

Ian F. Grant<sup>1</sup>

Natural Resources Institute, University of Greenwich at Medway, Central Avenue,  
Chatham Maritime, Kent ME4 4TB, R-U.

## INTRODUCTION

Composante essentielle des écosystèmes aquatiques, les invertébrés aquatiques fournissent des ressources exploitables tant aux poissons qu'aux êtres humains (comme les crabes, les crevettes et les mollusques), ainsi que des fonctions vitales telles que la décomposition des débris organiques et la sécrétion de substances nutritives pour les plantes. Le terme "invertébré aquatique" regroupe des organismes comme le plancton flottant, le necton nageur, des organismes associés aux plantes (le périphyton) et aux sédiments (le benthos) et le neuston, qui vit en surface.

Les organismes aquatiques sont exposés aux effets des produits agrochimiques de deux façons: par le biais d'une application directe et intentionnelle dans l'eau, telle que l'introduction de pesticides pour lutter contre les adventices ou les vecteurs d'organismes qui sont à l'origine de maladies (simulies, escargots, moustiques, etc.) et par le biais de contacts indirects tels que les dépôts résultant de la dérive de pulvérisation ou leur ruissellement des terres en zones ripariennes. Des études en laboratoire et sur le terrain indiquent que les invertébrés sont menacés par pratiquement tous les groupes d'insecticides synthétiques et naturels. Leur réaction à une exposition *in vivo* est assez variable car elle est liée aux caractéristiques physiques, chimiques et biotiques de leur environnement, mais en général, les invertébrés aquatiques (y compris les espèces demeurant à la surface) sont remarquablement sensibles aux insecticides. La forte menace que fait peser sur eux une exposition à de faibles quantités de pesticides justifie pour ce groupe un niveau de vigilance et de surveillance très important: mais leur sensibilité même peut être utilisée pour donner une mesure représentative de la contamination des eaux lotiques (courantes) et lenticles (stagnantes) par les insecticides, en tant que bioindicateurs.

On trouvera dans ce chapitre un choix de techniques d'échantillonnage simples, peu coûteuses et de fabrication robuste qui permettront de procéder à une observation biologique des ruisseaux, des fleuves, des marécages, des lagons, des étangs et des lacs. Le but de l'observation biologique est de rassembler des informations sur l'abondance relative et la composition en invertébrés à la fois dans le temps et dans l'espace, permettant de déduire les décisions à prendre sur un éventuel impact des produits agrochimiques. Il ne s'agit pas d'étudier et de recueillir des quantités ingérables de données sur toutes les espèces (quoique la tentation soit fréquente), mais plutôt de s'intéresser en priorité aux espèces ou aux fonctions clés qui sont menacées. Les techniques décrites ci-dessous sont quelques-unes des nombreuses qui existent, mais leur application est large et elles ont démontré leur capacité à recueillir des données qualitatives autant que quantitatives à partir des divers habitats aquatiques.

Une méthode unique ne suffira pas à échantillonner la diversité des espèces qui colonisent une masse d'eau, mais il est rare que pour des études d'impact, l'observation de tous les invertébrés du biome soit nécessaire. La surveillance et l'observation biologiques doivent s'accompagner d'une observation physicochimique aquatique de base, telle que le pH de l'eau, la température, la concentration d'oxygène et la conductivité, car ce sont des paramètres qui, dans tous les cas, aident à interpréter et à distinguer les changements résultant d'une variation naturelle de ceux d'un impact agrochimique (voir chapitre 5).

## DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

La première étape consiste à décrire le problème observé ou prévu. Par exemple, le service régional de protection phytosanitaire a l'intention de traiter une zone proche d'un site de terres humides pour lutter contre un ravageur en particulier, et l'opération pourrait entraîner la contamination du fleuve ou du lagon par dérive des gouttelettes de la pulvérisation d'aérosol. La stratégie de planification est de dresser la liste des éventuels effets d'une telle action, d'émettre une hypothèse testable (nulle) et d'envisager les variables qui entravent ce test ou compliquent l'interprétation des résultats.

<sup>1</sup>Adresse: Cybister Environmental Protection, Oak House, South Street, Boughton, Kent ME13 9PE, R-U. [ian.grant@cybister.plus.com](mailto:ian.grant@cybister.plus.com)

La Figure 1.1, au chapitre 1 en donne un exemple. L'impact potentiel est déterminé par une étude documentaire, c'est-à-dire à partir de ce qu'on sait d'un pesticide: sa formulation, son dosage, sa méthode d'application et l'échelle à laquelle il s'applique, sa rémanence, son écotoxicologie et ses propriétés physicochimiques. On émet une hypothèse sur l'impact potentiel, avant d'élaborer une stratégie pour collecter les organismes désignés comme étant menacés. De nombreuses études de terrain sont invalidées par une conception médiocre et un échantillonnage insuffisant, mais on peut éviter certains de ces écueils en s'en tenant à des principes statistiques éprouvés ainsi qu'aux règles énoncées ci-dessous. Les textes de Southwood (1996) et d'Elliot (1971), aujourd'hui des classiques, fournissent toutes sortes de méthodes écologiques et statistiques d'hydrobiologie.

Le Tableau 9.1 dresse la liste des groupes d'invertébrés aquatiques les plus sensibles aux pesticides. Toutefois, comme le dosage et la fréquence des applications de ces produits varient avec le type de mesure de lutte contre les ravageurs, et comme la biodisponibilité et la toxicité d'un pesticide pour les organismes est fonction de facteurs environnementaux, il ne s'agit là que d'une liste indicative. En fait il y a beaucoup plus de groupes et d'espèces menacés lorsque des pesticides sont appliqués directement sur l'eau.

**Tableau 9.1 Groupes d'invertébrés aquatiques sensibles à la contamination par les pesticides**

Type de pesticide	Contamination indirecte	Contamination directe
Organochlorés	Crustacea, Ephemeroptera et Plecoptera	Totalité du zooplancton et du benthos menacés
Organophosphorés	Heteroptera et Coleoptera de surface (surtout les dytiscidae), Ephemeroptera et Trichoptera	Plus les Cladocera, Amphipoda et Diptera
Carbamates	Crustacea, Ephemeroptera, Trichoptera, Odonata et Zygoptera	Totalité du zooplancton et du benthos menacés
Pyréthrinoïdes	Crustacea, Coleoptera, Heteroptera, Trichoptera, Ephemeroptera, Odonata et Zygoptera	La totalité du benthos sauf Mollusca
Inhibiteurs de croissance	Macrocrustacés, zooplancton et autres arthropodes	Tous les arthropodes
Phényl pyrazoles	Micro- et macrocrustacés, mollusques bivalves, organismes filtrants	Tous les arthropodes
Molluscicides	n/d	Relative menace sur totalité du benthos
Herbicides	Déséquilibre des populations de phytoplancton et d'invertébrés	Menace liée au manque d'oxygène (décomposition végétale)

Les méthodes employées pour échantillonner ces organismes (et d'autres) sont des techniques de collecte globale, c'est-à-dire qu'elles ne s'adressent pas à des groupes ou à des invertébrés spécifiques. Cette souplesse d'utilisation facilite l'observation des modifications plus importantes de populations et de comportements.

### Eau courante

Pour prendre un exemple, un service de protection phytosanitaire procède au traitement aérien de 16 km<sup>2</sup> d'herbages en bordure de rivière. Après avoir conclu, à la lecture de l'étude documentaire, que le risque de dérive des produits dans le fleuve était important et qu'un effet sur les invertébrés benthiques était très probable, l'hypothèse (nulle) que les organophosphorés ne modifieront en rien le type ou l'abondance de ces invertébrés doit à présent être testée. En fonction des possibilités d'accès, choisir les sites d'échantillonnage de façon à ce que le type de substrat, la vitesse du courant et la végétation épigée ou hypogée paraissent bien appariés. Lorsque vous irez en repérage, cherchez des endroits de la rivière où l'eau fait des rides, c'est-à-dire des zones de courant tumultueux sur de petites pierres ou sur du gravier, car ce sont souvent les endroits les plus productifs et qui abritent nombre d'invertébrés "sensibles" (perles, éphémères et crustacés) et qui sont faciles à échantillonner (voir aussi la rubrique "choix du site" au chapitre 1).

Retenez au moins deux sites bien en amont (par ex. à 10 km de la zone traitée) pour jouer le rôle de zone non traitée (témoin), deux ou plus dans la zone cible et deux bien en aval, à partir desquelles on pourra rassembler des informations sur l'étendue d'éventuels effets. Il n'y a pas de règle absolue pour définir l'emplacement d'une station d'échantillonnage et, le plus souvent, on recherche des compromis à partir de l'idéal. On évitera les sites susceptibles de fournir des données qui prêtent à confusion comme un emplacement en aval d'un village, un endroit où on fait la lessive, où il y a des abattoirs et des rejets de déchets d'usines, ou des zones de cultures sur lesquelles sont appliqués des pesticides, etc. (Figure 9.1).

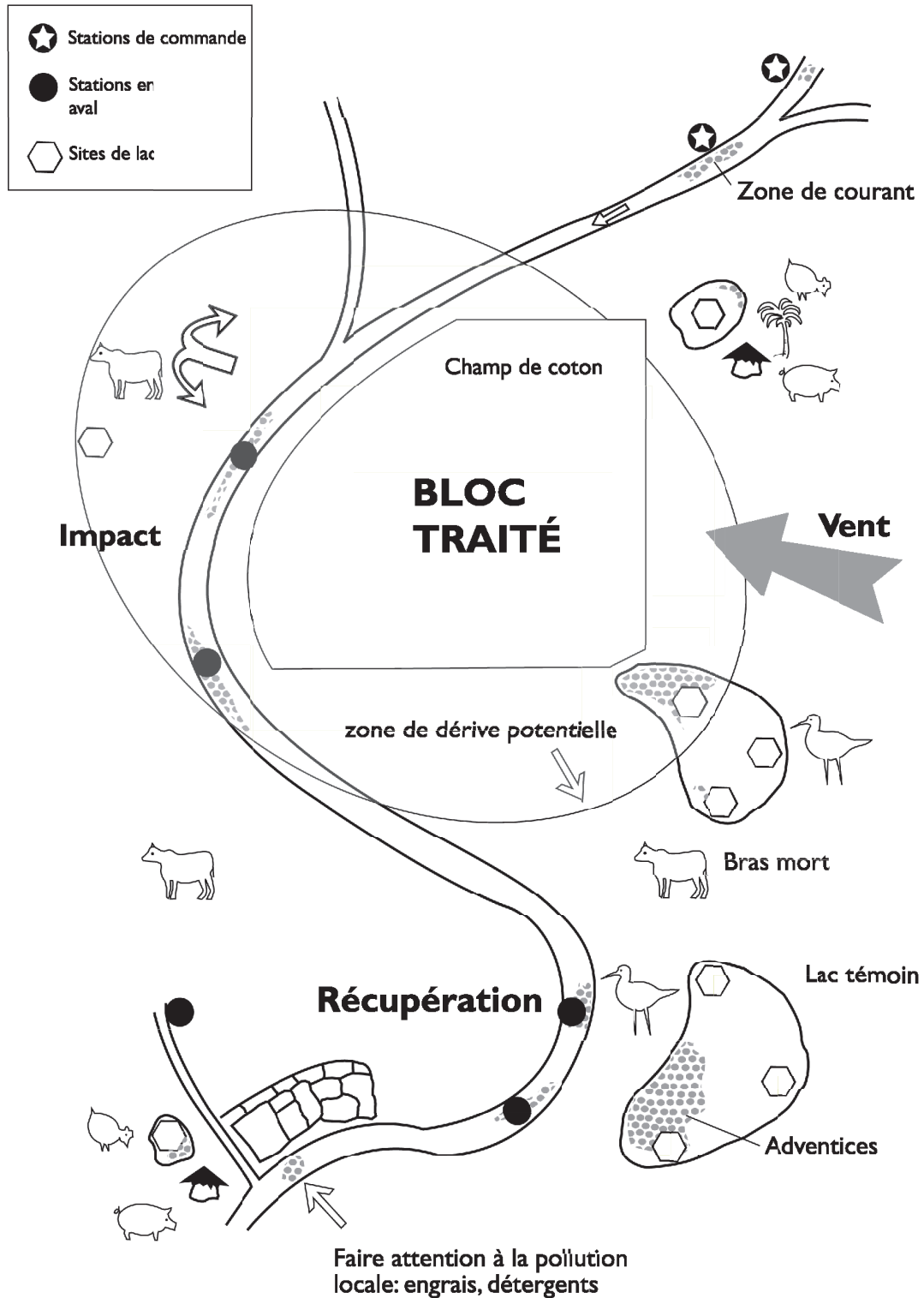


Figure 9.1: Sites d'échantillonnage possibles sur lacs et bords de fleuves

## Eaux stagnantes

L'identification de changements survenus dans les populations aquatiques comme moyen de déterminer l'impact des pesticides sur le biote lentique est souvent compliquée par le manque de zones bien définies d'eaux traitées et non traitées. Ces changements doivent être évalués à partir d'une étude de pré- et post-traitement, et à moins qu'il n'existe des masses d'eau de structure biologique comparable, distinguer les petits effets potentiels d'une variation naturelle plonge le chercheur dans la perplexité. Par ailleurs, les étangs, les petits lagons et les lacs sont considérés au niveau statistique comme un seul et même site, même si on peut prélever de nombreux échantillons répétés à plusieurs emplacements dans le lac (voir la rubrique "pseudo-répétition", chapitre 2) et un raisonnement en termes de cause et d'effet peut produire des résultats faussement positifs.

Pour l'échantillonnage d'eau stagnante ou d'eau courante, partez à la recherche de sites d'échantillonnage bien avant de faire les observations pour avoir le temps de parcourir les rives à pied ou en bateau et de confronter les caractéristiques du site, ses points d'accès, ce à quoi sert l'eau (effluent, irrigation, étangs à poissons, etc.). Évitez de choisir endroits trop faciles d'accès tels que gués ou ponts routiers, car les gens qui vivent autour s'y rendront facilement pour faire leur lessive, pour jouer, pour pêcher, etc.

## MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE

Il faut décider au préalable du niveau de collecte de données dont on a besoin, car cela a une incidence sur la valeur de l'information qu'elles contiennent et sur la fiabilité de l'évaluation d'impact. Les méthodes qualitatives fournissent des listes d'espèces utiles pour la collecte globale et pour réunir des informations de base sur la faune. C'est une erreur de penser qu'elles ne prennent pas beaucoup de temps, car il faudra peut-être prélever 10 échantillons par site pour obtenir 80% des espèces présentes et cela représente une tâche taxonomique de tri et d'identification colossale. Cependant, elles sont utiles dans les études de récupération post-traitement, dont l'objectif est de déterminer la survie des espèces sensibles touchées ou éliminées par l'emploi des pesticides. Recueillir des données pour comparer l'abondance relative ou le nombre d'espèces absolu dans l'espace et dans le temps nécessite des techniques quantitatives et un effort accru. Les techniques quantitatives sont généralement employées dans les études d'impact des pesticides, où l'objectif le plus souvent est de déterminer le degré de changement des populations. Obtenir des estimations fiables de l'abondance des espèces demande un échantillonnage uniforme et répété, ainsi qu'une certaine connaissance de la répartition des espèces et des statistiques. Le Tableau 9.2 présente un ensemble de techniques qui peuvent servir à recueillir des données qualitatives et quantitatives sur le biote aquatique. Leurs avantages et leurs inconvénients sont abordés brièvement dans la partie "Techniques d'échantillonnage" et leur utilisation est décrite dans les fiches méthodologiques.

Les remarques qui suivent s'appliquent aussi bien aux milieux lotiques que lentiques.

- Essayez d'échantillonner le même type de substrat lorsque vous prélèverez des échantillons répétés sur un site. Si vous avez un marais dont le fond est constitué à 50% de sable et à 50% de végétation, procédez en strates et prélevez la moitié des échantillons sur chaque habitat. La taille de la station d'échantillonnage devra être suffisamment grande pour permettre aux échantillons répétés d'être prélevés sans piétiner le substrat à échantillonner ni de le troubler de quelque manière que ce soit.
- Réfléchissez à la meilleure méthode pour obtenir l'information dont vous avez besoin pour remplir vos objectifs, y compris le nombre de répétitions nécessaires à l'analyse statistique: en pratique, on doit souvent faire un compromis entre le nombre optimal de répétitions (tel qu'il figure sur les fiches méthodologiques) et le temps ou les moyens dont on dispose pour le traitement des données. Un trop petit nombre d'échantillons répétés (<4) pourrait rendre le travail quantitatif sur certaines espèces inexploitable.
- Examinez bien la façon dont le pesticide arrive dans l'eau et choisissez la méthode d'échantillonnage qui convient pour mesurer les organismes qui sont les plus menacés: par exemple, ceux qui vivent en surface sont plus exposés aux gouttelettes d'aérosol qu'au ruissellement des eaux de surface.
- N'essayez pas de comparer les zones de courant avec les bassins, les fonds herbeux avec les substrats de gravillons, les données de la saison des pluies avec celles de la saison sèche ou les sites qui se trouvent juste en amont et en aval d'un confluent.
- Essayez de commencer l'échantillonnage au moins 1 à 2 mois avant l'intervention chimique. La fréquence d'échantillonnage dépend de facteurs logistiques et environnementaux comme les ressources humaines, l'époque à laquelle le fleuve coule, la longévité des bassins temporaires, la longueur des cycles biologiques, les périodes d'éclosion, les conditions météorologiques, etc. On peut raisonnablement viser un échantillonnage à 2 semaines d'intervalle dans une étude intensive (à court terme). Il faudra maintenir une surveillance après le traitement pour déterminer si les organismes se sont remis des impacts identifiés, idéalement jusqu'à ce que leur plein rétablissement ait été démontré; mais il s'agit en pratique de quelque chose qui se produit rarement, largement en raison du coût et de la variabilité naturelle des populations.
- Dans les études où l'on ne dispose pas d'une zone témoin digne de ce nom, essayez de trouver des archives pour vous renseigner sur les modifications saisonnières au cours des années précédentes.

## Taille des mailles

Les méthodes qui ont recours à des filets pour capturer les invertébrés benthiques, tels que les troubleaux, les cylindres échantillonneurs et les échantillonneurs de dérive, s'appuient sur la taille des mailles (leur ouverture) pour retenir les organismes étudiés. Les plus petits d'entre eux, comme les vers tubificides et le stade I des larves de chironomes pourront passer à travers des filets dont la maille est supérieure à 250 µm. Des mailles de cette taille ne tarderont pas à se boucher lorsqu'on remuera le substrat (échantillonnage par coup de pied et cylindre) ou si les échantillonneurs sont laissés longtemps en place (échantillonnage au filet dérivant). En général, il est nécessaire de trouver un compromis: utilisez des mailles plus grosses en sachant que vous perdrez les organismes les plus petits, ou réduisez la taille des mailles et raccourcissez la durée des échantillonnages. Un filet qui a une ouverture de maille de 400 µm est une bonne taille pour procéder à une collecte globale de macro-invertébrés. Les filets en maille nylon dont l'ouverture tend à être de taille variable, généralement autour de 1000 µm sont bien plus durables que la mousseline ou la moustiquaire et disponibles partout. Réduisez la taille des mailles si vous souhaitez faire une étude réservée aux stades de développement des petites espèces.

**Tableau 9.2 Techniques d'échantillonnage aquatique à titre indicatif**

Méthode	Biotes non-cibles					Type d'habitat			Pesticide
	Benthos	Organismes de surface	Plancton	Algues	Epiphytes	Eau courante	Eau stagnante	Ephémère	Tous
<b>Qualitative</b>									
Talon/pied	●					●		●	●
Dérive	●	▲	○						●
Substrat artificiel	●			●		●	●	●	●
Troubleau	●	●			●		●	●	●
Tiges/racines de plantes					●	▲	●	●	●
<b>Quantitative</b>									
Cylindre/Surber	●					●		●	●
Piège à émergence	●					●	●	●	●
Filet à plancton			●	●			●	●	●
Benne	●						●	●	●
Substrat artificiel	●			●	●	●	●	●	●
Dérive	●	▲	○			●			●

● = le meilleur; ▲ = en 2<sup>e</sup> position; ○ = possible avec taille de maille retenant le zooplancton.

## TECHNIQUES D'ÉCHANTILLONNAGE

### MÉTHODES QUALITATIVES

#### Échantillonnage par coups de pied ou de talon

Cette méthode simple d'échantillonnage des invertébrés benthiques dans les ruisseaux et les fleuves est excellente pour procéder à une collecte globale et ne nécessite qu'une épuisette d'eau douce. Lorsqu'on la répète dans des habitats riches, elle peut fournir une impressionnante collection de faune qui pourra être classée et faire l'objet d'une analyse non paramétrique. Mais au mieux, elle n'est que semi-quantitative. L'opérateur tient une épuisette à main (voir fiche méthodologique) vers l'aval, et foule ou écrase le substrat du talon de ses bottes pendant une durée déterminée pour en déloger les organismes, qui sont ensuite ramenés dans l'épuisette par le courant. L'échantillonnage par coups de talon en marchant à reculons sur une courte distance permet d'obtenir des échantillons plus gros. Cette méthode convient à la collecte globale d'invertébrés benthiques des substrats de sable, de gravier et de cailloux, mais pas de grosses pierres ou de rochers de fond. Il y a rarement assez de courant sur les substrats qui se déposent pour utiliser efficacement cette méthode; aussi les tubificides (vers vivant dans des tubes) et autres habitants des sédiments (faune des sédiments) ne peuvent être récoltés correctement par cette méthode. On synchronisera la fréquence de l'échantillonnage avec le calendrier des pulvérisations et leur sévérité: un calendrier d'inspection typique prévoit une visite tous les 10 jours avant le traitement, puis immédiatement après, et ensuite 3, 5, 10 et 20 jours après.

**Limites** Méthode qualitative; semi-quantitative au mieux. Ne peut être utilisée efficacement dans des rivières plus profondes que la hauteur du filet.

**Procédure** On sépare les organismes à l'œil nu des débris à l'aide de pinces et de pipettes de Pasteur et on les trie pour les répartir en groupes afin de procéder à leur dénombrement.

**Données obtenues** On procède au classement des informations sur les organismes au niveau de leur famille, leur genre ou leur espèce en fonction de leur abondance relative: par exemple 0 à 2 rare; 3 à 10 peu abondant; 11 à 50 fréquent; 50 à 100 très abondant. C'est à vous de déterminer votre échelle.

**Période d'échantillonnage** 2 min.

**Matériel** Épuisette et flacons à vis, pots en verre ou récipients en plastique.

**Personnel requis** 1

#### Échantillonnage des invertébrés de surface

Les invertébrés vivant à la surface, comme ceux des familles de coléoptères Gyrinidae, Veliidae, Hydrometridae et Gerridae, sont difficiles à échantillonner. Compter les gyrins d'une portion de rivière a peu de sens car il y aurait bien des façons d'interpréter leur soudaine disparition ou apparition. Un filet dérivant à mi-surface est un outil assez efficace pour capturer les habitants de la surface qui sont touchés par les insecticides, qu'il s'agisse de dérive de pulvérisation ou d'une introduction délibérée dans les cours d'eau. Le filet piège les organismes désorientés ou morts et offre un ample tableau de la manière dont une toxine affecte un tronçon de rivière. Dans le cas de certains types d'applications de pesticides, les invertébrés terrestres vivant sur les arbres qui surplombent la rivière y tombent aussi, et cela accroît la charge de traitement des données. Il y a d'autres groupes difficiles à échantillonner: c'est le cas des notonectes et des corises, également capturés. La technique du filet dérivant n'offre pas de données comparables sur les sites témoins.

On attache les filets dérivants à des piquets (voir ci-dessous et fiches méthodologiques) pour échantillonner les quelques premiers centimètres de la surface de la rivière plutôt que le courant principal, mais sinon, l'emplacement, la périodicité d'échantillonnage et le traitement ne sont pas différents de ceux utilisés pour l'échantillonnage de la dérive d'invertébrés.

**Limites** Comme il n'y a qu'un seul filet installé sur chacun des tronçons de rivière, traité ou non, la méthode n'a pas d'application quantitative.

**Procédure et données obtenues** Comme pour les échantillons au coup de talon.

**Période d'échantillonnage** De 1 h à 4 h après une pulvérisation; cela dépend à quelle vitesse le filet se bouche.

**Matériel** Filet dérivant, débitmètre et piquets pour empêcher le filet d'être emporté.

**Personnel requis** 1 ou 2 personnes.

#### Les substrats artificiels

Les lits rocheux, le sable, la vase de lac et les fonds herbeux peuvent être difficiles à échantillonner au filet, surtout dans une eau stagnante. Les substrats artificiels offrent des surfaces sur lesquelles les organismes peuvent se poser et qu'ils finissent par coloniser. À condition qu'on dispose de suffisamment de temps pour laisser la colonie s'établir, des matériaux comme les pierres, les tuiles, les briques, les ballons en plastique et les tuyaux leur conviennent: on les met dans l'eau, soit dans un sac à mailles ou une boîte en grillage posée sur le fond ou suspendue. Au bout d'un séjour de deux semaines ou plus dans l'eau, on pourra les enlever, les examiner et les laver dans un seau et les remettre pour une autre période. La durée de submersion devra être homogène d'un site à l'autre. Entre 4 et 8 substrats artificiels d'échantillonnage par site devraient fournir assez de données

pour un traitement statistique. Si le substrat repose sur un filet à mailles fines qui pourra être posé sur l'échantillonneur lors de la relève, on arrivera à obtenir un résultat quantitatif, établissant un rapport entre les effectifs et la superficie d'un substrat.

**Limites** Si le substrat présenté a une surface homogène, on obtient un résultat semi-quantitatif, utile pour procéder à des comparaisons intersites, mais la faune échantillonnée pourra ne pas refléter la structure de la communauté qui vit d'habitude sur le substrat du fond.

**Procédure** On passe ce qu'on a lavé dans le seau au tamis et on trie le contenu qu'on répartit en groupes à l'aide d'un plateau blanc. Conserver en vue de l'identification et du dénombrement.

**Données obtenues** Nombre d'organismes par unité de surface.

**Période d'échantillonnage** Deux semaines minimum.

**Matériel** Grillage et pierres ou autre substrat approprié.

**Personnel requis** Deux personnes pour plus d'efficacité.

## Échantillonnage au troubleau

Les troubleaux peuvent servir à échantillonner quantitativement la faune associée aux tiges et aux racines des végétaux submergés (papyrus et peuplements de *Vossia*), les racines des végétaux flottants (par ex. *Eichhornia crassipes*, jacinthe d'eau) ou des plantes totalement flottantes (*Salvinia*, *Piscia*).

**Limites** Les données recueillies sont en général difficiles à classifier et à analyser sous forme statistique, mais en dépit de ces obstacles, la méthode nous renseigne sur la richesse en espèces et peut déceler des modifications d'abondance relative, comme par exemple, la disparition soudaine d'une crevette ou d'une nymphe d'éphémère qui peut avoir une importance sur le plan biologique. Quand ce filet sert à ramasser des plantes entières comme *Salvinia*, on peut faire correspondre la faune au poids frais ou sec de la végétation. Une épaisseur triangulaire est utile pour aller fouiller dans les fonds herbeux, les rhizomes des papyrus et autres graminées.

**Procédure** Les échantillons recueillis au troubleau se traitent de la même façon que ceux récoltés à coups de talon.

**Données obtenues** En général, les données s'expriment en prises par unité d'effort, telles que la quantité de crevettes capturées pendant 3 minutes de passage de filet dans les racines des végétaux.

**Période d'échantillonnage** 2 à 5 min.

**Matériel** Troubleau (ils se fabriquent facilement sur place) et flacons de collecte.

**Personnel requis** 1

## Herbes et racines aquatiques

La végétation enracinée offre un substrat relativement stable à la colonisation des invertébrés. On peut échantillonner quantitativement les Trichoptera, les Ephemeroptera, les Chironomida, les Ostracoda, les Isopoda et les simulides en coupant des tapis d'herbes. Toutefois, il n'est pas évident de comparer la densité des organismes d'un site à l'autre, étant donné les difficultés d'échantillonnage et la variation. Il est probablement aussi utile et plus rapide de minuter les passages de troubleau sur une végétation enracinée ou sur des adventices flottants que de tenter une semi quantification à l'aide du poids sec ou d'une zone d'adventices.

## MÉTHODES QUANTITATIVES

### Échantillonnage par cylindre ou par boîte

On peut obtenir des données quantitatives sur la faune benthique qui habite le lit des ruisseaux et des rivières à l'aide d'un cylindre ou d'une boîte renfermant une superficie connue du lit d'un cours d'eau (une taille de 0,05 m<sup>2</sup> est commode mais de plus petites dimensions sont possibles dans les endroits où le substrat se compose de graviers ou de cailloux). Comparé à l'échantillonneur par boîte, qui n'est pas facile à faire rouler sur les surfaces caillouteuses, le cylindre, plus adaptable, peut être utilisé aussi bien sur des substrats mous que pierreux. L'un comme l'autre n'ont qu'un usage limité sur les lits rocheux, mais une jupe de mousse expansée ajustée sur le fond de l'échantillonneur peut rendre la zone à échantillonner étanche. On passe le cylindre dans le substrat à une profondeur d'environ 5 cm. L'eau passe à travers l'entrée grillagée, placée face à l'amont, et elle reflue les animaux qui ont été poussés dans le périmètre clos jusqu'à un filet attaché à la sortie côté aval (voir fiche méthodologique). Le nombre idéal d'échantillons prélevés sur un même site est de 4 à 8.

**Limites** La profondeur du ruisseau ne peut pas être supérieure à la hauteur des échantillonneurs (30 à 40 cm) et ceux-ci ne peuvent échantillonner de grosses pierres. Un échantillonneur Surber peut être utilisé de la même façon, mais il présente des inconvénients: le cadrat ne repose que sur le substrat, l'échantillonnage nécessite deux personnes et il n'est efficace que lorsque la profondeur de l'eau est moindre (10 cm).

**Procédure** On trie les organismes en groupes sur un plateau blanc et on les conserve dans l'alcool en attendant leur identification.

**Données obtenues** Pour tirer le meilleur parti des informations fournies par les échantillons quantitatifs, on procède d'habitude à l'identification des organismes, dans la mesure du possible en espèces. La moyenne, l'écart type, ou les limites de confiance de la moyenne pour un groupe ou pour une espèce sont présentés sous forme de graphique par rapport au temps ou au numéro du site, par exemple.

**Période d'échantillonnage** Une fréquence d'échantillonnage classique serait de 2 à 3 jours immédiatement après une application de produit, et hebdomadaire ou bihebdomadaire par la suite. Elle dépend de l'importance de la réaction: plus celle-ci est importante, plus la fréquence doit être grande. Dans les petits ruisseaux, le nombre et la fréquence des échantillons pourra être également déterminée par la superficie du substrat disponible: il ne faudra pas échantillonner exactement la même zone plus d'une fois toutes les deux semaines, afin de donner le temps à la colonie de se reformer.

**Matériel** Un cylindre, une boîte métallique et des filets pourront être fabriqués sur place. On peut aussi utiliser des boîtes pour conserver le café (taille restauration) ou des tuyaux en plastique.

**Personnel requis** Le nombre d'employés idéal requis pour toutes les techniques d'échantillonnage quantitatif est de deux.

## Échantillonnage des invertébrés par dérive

Dans les ruisseaux et les rivières, les invertébrés se laissent régulièrement emporter vers l'aval. La plupart des animaux dérivent en général la nuit, juste après le coucher du soleil mais, pendant les périodes de fortes pluies ou de sécheresse, on assiste à une explosion de leur densité. Les insecticides peuvent provoquer la dérivation d'une quantité considérable d'individus des espèces sensibles, et ceci pendant de nombreuses heures après qu'ils soient entrés en contact avec l'eau. La réaction peut se traduire par des ordres de grandeur plus importants que les densités auxquelles on assiste habituellement et cette dérivation peut servir d'indicateur biologique de la contamination de l'eau, même à des concentrations très faibles de produit.

Idéalement, on installe les filets dérivants en amont et en aval de l'emplacement où le traitement a eu lieu. Les pulvérisations aériennes chimiques sont souvent emportées sur des distances considérables par les vents dominants et restent en suspension dans l'air pendant quelques jours. Par conséquent, les sites de dérivation "témoins" devront être situés à 10 km ou plus du site d'application chimique le plus proche. Il est préférable d'avoir deux ou trois sites avec des filets dérivants en aval, bien espacés plutôt qu'un seul, mais c'est souvent l'accès ou la longueur (voire la profondeur) du ruisseau qui en détermine le nombre. On trouvera au chapitre 5 des méthodes de mesure du courant destinées à l'estimation de la densité d'une dérivation.

Dans les ruisseaux à débit rapide et au cours de la saison des pluies, les débris ne tardent pas à obstruer les filets. De plus grosses mailles réduiront cet inconvénient, mais attraperont moins de petits organismes. La solution la plus simple à l'obstruction des filets est de les vider fréquemment.

**Limites** Si la dérivation est facilement quantifiable, la densité d'une dérivation ne peut être apparentée de façon fiable à la production ou aux populations d'invertébrés benthiques permanentes. Ceci est important dans la mesure où le temps ou la main d'œuvre sont une contrainte: il pourra être utile d'envisager de recourir à des estimations quantitatives des populations et à moins de filets dérivants. Certains invertébrés tendent à dériver plus que d'autres, ce qui veut dire que cette technique est sélective.

**Procédure** On rince les échantillons dans un tamis (dont le grillage a la même taille que les mailles du filet) et on les dépose sur un plateau blanc. On répartit les invertébrés en groupes, on les conserve dans de l'alcool (à 70%) ou du formol (à 4%) pour les identifier et les dénombrer ultérieurement.

**Données obtenues** La densité de la dérivation est calculée à l'aide de la superficie de l'ouverture du filet (ou d'une partie si le filet n'était pas totalement immergé), le débit de l'eau et le nombre d'animaux capturés pendant un laps de temps donné. Les représentations graphiques sont très efficaces pour communiquer les résultats.

**Période d'échantillonnage** Après une contamination de l'eau par un insecticide, des invertébrés viendront vraisemblablement remplir les filets disposés en aval au bout de 30 à 60 minutes. On surveillera les filets pour s'assurer que l'eau ne reflue pas à l'entrée de l'échantillonneur sinon les organismes à la dérivation seront détournés de l'entrée du filet. Dans des conditions normales, une durée de 24 heures constitue un intervalle commode d'échantillonnage car elle englobe la photopériode naturelle, à laquelle répondent de nombreux invertébrés. Pendant ou après l'usage d'insecticide, la fréquence de l'échantillonnage sera déterminée par la quantité de matériel que le filet récupère. Les échantillons sont prélevés jusqu'à ce que la densité de la dérivation vers l'aval avoisine une fois de plus celle constatée en amont de la contamination.

**Matériel** Filets dérivants, de préférence équipés d'un flacon de récupération, piquets, débitmètre, et flacons à échantillons.

**Personnel requis** Deux personnes est idéal.

## Échantillonnage du plancton

La densité du phytoplancton et du zooplancton peut nettement changer en réaction à une application d'insecticides, d'herbicides et d'engrais à proximité des lacs, des étangs, des marécages et des fleuves. Dans les rivières et les eaux oligotrophes permanentes, il faut récolter le plancton avec un filet dragué à la verticale (en eau profonde) ou à l'horizontale pour en obtenir une quantité qui soit suffisamment concentrée pour être dénombrée. Lorsque les niveaux de nutriments augmentent, comme c'est le cas dans les bassins fluviaux, les bras morts et les eaux eutrophiques, le plancton commence à pulluler et en l'absence de filet, on peut l'échantillonner avec une bouteille à goulot évasé.

En rivière, les stratégies d'échantillonnage ressembleront à celles qu'on utilise pour les invertébrés benthiques, c'est-à-dire que l'amont des zones perturbées sera échantillonné comme étant zone "témoin" et l'aval comme la zone traitée. Dans le cas d'étangs ou de lacs entiers ayant subi une forme quelconque d'intervention agrochimique, c'est une masse d'eau non touchée qui pourra jouer le rôle de site témoin; ou, s'il s'agit d'une intervention délibérée (par exemple, pour lutter contre les moustiques, les escargots ou les adventices), ou si on en connaît le calendrier (par exemple, un traitement contre les mouches tsé-tsé par voie aérienne), on pourra alors recueillir des données de prétraitement. L'interprétation des données post-traitement dans les eaux permanentes sera facilitée si on connaît la variation naturelle de l'abondance du plancton à partir d'un site témoin apparié, mais en pratique, ceux-ci sont difficiles à trouver.

**Limites** Des oscillations dans la densité du plancton se produisent régulièrement et en réaction à un changement de température de l'eau et de lumière. Les effets directs et indirects des produits agrochimiques sur les crustacés, les rotifères, les diatomées et les algues vertes et bleues-vertes ne sont pas faciles à déterminer surtout quand on ne connaît pas le calendrier de l'intervention, par exemple le ruissellement d'un produit chimique qui se produit pendant une période prolongée ou bien lorsque le dépôt de produit sur une masse d'eau est faible (comme c'est le cas avec les dérives de pulvérisation). Il est facile de classer le plancton dans les principaux groupes taxonomiques. En présence d'une espèce x d'un groupe affectée sans doute possible par un produit chimique, adressez-vous à un spécialiste pour vous aider à procéder à son identification.

**Procédure** Si l'eau échantillonnée était verte, ou si le zooplancton pullulait dans le flacon de récupération avant sa conservation, il est probable qu'un sous-échantillonnage ou une dilution soit nécessaire pour diminuer la quantité d'organismes avant de les dénombrer. Une autre solution est d'utiliser un hémocytomètre pour compter le phytoplancton dans de petits volumes d'eau sans avoir besoin de recourir à une dilution. Il existe d'autres chambres de comptage pour dénombrer les populations de faible densité (par exemple, celle de Sedgewick-Rafter), mais en général, de petites boîtes de Pétri posées sur du papier millimétré suffiront, à condition que le vent et la chaleur n'éparpillent pas le contenu. On peut prélever du zooplancton sur un échantillon de phytoplancton, en le tamisant à travers de la maille nylon fine ou de la mousseline. Il est facile de compter du zooplancton et des rotifères dans une boîte de Pétri posée sur du papier millimétré.

**Données obtenues** Calculez les dilutions sérielles avant d'exprimer l'abondance sous forme de quantités (ou la biomasse) par volume d'eau.

**Période d'échantillonnage** Dans les étangs et les lacs, la longueur ou la profondeur de la drague détermine la durée de l'échantillonnage. Une drague de 10 m est suffisante dans les endroits où le plancton est abondant.

**Matériel** Microscope, chambre de comptage, boîtes de Pétri, filet à plancton et flacons.

**Personnel requis** 1

## Pièges à émergence

On peut dire s'il y a eu émergence d'un insecte de l'eau avec un piège à émergence. Sans être une mesure représentative de la densité d'une population, l'émergence est un indicateur de l'impact d'un insecticide sur une phase cruciale du cycle biologique d'un insecte. La dynamique de l'émergence est fonction de l'historique de la vie, de la température, de la lumière et de l'eau, tellement variables qu'il faut déployer un grand nombre de pièges (5 à 10) pour réduire les erreurs d'échantillonnage. Les échantillonneurs à émergence sont utiles pour quantifier les effets des régulateurs de croissance des insectes et des insecticides microbiens sur la métamorphose des insectes ou le développement nymphal, ce dont le cylindre ou les autres techniques d'échantillonnage ne sont pas capables. On installe les pièges juste en dessous de la surface de l'eau pour empêcher d'autres insectes non émergents de voler à l'intérieur. En théorie, ils échantillonnent une surface connue de substrat, mais il est possible que les pièges de bord de rivière ne puissent pas le faire en raison du courant. Les insectes qui émergent en se hissant sur les plantes qui dépassent de l'eau (comme les Odonata - libellules et demoiselles) ne sont généralement pas échantillonnés, mais la méthode est plus efficace avec des chironomides et autres Nematocera. On peut utiliser ces pièges dans les littoraux peu profonds d'eaux stagnantes ou on peut les faire flotter à la surface d'un lac. La construction d'un piège et son emploi ont été traités par Mundie (1971).

**Limites** Le nombre des insectes émergents peut être parfois très faible à certaines époques de l'année et il faut être capable de décider si cela vaut la peine d'utiliser cette méthode lorsque la faible abondance des captures risque de réduire sérieusement la puissance de la comparaison statistique. Les pièges doivent être ancrés à la saison des pluies.

**Procédure** Les pièges sont vidés régulièrement et le contenu est trié sur un plateau blanc.

**Données obtenues** La densité des insectes est exprimée en nombre d'espèces ou de groupes par zone (/m<sup>2</sup>).

**Période d'échantillonnage** Deux semaines avant et après les traitements (au minimum) mais les pièges doivent être vidés tous les 2 à 3 jours et les flacons remplis avec du formol.

**Matériel** Pièges à émergence, formol et flacons à échantillons.

**Personnel requis** 1.

## Échantillonnage à la benne

En général, les invertébrés des sédiments sont mieux protégés contre les dépôts accidentels de pesticides dans les eaux que le plancton et le necton, car l'adsorption des produits sur le sédiment réduit leur disponibilité biologique immédiate et leur toxicité. L'évaluation des effets et la surveillance biologique des vers tubicoles (par ex. Tubificidae) et des mollusques n'est par conséquent pas quelque chose de banal. Mais dans les cas où la faune des sédiments est exposée à de fortes concentrations d'insecticide, comme c'est le cas lors de la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose, de la bilharziose, et du paludisme, on a de bonnes raisons de surveiller les populations des organismes cibles (comme, par exemple, les escargots) et non cibles en échantillonnant le sédiment. L'évaluation de l'impact indirect dû aux herbes flottantes denses (une moindre pénétration de la lumière), du fauchage des herbes et de l'emploi d'herbicides (désoxygénation/pousse d'algues) sur la gamme de la faune des sédiments et son abondance nécessite également une méthodologie quantitative.

Les organismes vivant dans les sédiments sont faciles à échantillonner dans les lacs et les rivières à l'aide de bennes, qui prélèvent une petite zone de vase grâce à des mâchoires à ressort ou lestées. (Dans des marécages très peu profonds, des dambos et des rizières, un morceau de tuyau de drain PVC pourra être plus rapide à utiliser qu'un carottier.) La benne Eckman est idéale pour un usage en rivière et dans les zones littorales des lacs où l'eau fait moins de deux mètres de profondeur et peut être traversée à pied. À des profondeurs plus importantes, une petite benne de Petersen qu'on fera fonctionner d'une barque ou d'un canoë est conseillée.

**Limites et Procédure** Séparer la faune des sédiments des déchets organiques et de la vase est fastidieux et il est nécessaire de rincer d'abord les sédiments dans une série de tamis (par ex. de 5 mm, 2 mm, 750 µm et 400 µm) pour trier et dénombrer les organismes sur des plateaux blancs. Certains substrats ne conviennent pas à l'échantillonnage à la benne: c'est le cas du sable, des pierres et des agrégats pierreux.

**Données obtenues** Les résultats sont exprimés en nombre d'espèces ou de groupes par zone/m<sup>2</sup>.

**Période d'échantillonnage** Prélevez des échantillons au moins tous les trois jours après traitement jusqu'à un mois après la dernière pulvérisation.

**Matériel** Pour une eau peu profonde (jusqu'à la taille), utilisez une benne Eckman; en eau plus profonde, on aura besoin d'une barque et d'une benne de Ponar ou de Petersen. Celles-ci sont toutes relativement chères.

**Personnel requis** 2

## Méthodes physicochimiques

La mesure de paramètres de base comme la température de l'eau, la concentration d'oxygène, le pH, la conductivité, la turbidité et le débit (courant) est très utile pour aider à interpréter les données biologiques. Par exemple, les niveaux d'oxygène dissout pourront varier nettement d'un bassin à l'autre, ou bien entre l'aval et l'amont d'une source de pollution due à un facteur autre qu'un pesticide, et s'ils n'étaient pas décelés, ils auraient une incidence sur l'évaluation de l'impact de ce pesticide sur la faune. Les mesures physicochimiques doivent être effectuées au moment de l'échantillonnage biologique et notées dans un carnet. On trouvera la description de ces méthodes ainsi que les fiches correspondantes au chapitre 5.

## TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Le tri des échantillons d'invertébrés est une tâche ennuyeuse et qui prend du temps. Après le rinçage des échantillons collectés sur le terrain à travers des tamis pour enlever la vase, le sable et les agents de conservation, il n'y a pas vraiment d'autre méthode que de trier à la main les invertébrés sur des plateaux blancs à la lumière du jour. Déversez le contenu des tamis sur un plateau que vous aurez divisé en segments à peu près égaux (d'env. 6 cm x 6 cm) avec un feutre indélébile et triez les organismes qui se ressemblent dans des flacons contenant un liquide de conservation à l'aide de pinces et de pipettes de Pasteur. Lorsqu'ils trient les échantillons dans l'eau sur un fond blanc, la plupart des biologistes trouvent qu'il est plus efficace de se concentrer sur des groupes d'organismes et de prendre d'abord les crevettes par exemple, puis les éphémères, puis les vers, etc., plutôt que de trier tous les individus d'un seul coup. On peut soulever de temps en temps le coin du plateau pour créer un déplacement d'eau qui aidera à révéler des spécimens sur un fond de sable ou de sédiments. Mettez une étiquette (crayon sur papier) à l'intérieur du flacon, mentionnant la date, le site d'échantillonnage et autres informations pertinentes. Si des échantillons peuvent être triés directement sur le terrain, les mouvements des invertébrés aideront à les séparer. Conservez les collections dans de l'alcool à 70% et préparez une collection de référence des spécimens qui peuvent être utilisés pour identifier tous les autres, que ce soit par leur nom taxonomique ou, au moins au départ comme morphoespèce, par un code qui les distingue (esp. A, B, etc.). Assurez-vous que les joints des bouchons soient en bon état, car une perte d'alcool par évaporation pourrait rapidement endommager la collection. Des connaissances en taxonomie accélèrent le traitement des échantillons, mais une équipe de "trieurs" non qualifiés pourra commencer à distinguer les espèces semblables après quelques jours de formation initiale de base. Un microscope de dissection de faible puissance, des notions clés de taxonomie et l'aide de spécialistes seront nécessaires pour identifier les spécimens de référence et dénombrer les échantillons collectés. Ces dénombrements devront être enregistrés en totalité au crayon dans un carnet. On trouve en général de l'aide pour identifier les spécimens auprès des musées nationaux, des facultés et des écoles supérieures d'agriculture, et il existe une quantité de spécialistes internationaux des groupes aquatiques qui seront disposés à vous aider (contactez les conservateurs en chef des musées nationaux).

## RÉFÉRENCES

- BRODIE, I. and DOBERSKI, J. (1991) *Techniques in Ecology and Environmental Science. Set B, Aquatic Organisms and Habitats, Data Collection and Analysis*. Cambridge: Daniels Publishing.
- ELLIOTT, J.M. (1971) *Some Methods for the Statistical Analysis of Samples of Benthic Invertebrates. Scientific Publications, No. 27*. Ambleside, UK: Freshwater Biological Association.
- GRANT, I.F. (1989) Monitoring insecticide side-effects in large-scale treatment programmes: Tsetse spraying in Africa. pp. 43-59. In: *Pesticides and Non-target Invertebrates*. Jepson P. C. (ed.). Andover, UK: Intercept.
- HYNES, H.B.N. (1970) *The Ecology of Running Waters*. Liverpool: Liverpool University Press.
- MUNDIE, J.H. (1971) Techniques for sampling emerging aquatic insects. In: *A Manual of Methods for the Assessment of Secondary Production in Freshwaters*. Edmondson, W. T. and Winberg, G. G. (eds). IBP Handbook, No. 17. Oxford: Blackwell Science.
- SMITH, V. and QUIGLEY M. (1986) *Invertebrates of Streams and Rivers*. Oxford: Blackwell Science.
- SOUTHWOOD, T.R.E. (1966) *Ecological Methods with Particular Reference to Study of Insect Populations*. London: Methuen. (Further impressions by Chapman and Hall.)