



HAL
open science

Protocole standardisé d'échantillonnage et de conservation du phytoplancton en grands cours d'eau applicable aux réseaux de mesure DCE. Protocole expérimental - Version 1

Christophe Laplace-Treyture, Christian Chauvin, M. Menay, Alain Dutartre,
L. Moreau

► To cite this version:

Christophe Laplace-Treyture, Christian Chauvin, M. Menay, Alain Dutartre, L. Moreau. Protocole standardisé d'échantillonnage et de conservation du phytoplancton en grands cours d'eau applicable aux réseaux de mesure DCE. Protocole expérimental - Version 1. [Rapport de recherche] irstea. 2010, pp.9. hal-02603602

HAL Id: hal-02603602

<https://hal.inrae.fr/hal-02603602>

Submitted on 16 May 2020


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.

Partenariat 2010

**Qualité des masses d'eau
(cours d'eau, plans d'eau, masses d'eau de transition)**

14 - Développement et optimisation
des méthodes de bioindication pour les cours d'eau



**Protocole standardisé
d'échantillonnage et de
conservation du
phytoplancton en grands
cours d'eau applicable aux
réseaux de mesure DCE**

Version 2

Rapport final

*Christophe Laplace-Treyture, Christian Chauvin,
Maud Menay, Alain Dutartre - Cemagref*

Laura Moreau - DREAL Lorraine

Décembre 2010

Le contexte de programmation et de réalisation

Le phytoplancton est un des éléments biologiques qui doivent être considérés, au sens de la DCE, pour l'évaluation des masses d'eau de la catégorie "grands cours d'eau". La réflexion sur son intégration de façon formelle et standardisée dans les réseaux de mesure n'a débuté qu'en 2010.

Il s'est d'abord agi de recenser les protocoles employés par les opérateurs dans les différents bassins, les programmes de mesure suivis, la forme des données produites. Cette première étape, menée par le Cemagref fin 2009, a débouché sur une première proposition de protocole au groupe national de pilotage DCE-ESC en janvier 2010. L'objectif de ce protocole était de prendre en compte les pratiques déjà effectives et de les harmoniser dans un cadre optimal de pertinence et de faisabilité.

A l'heure actuelle, nous ne disposons d'aucune méthode d'évaluation du phytoplancton en grands cours d'eau validée à l'échelle nationale pour l'utilisation en réseau DCE, ni pour l'échantillonnage, ni pour l'exploitation des résultats en évaluation de l'état écologique (indice, classification).

Le présent protocole, élaboré sur la base des discussions du groupe DCE-ESC et du premier retour d'expérience du programme de mesure 2010, doit permettre d'obtenir un premier jeu de données homogènes, qui sera utilisé pour valider le protocole d'échantillonnage lui-même et initier les premiers traitements vers l'élaboration de métriques ou d'un indice d'évaluation d'état. Cette démarche est liée à l'action Aquaref II-A-01 du programme 2010, visant à mettre au point un projet de norme française sur l'échantillonnage du phytoplancton. Elle en constitue une première phase, et s'est substitué à cette action "normalisation" en 2010, afin d'optimiser cette action en répondant à la demande contextuelle formulée par le groupe DCE-ESC en 2010.

Les auteurs

Christophe Laplace-Treytore christophe.laplace-treytore@cemagref.fr ¹

Christian Chauvin christian.chauvin@cemagref.fr ¹

Maud Menay maud.menay@cemagref.fr ¹

Laura Moreau laura.moreau@developpement-durable.gouv.fr ²

Alain Dutartre alain.dutartre@cemagref.fr ¹

¹ Cemagref – UR Réseau, Epuration et Qualité des Eaux. 50 avenue de Verdun 33612 CESTAS

² DREAL Lorraine - Pôle Connaissance des Eaux Superficielles - Laboratoire d'Hydrobiologie
2, rue Augustin Fresnel - 57071 METZ CEDEX 03

Les correspondants

Onema : Yorick Reyjol, DAST, yorick.reyjol@onema.fr

Référence du document :

Cemagref : Yves Souchon, Pôle Onema-Cemagref Lyon, yves.souchon@cemagref.fr

Référence du document : Protocole phytoplancton grands cours d'eau V2

| | |
|----------------------------------|--|
| Droits d'usage : | <i>accès libre</i> |
| Couverture géographique : | <i>Nationale</i> |
| Niveau géographique : | <i>National</i> |
| Niveau de lecture : | <i>Professionnels (Agences de l'eau, DREAL, bureaux d'étude)</i> |
| Nature de la ressource : | <i>Document</i> |

*Protocole standardisé d'échantillonnage et de conservation du phytoplancton en grands cours d'eau
applicable aux réseaux de mesure DCE*

Version 2
Rapport final

Christophe Laplace-Treytore, Christian Chauvin, Maud Menay, Laura Moreau, Alain Dutartre

SOMMAIRE

| | |
|---|------------------------------------|
| Résumé | 4 |
| Abstracts | 5 |
| Synthèse pour l'action opérationnelle | Erreur ! Signet non défini. |
| Introduction | 6 |
| Principe méthodologique du protocole..... | 6 |
| 1 PERIODES ET CAMPAGNES DE PRELEVEMENT | 7 |
| 2 POINT DE PRELEVEMENT | 7 |
| 3 PRELEVEMENTS ET PARAMETRES MESURES | 8 |
| 3.1 Prélèvement..... | 8 |
| 3.2 Echantillon pour l'analyse du phytoplancton..... | 9 |
| 3.2.1 Conditionnement de l'échantillon phytoplanctonique..... | 9 |
| 3.2.2 Fixation de l'échantillon phytoplanctonique | 9 |
| 3.3 Echantillon pour la mesure de chlorophylle-a..... | 10 |
| 3.4 Mesures environnementales complémentaires à l'échantillonnage de phytoplancton | 10 |
| 4 SAISIE DES DONNEES..... | 11 |

Protocole standardisé d'échantillonnage et de conservation du phytoplancton en grands cours d'eau applicable aux réseaux de mesure DCE

Version 2
Rapport final

Christophe Laplace-Treyture, Christian Chauvin, Maud Menay, Laura Moreau, Alain Dutartre

Résumé

Ce document propose un cadre pour l'échantillonnage et la conservation des communautés phytoplanctoniques en grands cours d'eau et canaux dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Il propose aussi un cadre d'acquisition des éléments physico-chimiques qu'il serait nécessaire d'y associer. Ce travail est le fruit de la collaboration entre l'unité de Recherche Réseaux, Epuration et Qualité des Eaux du Cemagref de Bordeaux et la DREAL Lorraine.

Ce protocole permet une uniformisation de la collecte des données afin d'assurer la bancarisation et le traitement des informations sur le phytoplancton dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE sur les cours d'eau.

Ainsi il définit que 6 opérations de contrôle (campagnes de prélèvements) sont à répartir sur la période dite estivale, soit, *a minima* de mai à octobre, et à raison d'une opération par mois. Chaque station est caractérisée par un seul point de prélèvement situé idéalement au niveau d'un pont dans la veine principale de courant.

Le point fait l'objet d'un seul prélèvement réalisé à l'aide d'une bouteille à prélèvement dans le premier mètre de la colonne d'eau. Une aliquote de ce prélèvement constitue l'échantillon destiné à l'analyse du phytoplancton et une autre l'échantillon destiné à l'analyse de la chlorophylle. Les précautions de prélèvement, de fixation et de conservation de ces deux échantillons sont détaillées.

Des mesures physico-chimiques d'accompagnement du prélèvement de phytoplancton sont listées et comprennent le pH, la conductivité, la transparence au disque de Secchi, la température et l'oxygène dissous.

Afin de permettre l'utilisation ultérieure des données acquises, la saisie des données brutes doit être réalisée sous forme informatique. Pour cela il est possible d'utiliser les outils proposés en annexe du protocole.

Mots clés (thématique et géographique)

GRAND COURS D'EAU ; CANAL ; PROTOCOLE ; ACQUISITION ; DONNEE ; PHYTOPLANCTON ; CHLOROPHYLLE ; PHYSICO-CHIMIE ; DCE

Standardized protocol of sampling and conservation of phytoplankton in large rivers applicable to the WFD measurement networks

Version 2
Final Report

Christophe Laplace-Trepture, Christian Chauvin, Maud Menay, Laura Moreau, Alain Dutartre

Abstract

This document proposes a protocol for sampling and conservation of phytoplankton communities in large rivers and channels in the setting of the Water Framework Directive (WFD). It also proposes a setting of acquirement of physico-chemical parameters that it would be necessary to associate there. This work is the result of the collaboration between the Research unit Networks, Water treatment and Water Quality of the Cemagref of Bordeaux and the DREAL of Lorraine.

This protocol permits a standardization of data collection in order to assure the data storage and the treatment of the information on phytoplankton in the application of WFD on rivers.

So it defines that 6 operations of control (sampling campaigns) are distributed during the summer period, either, has minima between May and October, and at the rate of an operation per month. Every station is characterized by only one sampling point situated ideally at a bridge in the main vein of current.

The point is sampled once per campaign with the help of a sampling bottle in the first meter of the water column. An aliquot of this sample constitutes the sample destined to the phytoplankton analysis and another aliquot is destined to the chlorophyll analysis. The precautions for sampling, fixing and conservation of these two samples are retailed.

Accompaniment physico-chemical measurements of the phytoplankton sample are listed and comprise the pH, the conductivity, the transparency with the Secchi disk, the temperature and the dissolved oxygen.

In order to permit the ulterior use of the acquired data, the storage of the data must be achieved under informatics documents. For that, it is possible to use the tools proposed in annex of the protocol.

Key words (thematic and geographical area)

LARGE RIVER; CANAL; PROTOCOL; ACQUISITION; DATA; PHYTOPLANKTON; CHLOROPHYLL; PHYSICO-CHEMISTRY; WFD

Protocole standardisé d'échantillonnage et de conservation du phytoplancton en grands cours d'eau applicable aux réseaux de mesure DCE

Version 2

Christophe Laplace-Treyture, Christian Chauvin, Maud Menay, Laura Moreau, Alain Dutartre

Introduction

Ce document vise à proposer un cadre pour l'échantillonnage et la conservation des communautés phytoplanctoniques **en grands cours d'eau et canaux** dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Il propose aussi un cadre d'acquisition des éléments physico-chimiques qu'il serait nécessaire d'y associer.

Le domaine d'application proposé pour ce protocole s'étend à **l'ensemble des grands cours d'eau français ainsi que les canaux pour lesquels l'étude du phytoplancton est pertinente**.

Une uniformisation de la collecte des données est indispensable afin d'assurer la bancarisation et le traitement des informations sur le phytoplancton dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE sur les cours d'eau et la mise en place des Réseaux de Surveillance (RCS, RCO) et de Référence (RR). L'objectif premier est d'obtenir une base de données cohérente à l'échelon national contenant des données comparables pour ensuite être en mesure de développer un indice planctonique comparable à l'IPLAC (Indice Planctonique LACustre) sur les cours d'eau français.

Ce travail est le fruit de la collaboration entre l'unité de Recherche Réseaux, Epuration et Qualité des Eaux du Cemagref de Bordeaux et la DREAL Lorraine.

Principe méthodologique du protocole

Ce protocole a été élaboré dans le contexte de l'harmonisation des méthodes d'échantillonnage du phytoplancton en cours d'eau, mais il doit également permettre d'obtenir les données indispensables à la mise au point d'un indice national basé sur cet élément biologique en grands cours d'eau. Pour cette raison, il est indispensable, au moins dans un premier temps, de disposer dans le même temps d'analyses des peuplements phytoplanctoniques et des teneurs en chlorophylles associées. La chlorophylle est en effet le paramètre d'estimation de la biomasse, qui a été inter-étalonné en plans d'eau et qui est susceptible de l'être en grands cours d'eau pour l'élément "phytoplancton".

Ce protocole prévoit donc un échantillonnage conjoint du *phytoplancton* (techniques d'analyses biologiques) et de la *chlorophylle* (techniques d'analyses chimiques), ce qui implique de mettre en œuvre au mieux les compétences adaptées à ces deux types d'approche.

1 PERIODES ET CAMPAGNES DE PRELEVEMENT

Le choix des périodes de prélèvement est le premier élément crucial dans l'analyse des communautés phytoplanctoniques. Leur mauvais positionnement dans l'année entraîne des biais (manque de certains cortèges algaux) dans l'interprétation des données collectées.

Ainsi, les opérations de contrôle (campagnes de prélèvements) doivent couvrir la période dite estivale, soit être réparties *a minima* de **mai à octobre**. Il est recommandé de prévoir un opération par mois, soit **6 opérations de contrôle par an**.

En tout état de causes, **un minimum de 4 opérations de contrôle** doit être fait sur cette même période (arrêté « surveillance » du 25 janvier 2010). Elles seront alors positionnées afin de couvrir l'ensemble de la période.

Un intervalle de **2 semaines minimum** doit être respecté entre chaque opération de contrôle afin de bien couvrir l'ensemble de la période de végétation et de ne pas disposer de prélèvements trop rapprochés. Toutes les opérations de contrôle doivent être effectuées au cours du même cycle annuel pour ne pas fausser l'homogénéité et la représentativité des données collectées.

Dans le cas où ces consignes ne peuvent pas être respectées, en raison d'imprévus constatés en cours d'échantillonnage, la date de l'opération de contrôle posant problème doit être clairement mentionnée afin qu'elle soit facilement identifiée comme telle. En cas de **forte hydrologie**, l'opération de contrôle ne doit pas être réalisée mais doit être reportée à une date ultérieure. Dans ce cas un report minimum d'une semaine est préconisé.

Pour chaque opération de contrôle, une fiche générale « opération de contrôle », donnant les principaux éléments signalétiques généraux de la campagne (nom du cours d'eau, de la station, identité des préleveurs, dates/heures, conditions météorologiques, le cas échéant variations hydrologiques susceptibles d'influer sur les mesures et échantillonnages, bloom algal, points particuliers à signaler, nature des échantillonnages réalisés ...) doit être remplie. [Voir exemple de fiche en Annexe 1.](#)

2 POINT DE PRELEVEMENT

Un seul point de prélèvement est requis, **localisé à la station de mesure** ou à proximité. Il est matérialisé par un prélèvement en un point unique du cours d'eau, dans la **veine de courant principal** (Autreaux-Noppe, 2000). Le prélèvement **depuis un pont sera privilégié** dans la mesure du possible car cela permet d'accéder plus aisément aux veines de courant. En l'absence de pont, la station sera échantillonnée depuis **une embarcation** ou tout autre moyen permettant d'atteindre le courant principal.

Une carte topographique au 1/25 000^{ème} peut faciliter le repérage de la station et du point de prélèvement.

Une fois fixée, la position de ce point de prélèvement doit être relevée (de préférence à l'aide d'un récepteur GPS, dans le système de coordonnées règlementairement en vigueur) afin de pouvoir être suivie dans l'historique des données et retrouvée à chaque opération de contrôle. Un document reprenant le descriptif de ce point de contrôle (voir en [Annexe 2](#) un exemple de fiche descriptive) peut être élaboré.

3 PRELEVEMENTS ET PARAMETRES MESURES

3.1 Prélèvement

Comme annoncé dans le paragraphe précédent, **un prélèvement en un point unique** doit être réalisé sur le point de prélèvement, lors de chaque opération de contrôle.

Il s'agit de **prélever environ deux litres d'eau** au moyen d'une **bouteille à prélèvement** à clapet ou à messenger dans le **premier mètre de la colonne d'eau** en s'affranchissant des particules flottant en surface. Cette technique s'applique aussi au prélèvement depuis une embarcation.

Cas particuliers :

Dans l'impossibilité d'accéder à la station depuis un pont ou à l'aide d'une embarcation, le prélèvement peut être réalisé, en dernier ressort :

- depuis le bord, dans la veine principale de courant, à l'aide d'une perche.

Dans ce cas le prélèvement doit faire l'objet d'une vigilance particulière afin d'éviter de racler les rives et de prélever dans les zones de végétation de bordure tout en évitant les particules flottant en surface.

- en amont d'un radier praticable à pieds, dans le cas de cours d'eau présentant un radier guéable situé à l'aval de la zone plus lente et profonde à échantillonner.

Dans ce cas il faudra s'attacher à prélever dans une zone présentant environ 1 mètre d'eau, dans la zone la plus en amont possible du radier, pour ne pas racler le fond (périphyton) ni prélever des éléments de phytobenthos mis en suspension par l'augmentation du courant sur le radier, en évitant les zones de végétation et les particules flottant en surface.

Dans tous les cas, le site d'échantillonnage sera situé à une distance suffisante de la berge pour s'affranchir des contaminations par les algues périphytiques et par les efflorescences accumulées sur les berges par le courant et les vents.

Avant utilisation, il faut s'assurer que le matériel de prélèvement est « propre ». Pour cela, nettoyer et rincer la bouteille de prélèvement et le flaconnage avec de l'eau du cours d'eau.

Une fois le prélèvement réalisé, il est impératif de bien veiller à ne pas le conserver sous une insolation ou une pluie directe pouvant modifier la qualité de l'échantillon.

3.2 Echantillon pour l'analyse du phytoplancton

3.2.1 CONDITIONNEMENT DE L'ÉCHANTILLON PHYTOPLANCTONIQUE

Une aliquote de l'échantillon contenu dans la bouteille de prélèvement est récupérée, immédiatement après une homogénéisation du contenu de la bouteille. Elle est conservée dans un flacon à large col en **verre ou en polypropylène** (PP) transparent et propre d'une contenance de 500 ml pour analyse du phytoplancton. Le polyéthylène (PE) est déconseillé car il absorbe l'iode contenu dans le fixatif employé (Lugol). Les flacons colorés sont à éviter car ils masquent la couleur de la fixation au Lugol. Le remplissage du flacon ne doit pas se faire jusqu'en haut pour permettre une bonne homogénéisation de l'échantillon avant la prise de sous-échantillon pour comptage en laboratoire.

Une fiche « mesures et échantillonnages » spécifique à chaque opération de contrôle (station/date) permettra de récapituler le détail de l'échantillonnage, ainsi que la nomenclature utilisée pour identifier l'échantillon et de consigner les résultats des mesures physico-chimiques réalisées sur le terrain ; [voir Annexe 1](#).

Suggestion / Conseil

En complément de cet échantillonnage, il est possible de faire un prélèvement au filet (30 µm de maille) au point de prélèvement afin de disposer de suffisamment de matériel pour faciliter certaines identifications taxinomiques. Le concentré est récupéré dans un flacon et fixé au lugol, au glutaraldéhyde ou au formol (voir paragraphe 3.2.2 pour les concentrations). Il s'agit là, d'apporter une vision complémentaire de la diversité des espèces présentes (approche qualitative).

3.2.2 FIXATION DE L'ÉCHANTILLON PHYTOPLANCTONIQUE

L'échantillon de phytoplancton est fixé sur le **terrain** à l'aide d'une solution de Lugol alcalin du commerce ou préparée (voir [Annexe 3](#)) afin d'obtenir une concentration finale d'environ 0,5 % dans l'échantillon, soit **environ 8 gouttes pour 100 ml** (ou 2,5 ml pour un flacon de 500 ml). Cette concentration finale peut s'apprécier à la couleur brun clair, orangée (whisky) que doit avoir l'échantillon. En fonction du type de milieu (acidité de l'eau par exemple), la couleur orangée peut être obtenue avec un nombre nettement supérieur de gouttes.

Une décoloration peut se produire avec le temps et/ou la lumière. Dans ce cas, on rajoutera quelques gouttes de Lugol pour maintenir la fixation de l'échantillon. Le volume de conservateur ajouté doit être noté car il participe au volume final de l'échantillon.

L'échantillon ainsi fixé peut être conservé au maximum **3 semaines** à l'obscurité avant analyse ou 12 mois s'il est maintenu au froid et à l'obscurité entre 1 et 4 °C.

Pour une conservation de plus **longue durée** une fixation complémentaire s'impose : glutaraldéhyde ou formol. Ce dernier présente l'inconvénient de décolorer les cellules et d'entraîner la perte des flagelles de cellules fragiles avec le temps.

L'utilisation du **glutaraldéhyde** est préférable : elle se fait à une concentration finale dans l'échantillon de 0,5 %. L'utilisation du **formol** doit se faire à une concentration finale de 5 % dans l'échantillon. Voir détail des préparations des solutions mères en [Annexe 3](#).



Ces deux produits sont à manipuler avec précaution car dangereux pour la santé et l'environnement : Le formol est toxique par inhalation, par ingestion et par contact avec la peau. Il est classé depuis 2004 dans les substances cancérigènes (toxique de catégorie C). Le glutaraldéhyde est toxique par inhalation et par ingestion et provoque des brûlures.

L'analyse ultérieure du phytoplancton en laboratoire (détermination et comptage) se fait conformément à la norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (NF EN 15204, décembre 2006) correspondant à la méthode d'Utermöhl (1958) adoptée au niveau européen et suivant les spécifications particulières décrites au chapitre 5 du protocole standard d'étude du phytoplancton en plan d'eau (Laplace-Treytoure et al., 2009).

3.3 Echantillon pour la mesure de chlorophylle-a

Une deuxième aliquote de l'échantillon contenu dans la bouteille de prélèvement est récupérée, après une homogénéisation du contenu de la bouteille, pour analyse des pigments chlorophylliens au laboratoire. **Un litre d'eau** stocké dans un flacon propre en polyéthylène (PE) est en général nécessaire et suffisant quel que soit le niveau de trophie du cours d'eau.



Dans le cas où cet échantillon ne peut être réalisé sur le prélèvement fait à la bouteille à prélèvement, l'échantillon devra être réalisé sur **un autre prélèvement fait le même jour** afin de permettre son utilisation avec l'échantillon de phytoplancton.

Lorsque cela est possible, il est conseillé de procéder à la filtration de l'échantillon sur le terrain, afin de garantir la conservation des pigments avant l'analyse. Voir le protocole de filtration et de conditionnement détaillé en Annexe 4.

A défaut d'une filtration sur le terrain, l'échantillon pour analyse de la chlorophylle est stocké dans un flacon stérile, à usage unique, et conservé à l'abri de la lumière dans une glacière à environ 4°C jusqu'au transfert au laboratoire d'analyse.

La conservation, le traitement et l'analyse de l'échantillon pour le dosage de la chlorophylle a devront être conforme à la norme NF T90-117 ou équivalente.

3.4 Mesures environnementales complémentaires à l'échantillonnage de phytoplancton

A la différence d'autres éléments biologiques en cours d'eau, le peuplement de phytoplancton est étroitement lié au volume d'eau dans lequel il se développe, et avec lequel il se déplace. Pour l'exploitation des résultats de l'analyse biologique sur cet élément et sa mise en relation avec les paramètres de qualité physico-chimique de la masse d'eau, il est donc nécessaire de disposer de données mesurées sur le même volume d'eau.

Il est par conséquent **conseillé que l'échantillonnage du phytoplancton soit accompagné des mesures physico-chimiques** nécessaires, ou au minimum que l'échantillonnage du phytoplancton et celui de la masse d'eau pour analyses physico-chimique soient réalisés de façon concomitante (même journée).

Les mesures de physico-chimie de terrain complémentaires à l'analyse du phytoplancton comprennent lors de chaque opération de contrôle :

- la **transparence**, évaluée au moyen du disque de Secchi (EN ISO 7027, 2000) ; elle sera mesurée dans la zone la plus profonde du cours d'eau et/ou la veine de courant principale ;
- des **mesures physico-chimiques**, la température, le pH, la conductivité et l'oxygène dissous (mg/l et %). Ces paramètres pourront être mesurés sur l'aliquote destinée à l'analyse de la chlorophylle qui aura été préalablement homogénéisé (avec les sondes physico-chimiques par exemple).

L'ensemble des données sera consigné sur un document type identique pour chaque point de prélèvement de cours d'eau; [voir document informatif type en Annexe 1](#).

4 SAISIE DES DONNEES

Afin de permettre l'utilisation ultérieure des données acquises sur le compartiment phytoplanctonique des cours d'eau, la saisie des données brutes minimales doit être réalisée **sous forme informatique** et comporter les éléments suivants :

- un tableau ou document reprenant les **données générales de la station de mesure d'un cours d'eau et du point de contrôle** (caractéristiques, localisation GPS,...) – [Annexe 2](#) ;
- un document reprenant le détail **des opérations de contrôle** avec le nom du cours d'eau, nom de la station, les dates, les conditions météorologiques observées, le nombre et le type de paramètres mesurés et d'échantillons prélevés - [Annexe 1](#) ;
- le cas échéant, un tableau récapitulatif des **valeurs de physico-chimie par campagne** : transparence au disque de Secchi, température, pH, conductivité, oxygène dissous, avec les heures de mesures - [Annexe 1](#) ;
- un tableau contenant le **résultat de l'observation** (nom de l'opérateur, date,...) et **du comptage phytoplanctonique** : codes Sandre des taxons, codes 6 lettres des taxons, noms des taxons avec leurs noms d'auteurs, nombres de cellules comptées ainsi que les biovolumes des taxons identifiés. L'utilisation de l'outil de comptage PHYTOBS est vivement conseillée pour ce rendu (cf. Laplace-Treytore et al., 2009, logiciel mis à disposition sur le site internet dédié <https://www.hydrobio-dce.cemagref.fr>).

N.B. : L'échantillon de phytoplancton doit être conservé pour une **durée minimale de 2 ans** afin de permettre d'éventuelles vérifications d'identifications. Si sa fixation a été faite dans un premier temps par du Lugol une deuxième fixation au glutaraldéhyde ou au formol est impérative pour permettre la conservation pendant 2 ans. Pour faciliter ces vérifications, des photographies des différents taxons rencontrés dans l'échantillon peuvent être prises.

BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR, 1999. Norme NF T 90-117, décembre 1999. Qualité de l'eau - Dosage de la chlorophylle a et d'un indice phéopigments. Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire. 14 p.
- AFNOR, 2000. Norme NF EN ISO 7027, mars 2000. Qualité de l'eau - Détermination de la turbidité, 25 p.
- AFNOR, 2006. Norme NF EN 15204, décembre 2006. Qualité de l'eau, Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl), 39 p.
- AFNOR, 1999. Norme NF T 90-117, décembre 1999. Qualité de l'eau, Dosage de la chlorophylle a et d'un indice phéopigments - Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire, 11 p.
- Autreaux-Noppe K., 2000. Contribution méthodologique à la mise en place d'un réseau de surveillance des peuplements phytoplanctoniques des eaux courantes. Rapport de thèse Université des Sciences et Technologies de Lille – UFR de Biologie. 147 p + annexes.
- JORF, 2010. Arrêté du 25 janvier 2010 établissant le programme de surveillance de l'état des eaux en application de l'article R. 212-22 du code de l'environnement. Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de la Mer, 33 p.
- Laplace-Treytore C., Barbe J., Dutartre A., Druart J.C., Rimet F., Anneville O., 2009. Protocole standardisé d'échantillonnage, de conservation, d'observation et de dénombrement du phytoplancton en plan d'eau pour la mise en œuvre de la DCE – version 3.3.1. *Cemagref*, Groupement de Bordeaux, Unité de Recherche Réseaux, Epuration et Qualité des Eaux. Rapport, 44 p.
- Utermöhl H., 1958. Zur vervollkommnung der quantitative phytoplanktonmethodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, vol. 9, 1-38.

ANNEXES

Annexe 1 : Document type de relevé d'opération de contrôle (informatif).

Ce document peut subir des modifications,

Voir les mises à jour sur le site Internet dédié (<https://www.hydrobio-dce.cemagref.fr/>).

| | | | |
|-------------------------|--|----------------|--|
| Cours d'eau : | | Date : | |
| Nom station : | | Code station : | |
| Organisme / opérateur : | | Réf. dossier : | |

POINT DE PRELEVEMENT

| | | | |
|----------------------------------|--|------|--------------|
| Coordonnées du point : | relevées sur : <input type="checkbox"/> GPS <input type="checkbox"/> carte IGN | | |
| Lambert 93 (système français) : | (en m) X : | Y : | altitude : m |
| WGS 84 (système international) : | données GPS (en dms) N : | __ : | altitude : m |
| Conditions d'observation : | hydrologie : <input type="checkbox"/> pas d'eau <input type="checkbox"/> trous d'eau, flaques <input type="checkbox"/> basses eaux <input type="checkbox"/> moyennes eaux <input type="checkbox"/> hautes eaux <input type="checkbox"/> crue débordante <input type="checkbox"/> inconnu | | |
| | météo : <input type="checkbox"/> temps sec ensoleillé <input type="checkbox"/> temps sec faiblement nuageux <input type="checkbox"/> temps sec fortement nuageux <input type="checkbox"/> temps humide <input type="checkbox"/> pluie fine <input type="checkbox"/> orage, pluie forte <input type="checkbox"/> neige <input type="checkbox"/> gel <input type="checkbox"/> conditions crépusculaires | | |
| | fond visible : <input type="checkbox"/> bonne visibilité : substrat identifiables sans erreur <input type="checkbox"/> visibilité moyenne : doute sur l'identification de certains substrats ou visibilité réduite <input type="checkbox"/> visibilité faible : fonds justes discernables ou visibles sur une faible part de la zone concernée <input type="checkbox"/> fonds non visibles <input type="checkbox"/> inconnu | | |
| | Bloom algal : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non | | |
| Remarques : | | | |

PRELEVEMENTS

| | | | |
|--------------------------------------|--|--|---|
| Heure de début de relevé : | | Heure de fin de relevé : | |
| Prélèvement : | <input type="checkbox"/> depuis un pont <input type="checkbox"/> depuis une embarcation <input type="checkbox"/> depuis la berge | | |
| Prélèvements réalisés : | <input type="checkbox"/> phytoplancton <input type="checkbox"/> chlorophylle <input type="checkbox"/> eau | Matériel employé : | <input type="checkbox"/> bouteille Van Dorn <input type="checkbox"/> bouteille à messenger <input type="checkbox"/> perche + flacon |
| Volume filtré pour la chlorophylle : | ml | Volume de Lugol ajouté pour le phytoplancton : | ml |

PHYSICO-CHIMIE

| Heure | Secchi (m) | Temp (°C) | pH | Conductivité à 25°C ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) | O ₂ (%) | O ₂ (mg/l) |
|---------------------------|------------|-----------|----|--|--------------------|-----------------------|
| | | | | | | |
| Remarques, observations : | | | | | | |

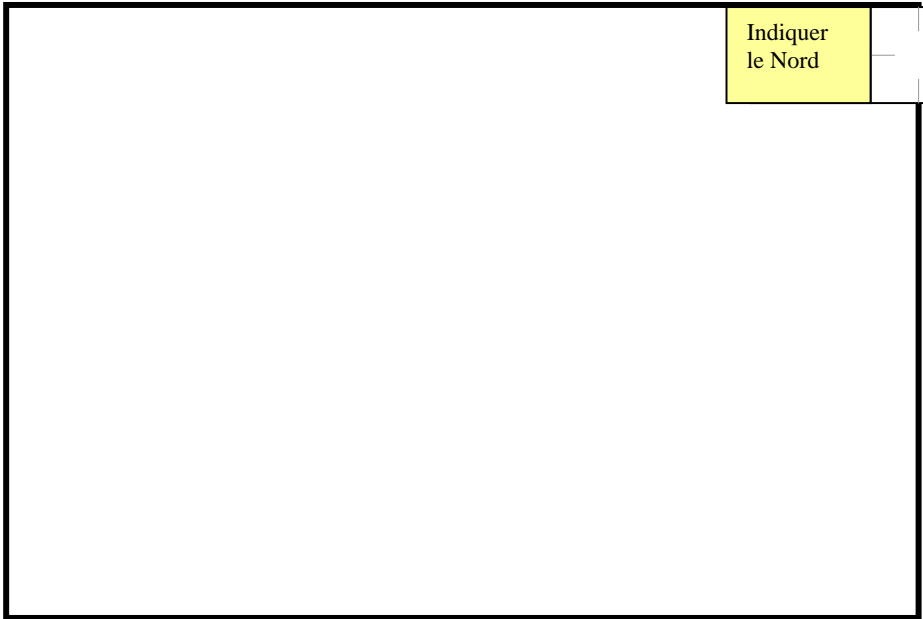

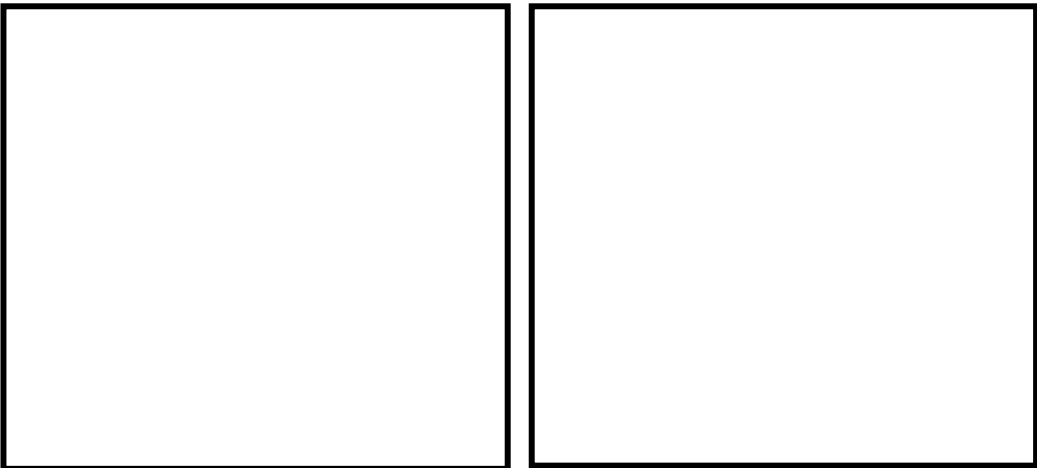
Annexe 2 : Document type de caractérisation de la station de mesure d'un cours d'eau et du point de contrôle (informatif).

Ce document peut subir des modifications,

voir les mises à jour sur le site Internet dédié (<https://www.hydrobio-dce.cemagref.fr/>).

| | | | |
|--------------------------------|--|-----------------------|--|
| Cours d'eau : | | Date : | |
| Nom station : | | Code station : | |
| Organisme / opérateur : | | Réf. dossier : | |

LOCALISATION POINT DE PRELEVEMENT

| | | | |
|--|--|---------------------------------------|---|
| Commune : | | | |
| HER : | : | Superficie du bassin versant : | km ² |
| Coordonnées du point | relevées sur : <input type="checkbox"/> GPS <input type="checkbox"/> carte IGN | | |
| Lambert 93 (système français) | (en m) X : | Y : | altitude : m |
| WGS 84 (système international) | données GPS (en dms) N : | __ : | altitude : m |
| Carte : (extrait IGN 1/25 000ème) |  | | Indiquer le Nord |
| | | |  |
| Photos du site : (indiquer l'angle de prise de vue sur la carte) |  | | |
| Remarques et observations : | | | |

Annexe 3 : Préparation des fixateurs.

SOLUTIONS DE FIXATION DES ECHANTILLONS

1- La solution iodo-iodurée de Lugol alcalin

- Iode en paillettes 10 g,
- Iodure de potassium 20 g,
- Acétate de sodium 20 g,
- Eau distillée 200 ml.

Broyer au mortier l'iode (I_2) et l'iodure de potassium (IK) avec un peu d'eau. Compléter en eau distillée. Agiter jusqu'à complète dissolution.

Puis ajouter 20 g d'acétate de sodium ($CH_3COO-Na$). Lorsque la solution est proche de la saturation, il convient d'éliminer tout précipité éventuel en faisant décanter la solution avant utilisation.

UTILISATION : ajouter à l'eau de l'échantillon pour une concentration finale de 0,5%, soit 8 gouttes pour 100ml afin d'obtenir une couleur brun clair (whisky). Si perte de cette couleur dans le temps alors ajouter quelques gouttes de plus.

IDENTIFICATION DES DANGERS : Produit non considéré comme dangereux selon la Directive 67/548/CEE.

2- La solution de glutaraldéhyde

- glutaraldéhyde à 50 %,
- cacodylate de sodium.

Tamponner la solution de glutaraldéhyde avec le cacodylate de sodium à pH neutre.

UTILISATION : ajouter à l'eau de l'échantillon pour une concentration finale de 0,5 %

IDENTIFICATION DES DANGERS : Nocif en cas d'ingestion. Toxique par inhalation. Provoque des brûlures. Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et par contact avec la peau. Très toxique pour les organismes aquatiques.

3- La solution de formol

Solution de formol du commerce à 37 % de formaldéhyde.

UTILISATION : ajouter à l'eau de l'échantillon pour une concentration finale de 5 % (en volume).

IDENTIFICATION DES DANGERS : Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Provoque des brûlures. Toxique: danger d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Effet cancérigène suspecté - preuves insuffisantes. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.

Annexe 4 :

Méthode de filtration et de conditionnement *in situ* de l'échantillon pour l'analyse de la Chlorophylle-a

FILTRATION *IN SITU* DE L'ÉCHANTILLON POUR LA CHLOROPHYLLE-A

Dans le cas où la filtration peut être réalisée sur place, le protocole de filtration et de conditionnement est le suivant :

La filtration est effectuée à l'aide d'une pompe à vide (manuelle ou électrique), après homogénéisation de l'échantillon, sur un filtre en fibre de verre ou en acétate de cellulose d'une porosité de 0,7 µm (type GF/F de Whatman). Le volume filtrable dépend de la nature et de la quantité de matières en suspension présentes dans l'eau. Le volume filtré doit impérativement être mesuré et noté, avec une précision donnée par une éprouvette graduée incassable manipulée sur le terrain. On filtre alors le maximum de volume d'échantillon (maximum 1000 ml), jusqu'à colmatage du filtre ou jusqu'à une durée maximale de 10 minutes, avec une dépression nécessaire à la filtration la plus faible possible. Ce protocole correspond aux prescriptions de la norme NF T 90-117 1999.



Il ne faut en aucun cas toucher les filtres avec les doigts mais utiliser des pinces pour les manipuler (risque de détérioration par l'acidité des mains).

CONDITIONNEMENT DU FILTRE POUR LA CHLOROPHYLLE-A

Le filtre est alors placé dans un tube à centrifugation de 15 ml à usage unique (pour éviter toute contamination) puis stocké immédiatement au froid à 4 degrés et à l'obscurité jusqu'à l'extraction ou la congélation au laboratoire. Sont inscrits sur le tube le nom du cours d'eau, de la station, la date et le volume filtré. Ces informations sont aussi inscrites sur la fiche « données générales » de la campagne.

La conservation en glacière permet aussi de protéger de la lumière l'échantillon sur filtre destiné au dosage de la chlorophylle.

L'échantillon sur filtre peut être congelé, pour analyse ultérieure. Sa conservation dans cet état peut alors être portée à 12 mois maximum.

Onema
Hall C – Le Nadar
5 square Félix Nadar
94300 Vincennes
01 45 14 36 00
www.onema.fr

Cemagref
Parc de Tourvoie
BP 44,
92163 Antony cedex
01 40 96 61 21
www.cemagref.fr