</i>		<i>+ 6,8 %</i>		<i>+ 5,8 %</i>		<i>- 9,3 %</i>
<i>Plus importante baisse</i>		<i>- 1</i>		<i>- 3</i>		<i>0</i>		<i>- 1</i>		<i>- 11700</i>
<i>Plus importante hausse</i>		<i>+ 1</i>		<i>+ 15</i>		<i>+ 3</i>		<i>+ 2</i>		<i>+ 14000</i>

**Document 13:** Comparaison pour 17 stations des indices et paramètres associés pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (élutriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires)

- (1) : Niveau de groupe indicateur selon la norme IBGN  
 (2) sur 12 échantillons élémentaires par stations (méthode DCE)  
 (3) La richesse est ici le nombre de taxons déterminés selon la norme IBGN (généralement la famille)  
 (4) sur 8 échantillons élémentaires  
 (5) effectifs estimés et arrondis

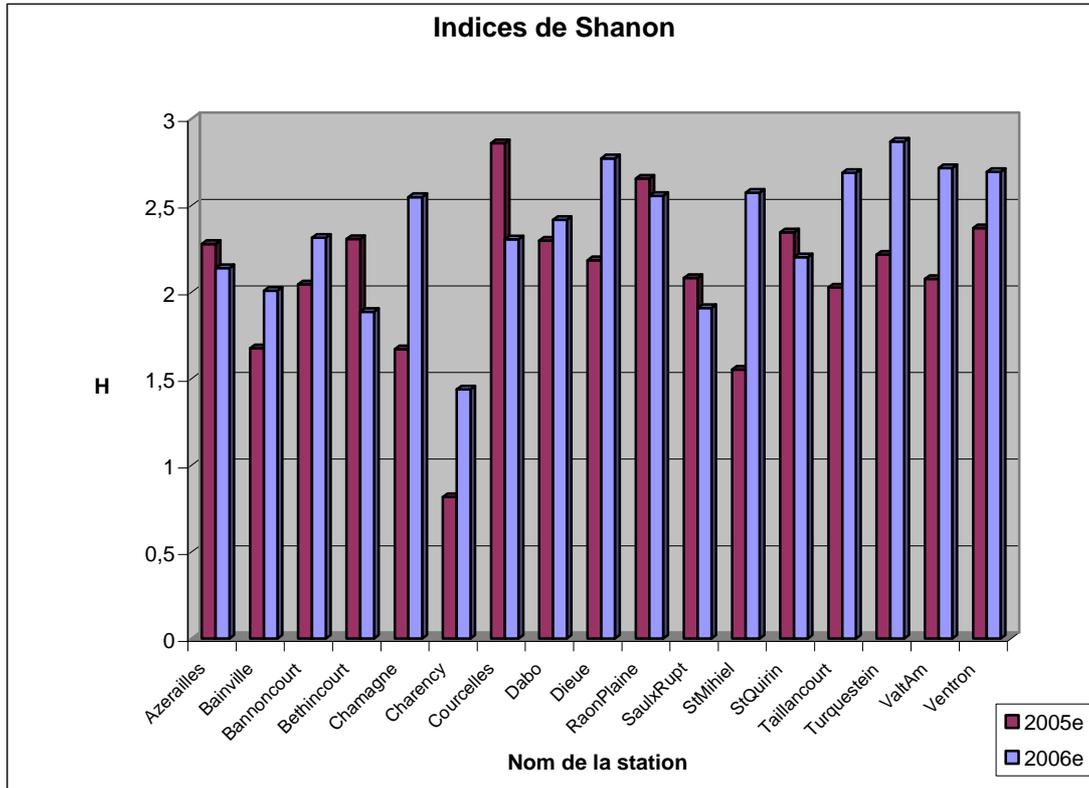
Malgré la limitation de la méthode « congélation + alcoolisation » à 3 échantillons élémentaires sur les 12, le document 13 ci-dessus ne montre aucune chute d'indice, de groupe indicateur, et/ou de richesse, ni générale, ni pour une station particulière. Globalement, les richesses sont mêmes plus importantes en 2006.

Par contre de fortes variations d'effectifs, diminutions ou augmentations, peuvent être observées sur certaines stations mais cette métrique est particulièrement instable dans le temps. Les fortes augmentations ou diminutions sont principalement imputables à des groupes proliférants comme les Simuliidae, Chironomidae,... Il est toutefois à noter que pour 7

stations sur 17, on observe une augmentation des effectifs en 2006. Une baisse des effectifs globaux ne peut donc pas être imputée au protocole de l'été 2006.

**3.2.2.2\*) diversité :**

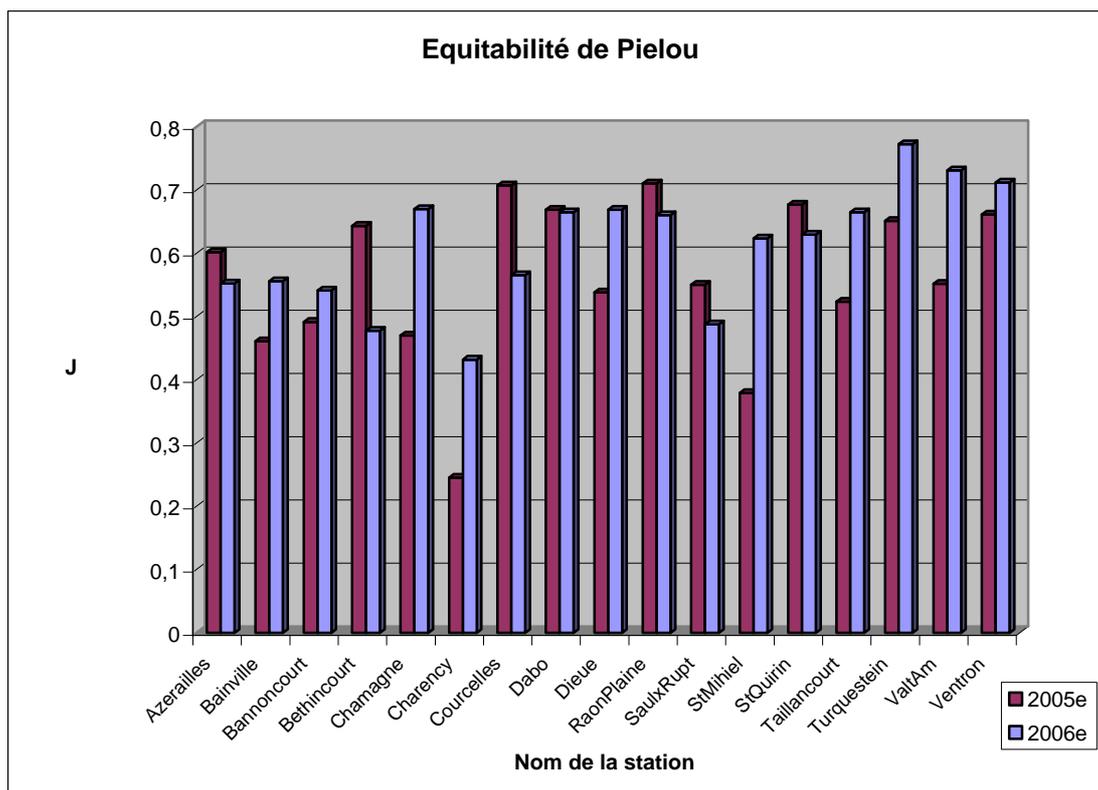
L'indice de Shannon et l'Équitabilité de Pielou (*ces deux indices sont décrits en Annexe 3*) sont également tout à fait équivalents entre les deux méthodes :



**Document 14 :** Indice de Shannon pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (éluatriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires)



Larve de *Baetis sp.*  
(Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 12/11/2008)



**Document 15 :** Equitabilité de Piéλου pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (élu-triation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires)

*Les valeurs exactes pour ces stations sont données à l'annexe 3.*

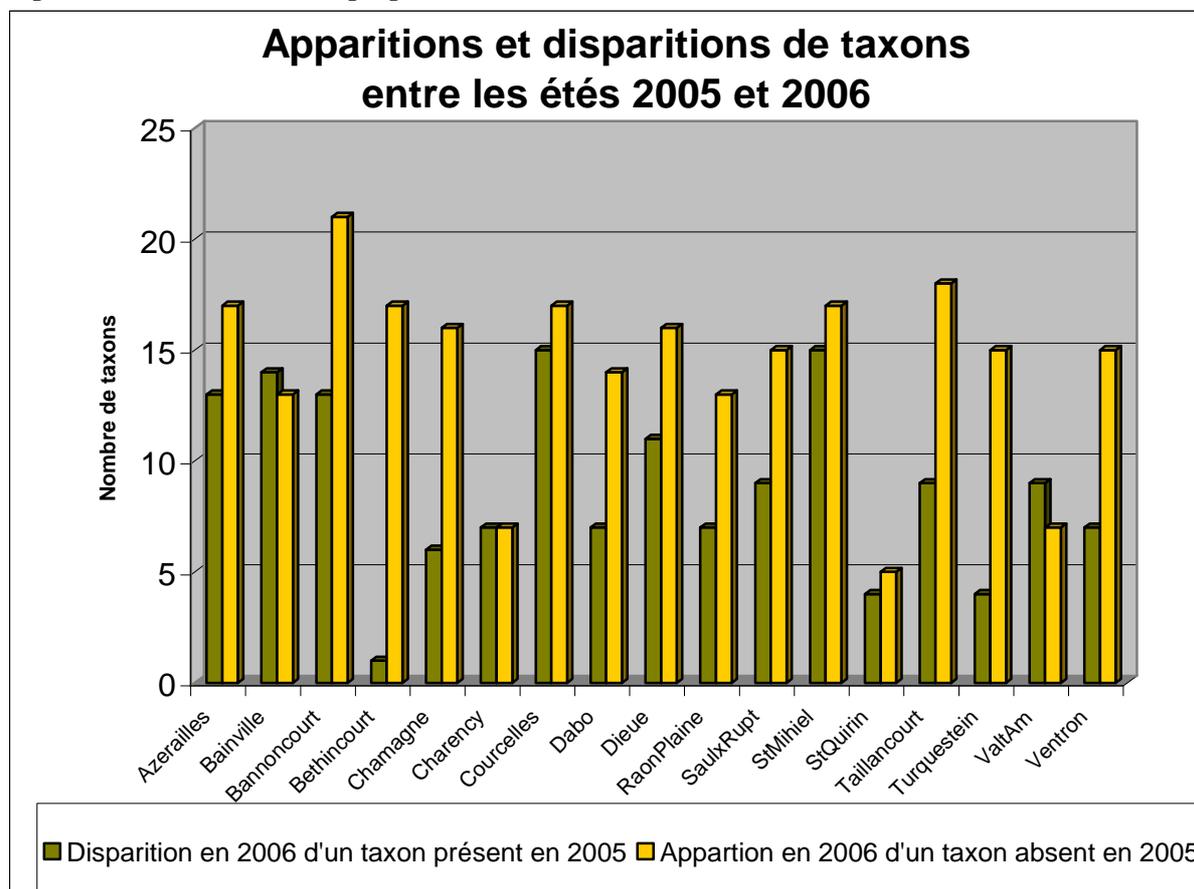
Les deux indices dressent le même constat tant sur les populations des stations que sur l'écart entre les deux méthodes de conservation : nous n'observons pas de baisse significative de diversité avec le protocole congélation, les écarts en faveur de l'une et l'autre année (donc l'une et l'autre méthode) semblant plutôt équilibrés.

	Indice de Shannon	Equitabilité de Pielou
<b>Plus forte baisse</b>	-0,555	-0,166
<b>Plus forte hausse</b>	1,021	0,245
<b>Moyenne des écarts</b>	0,269	0,052

**Document 16 :** Variation de l'indice de Shannon et l'équitabilité de Piéλου pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (élu-triation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

### 3.2.2.3\*) *apparition/disparition de taxons*

Si l'on considère, toujours station par station, non plus la différence globale du nombre de taxons entre les deux années, mais ses composantes en nombre d'apparitions et nombre de disparitions, les conclusions sont identiques : il n'y a pas de tendance à la disparition de taxons due au protocole de l'été 2006. Les apparitions de taxons sont même légèrement plus importantes en 2006 sur la plupart des stations.



**Document 17 :** Apparition de taxons entre l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (éluatriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires) – 17 stations

Les écarts relativement importants sur certaines stations peuvent être imputés à la variabilité annuelle des peuplements, aux conditions hydrologiques et aux facteurs aléatoires liés à l'incertitude de prélèvement.

En effet, la grande majorité des disparitions **concerne des taxons qui n'étaient présents qu'en faible abondance en 2005** (cf Annexe 2) : quelques individus par taxon voire un seul le plus souvent. Il en va de même pour la plupart des apparitions qui ne concernent qu'un faible nombre d'individus. Ce phénomène est souvent constaté, même sur des prélèvements réalisés strictement selon une même méthodologie<sup>14</sup>.

Tout comme pour les campagnes de printemps, la seule disparition de taxons présents en effectifs importants en 2005 concerne les Tricladés.

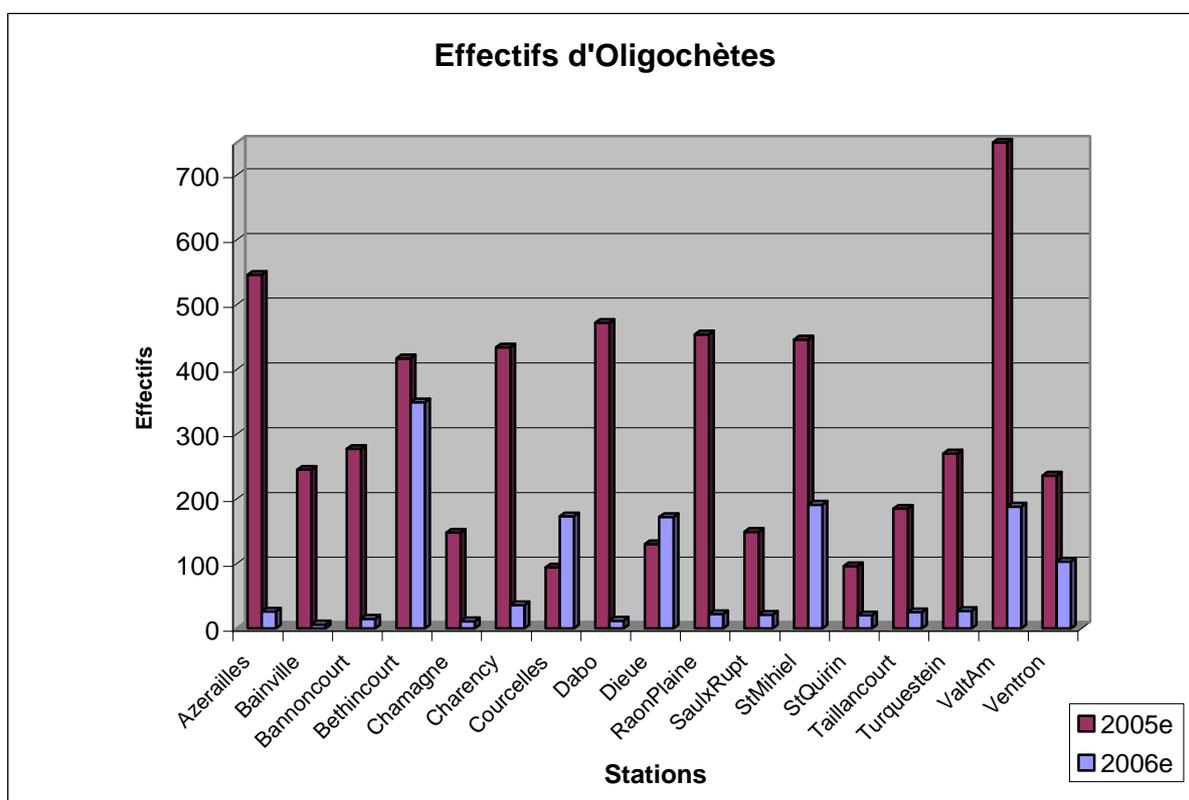
<sup>14</sup> Voir notamment l'étude inter-Diren sur « L'évaluation de l'influence du choix des placettes de prélèvement sur l'indice IBGN » : Diren Lorraine 2005

### 3.2.2.4\*) *Baisses d'effectifs*

Tout comme pour les campagnes de printemps, nous observons deux groupes systématiquement en forte baisse d'effectifs : **les Oligochètes** (mais cf. la réserve au chapitre 3-1) et **les Triclades**.

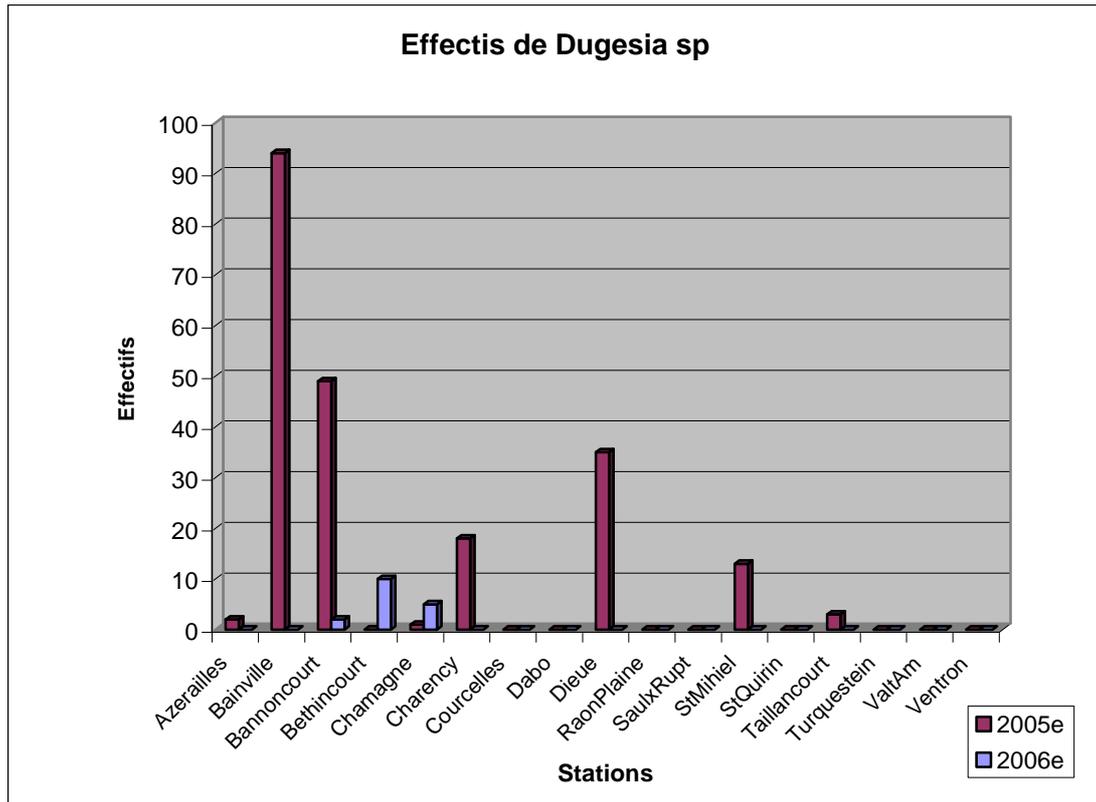
Les oligochètes ne sont pas systématiquement détruits par le protocole de l'été 2006, et on garde ainsi une bonne idée qualitative de leur présence pour toutes les stations.

Par contre, pour les Triclades, l'efficacité de l'éluatriation/alcoolisation sur les 3 échantillons élémentaires est faible (seuls les triclades des genres *Polycelis* et *Dugesia* ont été comptabilisés car le genre *Dendrocoelum* n'est présent que de manière anecdotique sur les stations du Réseau de référence pour ces deux campagnes d'été).

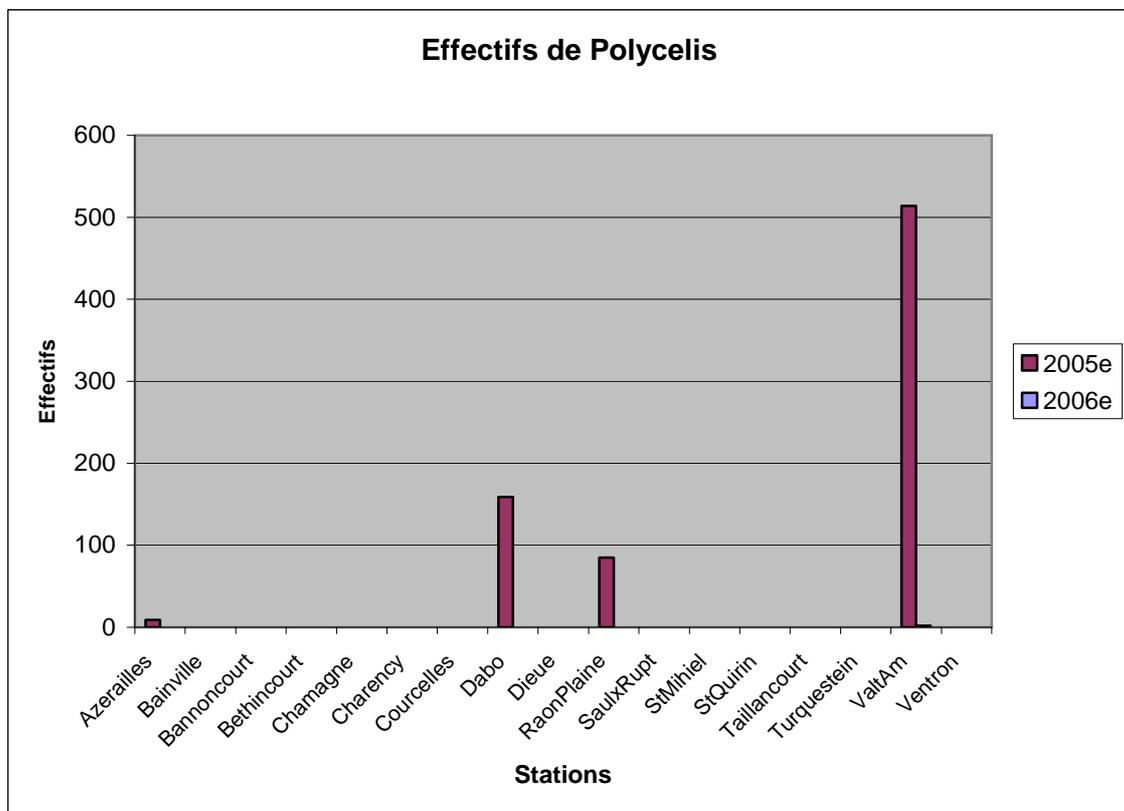


**Document 18** : Effectif d'oligochètes pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (éluatriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires) – 17 stations

*Rq* : L'effectif d'oligochètes de la Station du Valtin Amont pour l'été 2005 est en réalité de 3750. L'échelle ayant été modifiée pour ne pas écraser les histogrammes des autres stations, cela n'apparaît pas sur le graphique ci-dessus.



**Document 19 :** Effectif de *Dugesia* pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (élutriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires) – 17 stations



**Document 20 :** Effectif de *Polycelis* pour l'été 2005 (formol) et l'été 2006 (élutriation/alcoolisation sur 3 échantillons élémentaires + congélation sur 12 échantillons élémentaires) – 17 stations

### 3-3°) Analyse comparative entre fraction alcoolisée et fraction congelée (printemps 2006) :

Pour la campagne de printemps 2006, afin de déterminer si la phase «alcoolisation» (issue de l'élutriation sur le terrain, étape consommatrice en temps) est utile, le tri a été réalisé séparément sur les deux sous-échantillons : alcoolisé et congelé. La saisie des listes a été séparée (soit 24 sous-listes pour 12 prélèvements élémentaires du protocole du Réseau de référence).

Par contre, pour la campagne d'été une seule liste par habitat, voire par regroupement d'habitats, a été réalisée par soucis d'économie de temps.

L'objet de cette partie est, d'une part, d'étudier plus en détails l'utilité de l'alcoolisation d'une fraction de chaque prélèvement élémentaire (soit 12 élutriations), et, d'autre part, d'évaluer la pertinence de la version « simplifiée » (c'est-à-dire élutriation de 3 échantillons élémentaires seulement).

#### 3-3-1°) Informations apportées par la fraction alcoolisée

Pour cette évaluation, seule la campagne de printemps 2006 est étudiée : en effet les listes faunistiques sont séparées pour chaque fraction.

De part la méthodologie employée dans les protocoles étudiés, il se révèle impossible d'évaluer l'apport de la conservation par alcool par rapport à la congélation seule de l'ensemble de l'échantillon. En effet, à part pour les litières, il ne s'agit pas d'un sous-échantillon représentatif mais d'une élutriation : la mise en suspension des taxons par agitation dans un seau induit que la ségrégation des individus mis dans l'alcool n'est pas aléatoire, et de plus la majorité (voire la totalité pour certains taxons) de l'effectif se retrouve alcoolisé. De plus, dans quelques cas (prélèvements contenant peu de matière solide de type dalle ou argile), l'intégralité du prélèvement a été alcoolisé en un ou deux piluliers.

Ceci est illustré dans le document suivant de manière globale (par station) :

Station	Abondance		Abondance relative	
	Alcool	Congél	Alcool	Congél
<b>Dabo</b>	2034	794	72%	28%
<b>Turquestein</b>	853	513	62%	38%
<b>Saint-Quirin</b>	1114	942	54%	46%
<b>Ventron</b>	1467	387	79%	21%
<b>Valtin (Am)</b>	3153	1508	68%	32%
<b>Chamagne</b>	1911	863	69%	31%
<b>Rupt-a-N</b>	10634	3548	75%	25%
<b>Courcelles</b>	4314	1352	76%	24%
<b>Charency</b>	2273	2702	46%	54%
<b>Moyenne arrondie</b>	3 080	1 400	67%	33%

**Document 21** : Comparaison sur 9 stations<sup>15</sup> des effectifs entre les phases « alcool » et « congélation » pour le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

<sup>15</sup> Les 3 stations manquantes ont été triées sans données séparées pour la fraction alcoolisée.

On observe nettement que la **majeure partie de l'effectif** (12 échantillons confondus par station) **se retrouve dans la fraction qui flotte et qui est alcoolisée**. Les deux exceptions que sont Saint-Quirin et Charency s'expliquent par la présence de plusieurs habitats litières (pas d'élutriation, uniquement sous-fraction alcoolisée) et bryophytes (difficiles à flotter) : ceux-ci contenant des groupes proliférant comme les Gammaridae qui se sont retrouvées en majorité dans la partie congelée. Mais, cela ne reflète pas la répartition des individus des autres taxons qui se retrouvent en majorité dans la fraction alcoolisée.

Station	Richesse totale	Richesse		Richesse relative		Richesse commune aux deux fractions	% de taxons présents dans les deux fractions
		Alcool	Congél	Alcool	Congél		
Dabo	35	33	25	94%	71%	23	66%
Turquestein	41	39	30	95%	73%	28	68%
Saint-Quirin	41	37	32	90%	78%	28	68%
Ventron	32	31	20	97%	63%	19	59%
Valtin (Am)	40	39	32	98%	80%	31	78%
Chamagne	42	37	27	88%	64%	22	52%
Rupt-a-N	53	52	27	98%	51%	26	49%
Courcelles	40	35	33	88%	83%	28	70%
Charency	31	28	24	90%	77%	21	68%

<b>Moyenne</b>	39,44	36,78	27,78	93%	71%	25,11	64%
----------------	-------	-------	-------	-----	-----	-------	-----

**Document 22** : Comparaison sur 9 stations des richesses entre les fractions « alcool » et « congélation » pour le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

Le document 22 montre une grande efficacité de l'élutriation, celle-ci permet d'obtenir de 88 à 98% de la richesse d'une station. Une bonne proportion des taxons se retrouve dans les deux fractions, soit 49 à 78%. La fraction congelée regroupe quant à elle 51 à 83% des taxons.

Il est toutefois à noter que dans le cas d'une élutriation systématique comme réalisée ici, de nombreux taxons en faibles effectifs se retrouvent entièrement dans la fraction flottante.

Les taxons ne se retrouvant que dans le refus d'élutriation congelée sont principalement des taxons flottants difficilement, comme les mollusques et certains trichoptères (Goeridae par exemple).

Rappelons également que ces élutriations sont réalisées rapidement sur le terrain, sans souci d'exhaustivité : généralement le seau est rempli d'eau à moitié, l'ensemble « eau + prélèvement » est mis en rotation avec la main et le contenu est versé sur le tamis en évitant l'entraînement du sable ou autre matériau. Dans le cas de substrats végétaux, ceux-ci sont retenus d'une main. Cette manipulation est généralement renouvelée trois à quatre fois soit une durée totale d'environ 5 minutes. Le surcroît de temps évoqué dans le document 5 correspond davantage au rassemblement du sous-échantillon sur le tamis et à sa mise en pilulier à l'aide d'une spatule.

Une analyse quantitative se révélant peu pertinente pour les raisons énoncées ci avant, la présence/absence de chaque taxon a été contrôlée qualitativement dans les deux fractions, il est donc possible de voir quels taxons disparaissent par congélation.

		Alcool	Congélation	Rq			Alcool	Congélation	Rq	
Plécoptères	<b>Chloroperlidae</b>	x	x		Diptères	<b>Athericidae</b>	x	x		
	<b>Nemouridae</b>	x	x			<b>Blephariceridae</b>	x	absent	1	
	<b>Perlidae</b>	x	x			<b>Ceratopogonidae</b>	x	x		
	<b>Perlodidae</b>	x	x			<b>Chironomidae</b>	x	x		
Trichoptères	<b>Brachycentridae</b>	x	x			<b>Empididae</b>	x	x		
	<b>Glossosomatidae</b>	x	x			<b>Limoniidae</b>	x	x		
	<b>Goeridae</b>	x	x			<b>Psychodidae</b>	x	x		
	<b>Hydropsychidae</b>	x	x			<b>Simuliidae</b>	x	x		
	<b>Hydroptilidae</b>	x	x			<b>Calopterygidae</b>	x	absent	2	
	<b>Lepidostomatidae</b>	x	absent	3		<b>Cordulegasteridae</b>	x	x		
	<b>Leptoceridae</b>	x	x			Crustacés	<b>Asellidae</b>	x	absent	1
	<b>Leuctridae</b>	x	x				<b>Gammaridae</b>	x	x	
	<b>Limnephilidae</b>	x	x				<b>OSTRACODES</b>	x	absent	1
	<b>Odontoceridae</b>	x	x			Mollusques	<b>Ancylidae</b>	x	x	
	<b>Philopotamidae</b>	x	absent	1	<b>Hydrobiidae</b>		x	x		
	<b>Polycentropodidae</b>	x	absent	4	<b>Lymnaeidae</b>		x	x		
	<b>Psychomyiidae</b>	x	x		<b>Sphaeriidae</b>		x	x		
	<b>Rhyacophilidae</b>	x	x		<b>Valvatidae</b>		x	x		
<b>Sericostomatidae</b>	x	x		Achètes	<b>Erpobdellidae</b>	x	x			
Ephéméroptères	<b>Baetidae</b>	x	x			<b>Glossiphoniidae</b>	x	x		
	<b>Caenidae</b>	x	x			<b>Piscicolidae</b>	x	absent	1	
	<b>Ephemerellidae</b>	x	x		Tricladés	<b>Dendrocoelidae</b>	x	absent		
	<b>Ephemeridae</b>	x	x			<b>Planariidae</b>	x	absent		
	<b>Heptageniidae</b>	x	x		Autres	<b>Corixidae</b>	x	absent	1	
	<b>Leptophlebiidae</b>	x	x			<b>Sialidae</b>	x	x		
Coléoptères	<b>Curculionidae</b>	x	x			<b>Agriotypidae</b>	x	x		
	<b>Dryopidae</b>	x	x			<b>OLIGOCHETES</b>	x	x		
	<b>Dytiscidae</b>	x	x			<b>NEMATHELMINTHES</b>	x	x		
	<b>Elmidae</b>	x	x			<b>HYDRACARIENS</b>	x	x		
	<b>Gyrinidae</b>	absent	x	1		<b>COLLEMBOLES</b>	x	x		
	<b>Haliplidae</b>	x	absent	1						
	<b>Helodidae = Scirtidae</b>	x	x							
	<b>Helophoridae</b>	x	absent	1						
	<b>Hydraenidae</b>	x	x							

**Document 23** : comparaison des présences des taxons entre les phases « alcool » et « congélation » pour le printemps 2006 (éluatriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires) pour 9 stations du Réseau de référence

Légende : X présence du taxon ; 1 : seulement une occurrence d'un individu sur toute la campagne ; 2 : seulement deux occurrences de 1 individu ; 3 : seulement deux occurrences de deux individus ; 4 : seulement trois occurrences de deux et un individus.

**De manière qualitative, il apparaît que tous les taxons se retrouvent aussi bien dans les fractions alcoolisées que congelées (voir ci-dessous le cas particulier des oligochètes). La principale exception vient des planaires, qui ne sont trouvés que dans l'alcool car détruits par la congélation.**

Les autres taxons absents de la fraction congelée n'ont été rencontrés dans l'alcool qu'à des effectifs particulièrement faibles et en peu d'occurrence : de part l'élutriation, ils se retrouvent prioritairement dans la fraction alcoolisée. Ces taxons sont toutefois bien conservés en congélation car retrouvés sur d'autres campagnes (été 2006 ou 2007)

Une analyse quantitative se révèle impossible pour les raisons évoquées en tête de ce chapitre.

Station	Effectif Oligochètes		Effectif Triclares	
	Alcool	Congél	Alcool	Congél
<b>Dabo</b>	88	30	5	0
<b>Turquestein</b>	50	2	13	0
<b>Saint-Quirin</b>	93	0	3	0
<b>Ventron</b>	78	25	4	0
<b>Valtin (Am)</b>	138	16	0	0
<b>Chamagne</b>	51	0	0	0
<b>Rupt-a-N</b>	9	0	0	0
<b>Courcelles</b>	214	91	0	0
<b>Charency</b>	26	25	0	0

<b>Moyenne</b>	83	21	2,78	0
<b>%</b>	79,8%	20,2%	100%	0%

**Document 24 :** Comparaison sur 9 stations des richesses en oligochètes et triclares entre les phases « alcool » et « congélation » pour le printemps 2006 (élutriation/alcoolisation+ congélation sur 12 échantillons élémentaires)

Nous avons vu aux chapitres 3-2-1 et 3-2-2 que les effectifs d'oligochètes chutent de façon importante avec l'emploi de la méthode du printemps 2006 (*mais cf. la réserve chapitre 3-1 sur la surestimation de ce taxon avec le formol*). A la vue du document 24 ci-dessus, il est manifeste que leur présence est maintenue en grande partie grâce à l'alcoolisation.

Néanmoins, ils sont aussi présents dans la fraction « congélation », à l'exception de trois stations. Il semblerait que cette « persistance » de certains individus concerne les plus grands spécimens, ainsi que certains groupes taxonomiques qui seraient plus résistants (Lumbricidae, Haplotaxidae ...). Il n'est pas possible de chiffrer cette hypothèse pour le moment, les déterminations n'ayant été réalisées qu'au niveau de la Classe dans les protocoles utilisés.

### 3-3-2°) Efficacité du protocole simplifié :

La destruction des Triclades étant le principal inconvénient de la congélation, il a été décidé de se limiter pour l'alcoolisation aux habitats ayant le plus de chance d'en receler. (*cf méthode chap II 2-1*), soit 3 prélèvements élémentaires sur les 12.

Stations	Effectifs d'Oligochètes		Effectifs de Triclades	
	Pertes entre printemps 2006 (12 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre étés 2006 (3 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre printemps 2006 (12 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre étés 2006 (3 élu-triations) et 2005 (formol)
Chamagne	-335	-137	« - »	4
Charency	-186	-398	-16	-18
Courcelles	-1642	79	« - »	« - »
Dabo	-47	-460	-41	-159
Rupt-a-N	-1060	-128	-14	« - »
Saint-Quirin	-60	-76	0	« - »
Turquestein	-114	-243	-28	« - »
Valtin (Am)	-643	-3562	-304	-512
Ventron	-378	-133	-79	« - »

Stations	Pourcentage d'Oligochètes		Pourcentage de Triclades	
	Pertes entre printemps 2006 (12 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre étés 2006 (3 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre printemps 2006 (12 élu-triations) et 2005 (formol)	Pertes entre étés 2006 (3 élu-triations) et 2005 (formol)
Chamagne	-86,79%	-92,57%	« - »	400,00%
Charency	-78,48%	-91,71%	-100,00%	-100,00%
Courcelles	-84,33%	84,04%	« - »	« - »
Dabo	-28,48%	-97,46%	-89,13%	-100,00%
Rupt-a-N	-99,16%	-85,91%	-100,00%	« - »
Saint-Quirin	-39,22%	-79,17%	0,00%	« - »
Turquestein	-68,67%	-90,00%	-68,29%	« - »
Valtin (Am)	-80,68%	-94,99%	-100,00%	-99,61%
Ventron	-78,59%	-56,36%	-95,18%	« - »

**Document 25 :** Comparaison des pertes en oligochètes et triclades entre les phases « alcool » et « congélation » entre le printemps 2006 (élu-triation/alcoolisation pour 12 échantillons élémentaires) et l'été 2006 (élu-triation/alcoolisation pour 3 échantillons élémentaires par station)

Légende : « - » : aucun triclade en 2006 comme en 2005 ; les valeurs surlignées en vert représentent un gain et non une perte d'effectif.

Le document 25 montre que la limitation à 3 flottations au lieu de 12 semble augmenter légèrement le pourcentage de perte des effectifs d'Oligochètes et de Triclades. Néanmoins, les variations d'effectifs sont toujours difficiles à interpréter, de part la nature de ce paramètre.

Enfin, il se révèle malheureusement impossible de comparer les fractions alcoolisées et congelées de la campagne d'été 2006. En effet, pour chaque habitat, une seule liste a été établie au laboratoire, regroupant les deux fractions. Une idée aurait été de comparer sur une

même station un habitat uniquement congelé, au même habitat ayant été flotté (deux fractions : alcoolisée et congelée). Malheureusement, le cas où deux même substrats dans la même classe de vitesse, l'un élué l'autre non, ne se présente que trop rarement et uniquement pour le substrat pierres. Le faible nombre de réplicats disponibles ne permet pas d'avoir une vision nette de cette comparaison : la variabilité entre placettes d'une même station se faisant ici fortement ressentir.

### **3-4°) Comparaison entre sous-échantillon formolé (été 2005) et sous-échantillon congelé (été 2006) :**

Comme déjà indiqué, durant l'été 2006, la flottation a été réduite à 3 sous-échantillons sur les 12 pour alléger la procédure et réduire le temps passé sur le terrain. Il reste donc 9 échantillons par station qui ont été uniquement congelés. Il serait donc possible de comparer ces 9 échantillons avec 9 échantillons uniquement formolés en 2005.

Malheureusement cette comparaison n'est pas possible car la majorité des stations a été traitée en 2006 par regroupement de bocaux, ce qui ne permet pas d'exclure les habitats alcoolisés. Seules 5 stations disposent de 12 listes séparées (une par prélèvement élémentaire), ce qui, conjugué avec les différences interannuelles (substrats prélevés dans des classes de vitesses différentes, ou non trouvés d'une année sur l'autre), ne laisse que trop peu de prélèvements élémentaires à comparer. Comme précédemment, le faible nombre de réplicats ne permet pas d'avoir une vision nette et de s'affranchir de la variabilité entre placettes.

#### IV°) Observations sur l'état des taxons en fonction du mode de conservation

Le document suivant résume, d'après l'expérience acquise lors des campagnes 2005 et 2006, l'état des macroinvertébrés selon les types de conservation utilisés.

	Formulation	alcoolisation à 70 ° (piluliers terrain)	Congélation
Généralités	Individus rigides mais « cuit » ( <b>perte des couleurs</b> )	Individus souples et bonne conservation des couleurs	Individus souples et bonne conservation des couleurs
Plécoptère	Bon état	Bon état	Bon état
Trichoptère	Bon état	Individus souples, abdomen fragile	Individus souples, abdomen fragile
Ephéméroptère	Individus rigides mais <b>détériorés par le lavage</b> pour enlever le formol	Individus souples et fragile	Individus souples et fragile
Hétéroptère	Bon état	Bon état	Bon état
Coléoptère	bon état	Bon état	Bon état
Diptères	Bon état	Bon état	Bon état
Mégaloptère, planipennes, Hyménoptères, Lépidoptères	Bon état	Bon état	Bon état
Crustacées	Bon état	Bon état	Bon état
Mollusque	<b>Coquille souvent fragilisée par le formol, trop souple et/ou friable, empêchant parfois une détermination</b>	<b>Certains mollusques se séparent de leur coquille, (particulièrement ancyliidae, petits spaheridiidae)</b> : Attention particulière lors de l'élutriation au labo et du tri. Par contre, les coquilles ne sont pas détériorées par le formol	<b>Certains mollusques se séparent de leur coquille, (particulièrement ancyliidae, petits spaheridiidae)</b> : Attention particulière lors de l'élutriation au labo et du tri. Par contre, les coquilles ne sont pas détériorées par le formol
Achétes	Bon état	Déterminable mais, rapidement après la remise en eau, la chair se rétracte, se séparant de la peau	Déterminable mais, rapidement après la décongélation, la chair se rétracte, se séparant de la peau
Triclades	Bon état (néanmoins cuit par le formol : <b>yeux parfois non visibles</b> )	Etat variable : Grands individus parfois recroquevillés en boule et boursoufflés, probablement oubli d'individus lors du tri	<b>Détruits</b>
Oligochètes	Bon état mais le fractionnement des corps fait surévaluer les densités (comptage de fragments dans la cuvette de tri et non comptage des têtes)	Etat variable (ne reste parfois que le tissu externe), probablement des pertes d'individus	<b>Destruction probable de nombreux individus (une étude serait à faire sur les familles éventuelles les plus fragiles). Certaines familles sont peu affectées par la congélation : Haplotaxidae, Lumbricidae ...</b>
Nématelminthes	Bon état	Bon état	Bon état
Hydracariens	Bon état	Bon état	Bon état
Hydrozoaires	Bon état	? (1)	<b>Détruits ?? (1)</b>
Spongiaires	Le plus souvent détruit lors du prélèvement	Le plus souvent détruit lors du prélèvement	Le plus souvent détruit lors du prélèvement
Bryozoaires	Le plus souvent détruit lors du prélèvement	? (1)	? (1)
Némertiens	?? (rare)	? (1)	? (1)

**Document 26** : Comparaison de l'état des taxons par mode de conservation (formol, alcool et congélation)

Légende : (1) taxons non présents sur nos stations de référence

On peut se reporter à l'annexe 5 pour des planches photos d'individus congelés ou alcoolisés.

Notons que l'utilisation du formol à la DIREN Lorraine était accompagnée d'une coloration au rose de Bengale facilitant le tri, dont l'utilisation n'a pas été encore reprise mais semble possible avec le protocole « congélation et alcoolisation ».

Concernant les petits taxons et notamment les hydracariens, le tri au moyen d'un dispositif grossissant « Mantiss X4 » utilisé à la DIREN Lorraine depuis la fin 2006- plus performant que les traditionnelles lampes loupes circulaires X2 – semble accroître sensiblement la densité des individus triés. Il est intéressant de noter qu'**une telle modification de matériel de tri est susceptible d'avoir un impact de même type qu'un changement de mode de conservation.**

Pour finir, on pourrait penser que les larvules sont détruites par la congélation, mais il n'en est rien. En effet, sur ces stations de référence, des larvules notamment de plécoptères, trichoptères et éphéméroptères sont trouvées en grandes quantités. Elles ne semblent pas plus vulnérables à la congélation que les larves plus matures.

## VI°) Conseils pour limiter les inconvénients de la congélation

Nos conseils peuvent être résumé dans le document suivant :

Inconvénients	Choix de la DIREN Lorraine/ Conseils
Nécessité d'une congélation le soir du prélèvement au plus tard	Retour d'un agent au moins, tous les soirs de prélèvement au laboratoire
Absence supposée de stérilisation de l'échantillon (survie d'agents pathogène)	Travailler avec des gants sur le terrain ; Eviter au laboratoire le contact direct avec l'échantillon
Temps de décongélation de 1 à 3 h	Organisation du technicien
Fragilité des macroinvertébrés décongelés <i>Note : le lavage des échantillons formolés était nécessairement plus poussé afin d'éliminer le formol, la détérioration des individus (même moins fragiles) était également présente avec ce mode de conservation</i>	Lavage « doux » du substrat au laboratoire. Récupération des individus par élutriation. Récupération séparée des coquilles et des animaux d'ancylidae et de sphaeriidae .
Pourrissement des macroinvertébrés décongelés au laboratoire en 6 à 12 h (en fonction de la température de l'air du laboratoire)	Organisation du technicien pour limiter la durée de tri. Mise au frigo des échantillons éventuellement en attente.
Risque de panne de congélateur	Achat de 3 congélateurs pour un besoin de 2. Mise en place d'une surveillance systématique des voyants chaque jour ouvré.
Risque de conservation des échantillons témoins moins bonne à long terme (piluliers témoin ou collection) si conservation à l'alcool, du fait de l'absence de durcissement préalable par le formol.	Une solution serait d'utiliser un bain de formol pour la fixation des tissus puis de conserver à l'alcool. Les agents du laboratoire de la DIREN Lorraine visent toutefois plutôt une situation « zéro formol ».

Document 27 : Inconvénients de la congélation et solution de la DIREN Lorraine

## Conclusion

Compte-tenu des connaissances actuelles en matière de toxicité du formol, il n'est plus possible pour un laboratoire d'hydrobiologie de continuer à travailler avec ce produit comme par le passé, sans réelles précautions pour le personnel ou avec des précautions insuffisantes ou non réellement appliquées (en raison des lourdes contraintes de terrain et de laboratoire).

La responsabilité pénale de l'encadrement du laboratoire peut être engagée <sup>16</sup>, d'autant plus qu'il existe une méthode alternative sans risque pour la santé des agents.

L'usage de l'alcool seul présentant d'autres risques (notamment en cas d'accident de la route). L'usage de la congélation apparaît donc désormais comme une solution intéressante mais dont l'impact sur les données devait être évalué.

Au vu des résultats de cette étude, il apparaît que la congélation permet une bonne conservation de l'ensemble des taxons à l'exception des Triclades. Les cas de taxons non trouvés sur nos stations de référence ou détruits dès le prélèvement n'a toutefois pu être tranché : hydriaires, bryozoaires, spongiaires, polychètes.

Dans l'état actuel des choses (compatibilité avec l'IBGN), le recours à la conservation à l'alcool d'un petit sous-échantillon, en sus de la congélation est nécessaire afin de conserver une information sur la présence des Triclades. La fiabilité de celle-ci est toutefois limitée du simple fait que la fraction alcoolisée ne concerne qu'un sous-échantillon, fraction flottante d'une élutriation.

L'utilisation conjointe de l'alcool alourdissant notablement le protocole, il serait envisageable d'exclure ou au moins de rendre non obligatoire, le recensement des taxons détruits par la congélation dans les méthodes macroinvertébrés à venir. Ces méthodes ont vocation à traduire l'état écologique des eaux douces et non la prétention d'être des relevés exhaustifs des taxons présents. Ceci n'affecterait pas notablement la pertinence et la précision de celles-ci. Notons d'ailleurs qu'il semble déjà y avoir une grande hétérogénéité interlaboratoires dans la prise en compte de taxons comme les hydriaires, les spongiaires, les bryozoaires... (certains laboratoires n'en trouvent jamais <sup>17</sup>) et que leur exclusion serait plutôt de nature à accroître la reproductibilité interopérateurs d'une méthode macroinvertébrés.

Les piluliers alcoolisés au printemps 2006 renfermant 88 à 98% des taxons de ces échantillons, il est même possible de s'interroger sur la pertinence d'une méthode basée sur une élutriation sur le terrain, sommaire mais standardisée, de tous les prélèvements et la seule conservation à l'alcool de ces fractions flottantes. Cette méthode pourrait se révéler d'un excellent rapport qualité-prix (temps de tri ultérieur très fortement diminué) dans le cadre de réseaux de suivi de la qualité des eaux et lèverait les problèmes résiduels liés à la congélation.

---

<sup>16</sup> Le précédant de l'amiante ne doit pas être oublié.

<sup>17</sup> Voir notamment le rapport de Maitrise de Davy THIRINGER 2003 (cf bibliographie)

## Bibliographie

AFNOR, 2004 – Détermination de l'indice biologique global normalisé – Norme NFT 90-350 – 16 pages.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2005 - Evaluation de l'influence du choix des placettes de prélèvement sur l'indice IBGN – réalisé par MATTE (JL), DAMLENCOURT (S) et al., expérimentation réalisée dans le cadre du Groupe National Qualité des Eaux des DIRENs - Metz mai 2005, 122p. + annexes, document téléchargeable sur le site internet de la DIREN Lorraine

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2006 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques printemps 2005 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Rhin-Meuse . Diren Lorraine Metz 2006 57p.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2006 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques printemps 2005 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Seine-Normandie. Diren Lorraine Metz 2006 11p.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2006 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques été 2005 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Rhin-Meuse . Diren Lorraine Metz 2006 90p.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2006 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques été 2005 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Seine-Normandie . Diren Lorraine Metz 2006 12p.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2007 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques printemps 2006 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Rhin-Meuse . Diren Lorraine Metz 2007 53p.

Direction Régionale de l'Environnement de Lorraine, 2007 – Réseau de référence DCE Résultats hydrobiologiques été 2006 (Macroinvertébrés) Description des stations de prélèvements- listes faunistiques Bassin Rhin-Meuse . Diren Lorraine Metz 2007 80p.

FRONTIER (S.) édit., 1983. – *Stratégies d'échantillonnage en écologie*. Masson, Paris, X + 494 p.

FRONTIER (S.), PICHOD-VIALE (D.), 1998 – *Ecosystèmes : Structure, Fonctionnement, Evolution*. Dunod, Paris, 447 p.

INERIS (Fiche Internet sur le formol, mise à jour 25/05/2005)

INRS, 1997. Fiche toxicologique n° 7. Aldéhyde formique et solutions aqueuses. 6 p.

INRS, 1997. Fiche toxicologique n° 48. Ethanol. 6 p.

Institut national de recherche et de sécurité, laboratoire interrégionale de chimie de l'Est, mars 2000 – Analyses d'atmosphères à la Direction régionale de l'environnement lorraine à Metz – réalisé par B. Bianchi – 16 p.

TACHET (Henri), et al., 2000 et 2002 – *Invertébrés d'eau douce, systématique, biologie, écologie* – Paris : CNRS Edition, édition 2000 et 2002 – 588 pages. + supplément 2006 ed Association française de Limnologie et ARALEP Ecologie des Eaux douces 10 pages

THIRINGER Davy, 2003 - Recherches et qualité d'outils d'aide à la validation des données IBGN acquises dans le cadre de réseaux de mesure - Université de Metz UFR Sci.F.A. Laboratoire L.B.F.E en collaboration avec la Diren Lorraine.

# **Annexes**

## Anx 1 : Liste des stations étudiées

Nom station	N° National	Typologie nationale	Géologie	Topographie	Typologie complémentaire	Printemps	Été
LA ZORN À DABO (ENTENECK)	02042650	TP04	grès	montagne (Vosges)	Vosges	OUI	OUI
LE RUISSEAU DES VINTERGES À VENTRON	02049250	TP04	granite	montagne (Vosges)	Vosges	OUI	OUI
LA MOSELLE À BAINVILLE-AUX-MIROIRS (LA NOIRE MORTE)	02055100	G10/04	argilo-calcaire	plaine	Plateau calcaire	---	OUI
LE RUISSEAU DU PRE AUX BOIS À CHAMAGNE	02055200	TP10	argilo-calcaire	plaine	Plateau calcaire	OUI	OUI
LA MEURTHE AU VALTIN (AMONT)	02061250	TP04	granite	montagne (Vosges)	Vosges	OUI	OUI
LA PLAINE À RAON-SUR-PLAINE	02065090	TP04	grès	montagne (Vosges)	Vosges	OUI	OUI
LA MEURTHE À AZERAILLES (AVAL)	02067000	G10/04	grès	plaine sous influence vosgienne	Vosges	---	OUI
LA SARRE-BLANCHE À TURQUESTEIN-BLANCRUPT	02094970	TP04	grès	montagne (Vosges)	Vosges	OUI	OUI
LA SARRE ROUGE À SAINT-QUIRIN (LES DEUX RIVIERES)	02094978	TP04	calcaire	plaine	Vosges	OUI	OUI
LA MEUSE À TAILLANCOURT	02107250	M10	calcaire	plaine	Plateau calcaire	---	OUI
LA MEUSE A SAINT-MIHIEL	02109000	G10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	---	OUI
LA MEUSE À BANNONCOURT	02110100	G10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	---	OUI
LA MEUSE À DIEUE-SUR-MEUSE	02110600	G10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	---	OUI
LE RUISSEAU DES FORGES À BETHINCOURT	02112150	P10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	OUI	OUI
LE DORLON À CHARENCY-VEZIN	02115762	TP10	calcaire	côte	Côtes calcaires	OUI	OUI
La SAULX à RUPT AUX NONAINS	03096025	P10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	OUI	OUI
L'AIRE à COURCELLES-SUR-AIRE	03156308	P10	calcaire	plaine	Côtes calcaires	OUI	OUI

**Document 28** : Liste détaillée des stations étudiées

Légende de la typologie nationale :

1°) : taille cours d'eau : TP = très petit, P : petit, M : moyen, G : grand, TG : très grand

2°) hydroécocorégion : 04 : vosges, 10 : côtes calcaires de l'Est

## Anx 2 : Apparition/Disparition de taxons entre les années 2005 et 2006

Classées par nom court, avec (A) la disparition en 2006 d'un taxon présent en 2005, et (B) l'apparition en 2006 d'un taxon absent en 2005. Le nombre entre parenthèses reflète la variation d'effectif induite par ces changements : par ex, Amphinemura (-1) dans la colonne A signifie que le Genre Amphinemura a disparu en 2006, et qu'un seul individu était présent en 2005.

En surligné apparaissent les planaires et en gras les fortes disparitions ou apparitions (plus de 5 individus)

### Apparition/Disparition de taxons entre les printemps 2005 et 2006

Dabo		Turquestein		Saint-Quirin	
A	B	A	B	A	B
Amphinemura (-1)	Lithax (+1)	Amphinemura (-1)	Hyporhyacophila (+5)	Helodes (-1)	Amphinemura (+1)
Dinocras (-1)	Philopotamus (+1)	Perla (-1)	Lathelmis (+8)	Asellus (-1)	Lithax (+2)
<b>Micrasema (-350)</b>	Hydraena (+2)	<b>Micrasema (-75)</b>	Cordulegaster (+2)	Sphaerium (-1)	Ecdyonurus (+4)
sF.Drusinae (-1)		sF.Drusinae (-4)	Ancylus (+3)	<b>Polycelis (-3)</b>	Epeorus (+2)
Tinodes (-5)		<b>Acentrella (-24)</b>			Psychodidae (+1)
Habrophlebia (-1)		<b>Epeorus (-10)</b>			Cordulegaster (+2)
Athericidae (-1)		Habroleptoides (-2)			Sialis (+3)
Tabanidae (-1)		<b>Habrophlebia (-7)</b>			<b>Pisidium (+10)</b>
		Oulimnius (-2)			Dendrocoelum (+3)
		Blephariceridae (-3)			NEMATHELMINTHES (+2)
		Sphaerium (-1)			COLLEMBOLA (+5)
		Valvata (-1)			
		<b>Dugesia (-2)</b>			

Ventron		ValtinAm		Chamagne	
A	B	A	B	A	B
Nemoura (-2)	<b>Brachycentrus (+11)</b>	<b>Nemoura (-52)</b>	Siphonoperla (+4)	Xanthoperla (-1)	Hydropsyche (+19)
<b>Ptilocolepus (-10)</b>	Sericostoma (+1)	Plectrocnemia (-5)	Agapetus-Synagapetus (+1)	Amphinemura (-5)	Rhyacophila sensu-stricto (+2)
NEMATODES (-1)	Blephariceridae (+1)	<b>Siphonurus (-43)</b>	Hydropsyche (+1)	Isoperla (-2)	sF.Dytiscinae (+1)
	Sphaerium (+1)	<b>Polycelis (-304)</b>	Rhyacophila sensu-stricto (+1)	Goera (-1)	Esolus (+1)
	COLLEMBOLÉ (+4)		Ecdyonurus (+2)	Mystacides (-1)	Helodes (+2)
			Dryops (+2)	Plectrocnemia (-3)	Hydraena (+2)
			<b>Empididae (+14)</b>	Polycentropus (-1)	<b>Sialis (+6)</b>
			Galba (+1)	Lype (-1)	Agriotypus (+1)
			<b>NEMATHELMINTHES (+12)</b>	Microvelia (-3)	Pisidium (+2)
			COLLEMBOLÉ (+2)	Empididae (-1)	Glossiphonia (+1)
				Tabanidae (-1)	NEMATHELMINTHES (+1)
				Elophila (-1)	<b>HYDRACARIENS (+8)</b>
				Paraponyx (-1)	COLLEMBOLÉ (+5)
				Erpobdella (-1)	

SaulxRupt		Courcelles		Charency	
A	B	A	B	A	B
<b>Torleya (-181)</b>	Hydroptila (+2)	<b>Lasiocephala (-7)</b>	Ecdyonurus (+1)	Silo (-1)	Agapetus-Synagapetus (+1)
Dryops (-1)	Oecetis (+1)	Ceraclea (-3)	Habrophlebia (+1)	<b>Plectrocnemia (-6)</b>	Lype (+2)
Acroloxus (-1)	Tr.Limnephilini (+1)	<b>Mystacides (-6)</b>	<b>Riolus (+8)</b>	Habrophlebia (-12)	sF.Hydroporinae (+1)
Trocheta (-1)	Heptagenia (+1)	Oecetis (-3)	Hydraena (+1)	<b>Paraleptophlebia (-9)</b>	Oulimnius (+1)
Batracobdella (-3)	Halipus (+1)	Tr.Limnephilini (-2)	Psychodidae (+1)	Psychodidae (-2)	Tabanidae (+1)
<b>Dendrocoelum (-6)</b>	Helophorus (+1)	Lype (-6)	Gammarus (+3)	<b>Dugesia (-16)</b>	Glossiphonia (+1)
<b>Dugesia (-6)</b>	<b>Hydraena (+21)</b>	Centropilum (-5)		NEMATHELMINTHES (-1)	COLLEMBOLA (+2)
<b>Polycelis (-2)</b>	Empididae (+3)	Micronecta (-2)			
	Agriotypus (+3)	Brychius (-1)			
	OSTRACODES (+1)	Halipus (-1)			
	<b>Valvata (+6)</b>	Tabanidae (-1)			
	NEMATHELMINTHES (+3)	Calopteryx (-2)			
		Platycnemis (-1)			
		Acroloxus (-1)			
		<b>Bithynia (-188)</b>			
		Bathyomphalus (-1)			
		Gyraulus (-1)			
		Valvata (-3)			
		Piscicola (-2)			
		NEMATHELMINTHES (-1)			

**Document 29** : Apparition/Disparition par taxons avec leur variation d'effectif pour chaque station entre les printemps 2005 et 2006

## Apparition/Disparition de taxons entre les étés 2005 et 2006

Azerailles		Bainville		Bannoncourt	
A	B	A	B	A	B
<b>Agraylea (-11)</b>	Aphelocheiridae (+2)	Ancylus (-4)	Aphelocheiridae (+2)	<b>Brachycentrus (-10)</b>	Brychius (+3)
Coenagrionidae (-4)	<b>Ceratopogonidae (+7)</b>	Athericidae (-2)	Ceraclea (+2)	<b>Cloeon (-180)</b>	Ceraclea (+1)
Curculionidae (-1)	Dryops (+1)	<b>Athripsodes (-5)</b>	Goera (+2)	Leptocerus (-1)	<b>Cheumatopsyche (+31)</b>
Dugesiididae (-2)	Ephemera (+1)	Ceratopogonidae (-2)	Gomphus (+1)	Limoniidae (-3)	Dixidae (+1)
Elmis (-2)	Gerridae (+1)	<b>Dendrocoelidae (-6)</b>	Limnius (+2)	Micronecta (-1)	<b>Elmis (+45)</b>
Empididae (-1)	Gomphus (+3)	<b>Dugesiididae (-94)</b>	Micronecta (+2)	<b>Neureclepsis (-6)</b>	Hydrometridae (+2)
Limnius (-1)	Hydraena (+2)	Empididae (-2)	Oecetis (+4)	Oecetis (-1)	Limnius (+3)
Oulimnius (-2)	<b>Lepidostoma (+30)</b>	Erpobdellidae (-3)	Orconectes (+1)	<b>OSTRACODES (-40)</b>	Macronychus (+2)
<b>Planariidae (-9)</b>	Oecetis (+1)	<b>Heptagenia (-13)</b>	Orectochilus (+4)	Phryganea (-1)	Nepidae (+2)
<b>Potamopyrgus (-50)</b>	Ophiogomphus (+1)	Hydraena (-1)	Piscicolidae (+1)	<b>Potamanthus (-8)</b>	Onychogomphus (+1)
Procloeon (-1)	Paraleptophlebia (+1)	<b>Hydroptila (-121)</b>	<b>Platycnemis (+16)</b>	Procloeon (-1)	Orconectes (+2)
Radix (-1)	Piscicolidae (+4)	<b>Nemoura (-5)</b>	sF. Hydroporinae (+1)	Rhagionidae (-1)	Orectochilus (+3)
Tabanidae (-1)	<b>Pisidium (+6)</b>	Plectrocnemia (-1)	Tabanidae (+3)		Orthotrichia (+3)
	Planorbidae (+2)	Procloeon (-1)			Pleidae (+1)
	sF. Hydrophilinae (+2)				<b>Radix (+18)</b>
	sF. Hydroporinae (+1)				Rhyacophila (+1)
	Sphaerium (+3)				sF. Apataniinae (+1)
					<b>sF. Hydrophilinae (+5)</b>
					Sialis (+2)
					<b>Stenelmis (+130)</b>
					Stratiomyidae (+2)

Bethincourt		Chamagne		Charency	
A	B	A	B	A	B
Piscicolidae (-3)	Asellidae (+2)	Cordulegaster (-1)	Athripsodes (+2)	<b>Dugesiididae (-18)</b>	GORDIACES (+1)
	BRANCHIOPODES (+1)	<b>Habrophlebia (-18)</b>	<b>Beraeodes (+44)</b>	Empididae (-2)	OSTRACODES (+2)
	<b>Centroptilum (+10)</b>	<b>Leuctra (-10)</b>	Caenis (+1)	<b>Habrophlebia (-6)</b>	Paraleptophlebia (+1)
	Dixidae (+1)	Lype (-3)	<b>Ceratopogonidae (+22)</b>	Hydropsyche (-3)	Perlodes (+4)
	Empididae (+1)	Rhyacophila (-1)	Dixidae (+2)	Lype (-1)	Psychodidae (+2)
	Haliplus (+2)	sF. Drusinae (-1)	Empididae (+1)	Silo (-1)	<b>Ptychopteridae (+7)</b>
	<b>Hydropsyche (+7)</b>		Gerridae (+1)	Sphaerium (-2)	sF. Colymbetinae (+4)
	<b>Hydroptila (+9)</b>		Glossiphoniidae (+3)		
	<b>Lepidostoma (+10)</b>		<b>HYDRACARIENS (+22)</b>		
	Mesoveliidae (+1)		Lasiocephala (+1)		
	<b>NEMATODES (+5)</b>		<b>Lepidostoma (+194)</b>		
	Orectochilus (+3)		<b>Mystacides (+21)</b>		
	Protonemura (+1)		Ptychopteridae (+2)		
	Psychodidae (+1)		<b>Rhithrogena (+16)</b>		
	Ptychopteridae (+1)		<b>Simuliidae (+10)</b>		
	sF. Dytiscinae (+2)		<b>Tabanidae (+6)</b>		
	Tabanidae (+3)				

Courcelles		Dabo		Dieue	
A	B	A	B	A	B
Acroloxus (-1)	<b>Ceraclea (+54)</b>	Epeorus (-1)	Adicella (+3)	BRYOZOAIRES (-1)	<b>Calopteryx (+5)</b>
Brychius (-1)	Ceratopogonidae (+1)	<b>Philopotamus (-9)</b>	Cordulegaster (+3)	<b>Dugesiiidae (-35)</b>	<b>Ceratopogonidae (+11)</b>
Bythiospeum (-1)	<b>Empididae (+9)</b>	<b>Planariidae (-159)</b>	<b>Dinocras (+5)</b>	Lype (-1)	<b>Coenagrionidae (+54)</b>
Dugesiiidae (-2)	Gammarus (+1)	<b>Sericostoma (-45)</b>	Dixidae (+2)	Macronychus (-4)	Ephemerella (+1)
<b>Ephemerella (-40)</b>	Goera (+4)	<b>sF. Drusinae (-61)</b>	Ecdyonurus (+2)	Pseudanodonta (-1)	Haliplus (+1)
HYDROZOAIRES (-4)	Hydraena (+3)	Sialis (-2)	Habroleptoides (+2)	Rhyacophila (-1)	<b>Ithytrichia (+6)</b>
Nepidae (-1)	<b>Ithytrichia (+8)</b>	Valvata (-2)	Helodes (+2)	<b>Riolus (-29)</b>	Limoniidae (+1)
Paraleptophlebia (-1)	Limoniidae (+3)		Hydraena (+3)	sF. Hydrophilinae (-1)	Nemoura (+1)
<b>Physa (-15)</b>	<b>Lymnaea (+6)</b>		Lithax (+2)	SPONGIAIRES (-1)	Oecetis (+4)
<b>Piscicolidae (-6)</b>	NEMATODES (+1)		Perlodes (+3)	Trienodes (-4)	<b>OSTRACODES (+52)</b>
<b>Pisidium (-22)</b>	Potamanthus (+2)		Psychodidae (+1)		<b>Radix (+16)</b>
<b>Planariidae (-1)</b>	Psychodidae (+2)		Rhithrogena (+1)		<b>Scatophagidae (+5)</b>
Procloeon (-2)	Riolus (+4)		sF. Colymbetinae (+1)		Stratiomyidae (+1)
sF. Hydrophilinae (-1)	sF. Dytiscinae (+1)		Tinodes (+1)		Tabanidae (+4)
Tipulidae (-1)	<b>Sisyra (+11)</b>				Tipulidae (+1)
	<b>Sphaerium (+17)</b>				Valvata (+4)

RaonPlaine		SaulxRupt		StMihiel	
A	B	A	B	A	B
Ancylus (-4)	<b>Agapetus -Synagapetus (+11)</b>	Ceratopogonidae (-2)	Brychius (+1)	<b>Centroptilum (-53)</b>	<b>BRANCHIOPODES (+8)</b>
Curculionidae (-1)	Caenis (+3)	<b>Dugesiiidae (-9)</b>	Caenis (+2)	Dreissena (-3)	BRYOZOAIRES (+2)
<b>Habrophlebia (-40)</b>	Crambidae = Pyralidae (+1)	Euleuctra (-3)	<b>Empididae (+11)</b>	<b>Dugesiiidae (-13)</b>	<b>Ceratopogonidae (+6)</b>
Isoperla (-1)	Empididae (+2)	<b>HYDROZOAIRES (-182)</b>	Helodes (+1)	<b>Ephydriidae (-40)</b>	<b>COPEPODES (+5)</b>
<b>Planariidae (-85)</b>	Glossosoma (+1)	Limnephilinae (-2)	Nemoura (+1)	Gerridae (-1)	Heptagenia (+1)
Sialis (-2)	Nemoura (+1)	Micronecta (-2)	<b>Piscicolidae (+6)</b>	Gomphus (-1)	Hydraena (+1)
	Oulimnius (+1)	Planariidae (-2)	Planorbidae (+3)	<b>Haliplus (-5)</b>	Ithytrichia (+1)
	<b>Perla (+9)</b>	Rhithrogena (-1)	Radix (+1)	<b>Limnius (-30)</b>	<b>Micronecta (+7)</b>
	<b>Pisidium (+5)</b>	sF. Laccophilinae (-2)	<b>Riolus (+16)</b>	<b>Lymnaea (-9)</b>	<b>Ophiogomphus (+10)</b>
	<b>Psychodidae (+7)</b>		<b>sF. Colymbetinae (+5)</b>	Nepidae (-2)	OSTRACODES (+2)
	sF. Hydrophilinae (+2)		sF. Hydrophilinae (+1)	<b>Neureclepsis (-5)</b>	<b>Potamophilus (+5)</b>
	sF. Sphaeridiinae (+1)		<b>sF. Hydroporinae (+5)</b>	<b>Radix (-6)</b>	Protonemura (+1)
	<b>Tabanidae (+12)</b>		Stratiomyidae (+1)	Stagnicola (-1)	Psychodidae (+2)
			Tipulidae (+1)	Theodoxus (-3)	sF. Hydrophilinae (+2)
			Valvata (+3)		Stratiomyidae (+2)
					<b>Tabanidae (+5)</b>
					Tipulidae (+1)

StQuirin		Taillancourt		Turquestein	
A	B	A	B	A	B
Ecdyonurus (-1)	Empididae (+1)	Ancyclus (-1)	Aphelocheiridae (+1)	Ephemera (-1)	<b>Agapetus -Synagapetus (+5)</b>
Goera (-2)	Habrophlebia (+2)	Cloeon (-1)	<b>BRANCHIOPODES (+13)</b>	Habroleptoides (-1)	<b>Ancyclus (+10)</b>
Pisidium (-1)	<b>Lithax (+9)</b>	<b>Dugesiiidae (-3)</b>	<b>COPEPODES (+8)</b>	Isoperla (-2)	Brachycentrus (+3)
<b>Planariidae (-6)</b>	Philopotamus (+1)	<b>Ephemera (-8)</b>	Crambidae = Pyralidae (+1)	<b>Planariidae (-16)</b>	Ecdyonurus (+4)
	sF. Colymbetinae (+1)	Gerridae (-1)	Goera (+3)		<b>Empididae (+7)</b>
		Haliphus (-1)	Gomphus (+1)		<b>Helodes (+64)</b>
		Lype (-4)	Hydraena (+1)		<b>HYDRACARIENS (+58)</b>
		Macronychus (-1)	Leuctra (+1)		Lithax (+1)
			<b>Limnephilinae (+5)</b>		NEMATODES (+2)
			Lymnaea (+1)		Oulimnius (+1)
			<b>Micronecta (+6)</b>		Pisidium (+1)
			NEMATODES (+2)		<b>Psychodidae (+8)</b>
			<b>Onychogomphus (+6)</b>		Rhithrogena (+1)
			Orconectes (+1)		sF. Hydroporinae (+1)
			OSTRACODES (+1)		Silo (+3)
			<b>Physa (+8)</b>		
			Potamanthus (+1)		
			sF. Hydroporinae (+2)		

ValtAm		Ventron	
A	B	A	B
Agapetus - Synagapetus (-1)	Curculionidae (+1)	<b>Diura (-10)</b>	Athericidae (+2)
Amphinemura (-2)	Dictyogenus (+1)	Ephemerella (-4)	Glossosoma (+2)
Bythinella (-3)	GORDIACES (+1)	Ephydriidae (-1)	Hydraena (+3)
<b>Ecdyonurus (-8)</b>	Helophorus (+1)	<b>Planariidae (-19)</b>	Hydrocyphon (+1)
Epeorus (-1)	<b>Oulimnius (+18)</b>	sF. Laccophilinae (-1)	Lithax (+1)
Ephydriidae (-1)	Pisidium (+2)	Tipulidae (-1)	<b>Micrasema (+98)</b>
Plectrocnemia (-1)	<b>Psychodidae (+80)</b>	Veliidae (-1)	<b>Nemoura (+76)</b>
sF. Hydrophilinae (-4)			<b>Psychodidae (+20)</b>
<b>Siphonurus (-20)</b>			Ptilocolepus (+3)
			Sciomyzidae (+1)
			sF. Colymbetinae (+2)
			Siphonoperla (+2)
			Stactobiella (+3)
			Taeniopteryx (+4)

**Document 30** : Apparition/Disparition par taxons avec leur variation d'effectif pour chaque station entre les étés 2005 et 2006

## **Anx 3 : Indice de diversité de Shannon et Equitabilité de Pielou**

### **Indice de diversité de Shannon :**

L'indice de Shannon-Weaver est issu de la Théorie de l'information initiée par Shannon. Il mesure précisément la quantité moyenne d'information donnée par l'indication du taxon d'un individu de l'échantillon ; moyenne calculée sur la collection, à partir des proportions des taxons que l'on y a observées.

Il quantifie la diversité en combinant deux composantes : le nombre de taxons, et l'abondance relative de chacun d'entre eux, et est exprimé en bit par individu.

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left( \frac{N_i}{N} \times \log_2 \frac{N_i}{N} \right)$$

Avec  $S$  : Nombre total de taxons  
 $N$  : Effectif total  
 $N_i$  : Effectif de l'espèce  $i$

$H'$  est minimal (=0) si tous les individus du peuplement appartiennent à une seule et même espèce,  $H'$  est également minimal si, dans un peuplement chaque espèce est représentée par un seul individu, exceptée une espèce qui elle est représentée par tous les autres individus du peuplement. L'indice est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale sur toutes les espèces (Frontier, 1983).

Les valeurs d'indices communément rencontrés dans les échantillons ou les inventaires, quelque soit le groupe zoologique ou botanique étudié, sont compris entre moins de 1 bit par individu (0,5 est un indice de diversité très faible) et 4,5 bit environ. Ils peuvent exceptionnellement dépasser cette valeur pour des échantillons de grande taille de communautés complexes (plus de 200 taxons différents avec bon nombre de rares). (Frontier, 1998)

### **Equitabilité de Pielou**

L'indice de Shannon est souvent accompagné de l'indice d'équitabilité  $J$  de Pielou (1966), appelé également indice d'équirépartition (Blondel, 1979), qui représente le rapport de  $H'$  à l'indice maximal théorique dans le peuplement ( $H_{\max}$ ). Cet indice peut varier de 0 à 1, il est maximal quand les espèces ont des abondances identiques dans le peuplement et il est minimal quand une seule espèce domine tout le peuplement. Insensible à la richesse taxonomique, il est particulièrement utile pour comparer les dominances potentielles entre stations ou entre dates d'échantillonnage.

$$J = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Avec  $H'$  : Indice de diversité de Shannon  
 $S$  : Nombre total de taxons

Nom de la station	Indice de Shannon		Equitabilité de Pielou J	
	2005p	2006p	2005p	2006p
<b>Dabo</b>	2,455	2,347	0,6654	0,6601
<b>Turquestein</b>	2,645	2,854	0,6762	0,7685
<b>Saint-Quirin</b>	2,726	2,687	0,7731	0,7235
<b>Ventron</b>	2,296	2,497	0,6751	0,7205
<b>Valtin (Am)</b>	2,763	2,579	0,7834	0,699
<b>Chamagne</b>	2,258	2,035	0,6004	0,5444
<b>Rupt-a-N</b>	2,048	2	0,5289	0,5062
<b>Courcelles</b>	2,18	2,543	0,5464	0,6893
<b>Charency</b>	1,729	1,709	0,5085	0,4976

**Document 31** : Valeurs des Indices de Shannon et Equitabilité de Pielou pour les campagnes de printemps

Nom de la station	Indice de Shannon		Equitabilité de Pielou J	
	2005e	2006e	2005e	2006e
<b>Azerailles</b>	2,278	2,138	0,6019	0,5523
<b>Bainville</b>	1,676	2,008	0,4607	0,556
<b>Bannoncourt</b>	2,044	2,314	0,4914	0,541
<b>Bethincourt</b>	2,306	1,887	0,6434	0,4776
<b>Chamagne</b>	1,67	2,549	0,4699	0,6697
<b>Charency</b>	0,8171	1,439	0,2452	0,4318
<b>Courcelles</b>	2,86	2,305	0,7075	0,5653
<b>Dabo</b>	2,297	2,418	0,6689	0,6647
<b>Dieue</b>	2,184	2,772	0,5379	0,669
<b>RaonPlaine</b>	2,655	2,555	0,7102	0,6601
<b>SaulxRupt</b>	2,082	1,908	0,5501	0,4878
<b>StMihiel</b>	1,552	2,573	0,379	0,6235
<b>StQuirin</b>	2,346	2,201	0,677	0,6294
<b>Taillancourt</b>	2,026	2,688	0,5234	0,6648
<b>Turquestein</b>	2,216	2,868	0,6514	0,7723
<b>ValtAm</b>	2,076	2,715	0,5519	0,7311
<b>Ventron</b>	2,37	2,693	0,6612	0,7118

**Document 32** : Valeurs des Indices de Shannon et Equitabilité de Pielou pour les campagnes d'été

## Anx 4 : Oligochètes et Triclades

Effectifs des Oligochètes et des triclades du genre *Polycelis* par station et par campagne.

	<b>OLIGOCHETES</b>		<b>Polycelis</b>	
	<b>Effectifs</b>		<b>Effectifs</b>	
	2005p	2006p	2005p	2006p
<b>Dabo</b>	165	118	46	5
<b>Turquestein</b>	166	52	39	13
<b>Saint-Quirin</b>	153	93	3	0
<b>Ventron</b>	481	103	83	4
<b>Valtin (Am)</b>	797	154	304	0
<b>Chamagne</b>	386	51	0	0
<b>Rupt-a-N</b>	1069	9	2	0
<b>Courcelles</b>	1947	305	0	0
<b>Charency</b>	237	51	0	0
<b>Total</b>	<b>5401</b>	<b>936</b>	<b>477</b>	<b>22</b>

**Document 33** : Comparaison des effectifs d'oligochètes et de triclades du genre *Polycelis* par station au printemps

	<b>OLIGOCHETES</b>		<b>Dugesia</b>		<b>Polycelis</b>	
	<b>Effectifs</b>		<b>Effectifs</b>		<b>Effectifs</b>	
	2005e	2006e	2005e	2006e	2005e	2006e
<b>Azerailles</b>	546	26	2	0	9	0
<b>Bainville</b>	245	6	94	0	0	0
<b>Bannoncourt</b>	277	15	49	2	0	0
<b>Bethincourt</b>	417	349	0	10	0	0
<b>Chamagne</b>	148	11	1	5	0	0
<b>Charency</b>	434	36	18	0	0	0
<b>Courcelles</b>	94	173	0	0	0	0
<b>Dabo</b>	472	12	0	0	159	0
<b>Dieue</b>	130	172	35	0	0	0
<b>RaonPlaine</b>	454	22	0	0	85	0
<b>SaulxRupt</b>	149	21	0	0	0	0
<b>StMihiel</b>	446	191	13	0	0	0
<b>StQuirin</b>	96	20	0	0	0	0
<b>Taillancourt</b>	185	25	3	0	0	0
<b>Turquestein</b>	270	27	0	0	0	0
<b>ValtAm</b>	3750	188	0	0	514	2
<b>Ventron</b>	236	103	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>8349</b>	<b>1397</b>	<b>215</b>	<b>17</b>	<b>767</b>	<b>2</b>

**Document 34** : Comparaison des effectifs d'oligochètes, et de triclades des genres *Dugesia* et *Polycelis* par station en été.

## Anx 5 : Planches photos d'individus congelés ou alcoolisés

### A°) Comparaison individus congelés et alcoolisés :

- Chironomidae (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés le 31/03/2008 ; analysés le 07/11/2008)



Alcoolisé



Congelé

- Hydracariens (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés le 31/03/2008 ; analysés le 07/11/2008)



Alcoolisé



Congelé

- **Ceratopogonidae** (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés le 31/03/2008 ; analysés le 07/11/2008)



Alcoolisé



Congelé

- **Limnephilidae** (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés le 31/03/2008 ; analysés le 07/11/2008)



Alcoolisé



Congelé

- *Baetis sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés le 31/03/2008 ; analysés le 07/11/2008)

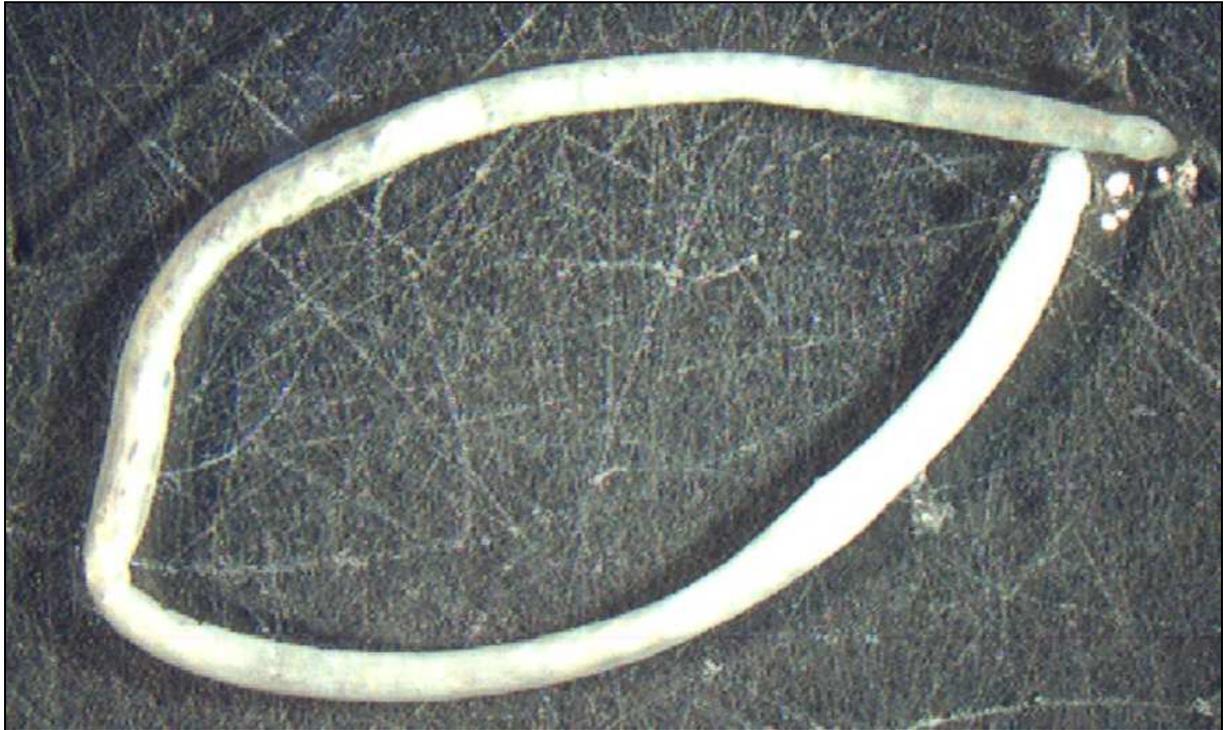


Alcoolisé



Congelé

**B°) Individus congelés :**



Oligochètes : *Haplotaxis sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)



Limoniidae. (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 07/11/2008)



*Baetis sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 10/11/2008)



Larvule de *Protonemura sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé et congelé le 31/03/2008 ; décongelé le 12/11/2008)



*Baetis sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevés et congelés le 31/03/2008 ; décongelés le 12/11/2008)

C°) **Individus alcoolisés :**



*Elodes sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)



Leptophlebiidae (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)



*Micrasema sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)



*Polycelis sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)



*Rythrogena sp.* (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)



Limoniidae (Petite Meurthe à Ban-sur-Meurthe ; prélevé le 31/03/2008 ; analysé le 7/11/2008)