

**INDICE OLIGOCHÈTES
DE BIOINDICATION DES
SÉDIMENTS (IOBS)**



GUIDE MÉTHODOLOGIQUE

SOMMAIRE

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCTION | 2 |
| 2. DOMAINE D'APPLICATION DE L'IOBS | 3 |
| 3. TERMES ET DEFINITIONS | 4 |
| 4. PRINCIPE | 4 |
| 5. MATERIEL NECESSAIRE A LA MISE EN OEUVRE DE L'IOBS | 4 |
| 5.1. REACTIFS | 5 |
| 5.2. APPAREILLAGE | 5 |
| 5.2.1. <i>Appareils de prélèvement</i> | 5 |
| 5.2.1.1. Généralités | 5 |
| 5.2.1.2. Cas des sédiments fins accessibles (jusqu'à 1 m de profondeur) | 5 |
| 5.2.1.3. Cas des sédiments fins situés entre 1 et 2 m de profondeur | 5 |
| 5.2.1.4. Cas des sédiments fins très profonds (> 2 m de profondeur) | 6 |
| 5.2.1.5. Cas des sédiments sableux accessibles (jusqu'à 1 m de profondeur) | 6 |
| 5.2.1.6. Cas des sédiments sableux plus profonds (> 1 m de profondeur) | 6 |
| 5.2.1.7. Appareils nécessaires en toute situation | 6 |
| 5.2.2. <i>Matériel d'extraction</i> | 6 |
| 5.2.3. <i>Matériel de préparation des lames et d'examen des lames en vue d'un examen microscopique</i> | 7 |
| 6. DESCRIPTIF DES OPERATIONS DE TERRAIN : ECHANTILLONNAGE DES SEDIMENTS ET PRE-TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON | 7 |
| 6.1. GENERALITES | 7 |
| 6.2. ECHANTILLONNAGE DANS LES SEDIMENTS FINS OU SABLEUX | 8 |
| 6.2.1. <i>Prélèvements au carottier</i> | 8 |
| 6.2.2. <i>Prélèvements au filet échantillonneur de type Surber</i> | 8 |
| 6.2.3. <i>Prélèvements à la benne</i> | 9 |
| 6.2.4. <i>Prélèvements au haveneau</i> | 9 |
| 6.3. PRE-TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON SUR LE TERRAIN ET CONDITIONNEMENT POUR LE TRANSPORT | 10 |
| 7. OPERATIONS DE LABORATOIRE - MODE OPERATOIRE | 10 |
| 7.1. TAMISAGE DES SEDIMENTS | 10 |
| 7.1.1. <i>Cas des sédiments fins</i> | 11 |
| 7.1.2. <i>Cas des sédiments sableux</i> | 11 |
| 7.2. TECHNIQUES DE COLORATION (FACULTATIVES) | 11 |
| 7.3. EXTRACTION DES OLIGOCHETES | 11 |
| 7.4. MONTAGE DES OLIGOCHETES ENTRE LAME ET LAMELLE | 12 |
| 7.5. NOMBRE D'OLIGOCHETES EXAMINES | 13 |
| 7.6. EXAMEN MICROSCOPIQUE | 13 |
| 8. DETERMINATION DE L'IOBS | 14 |
| 8.1. CALCUL DE L'IOBS | 14 |
| 8.2. <u>ABAQUE D'INTERPRETATION DE L'IOBS</u> | 14 |
| 9. RAPPORT D'ESSAI | 16 |
| <u>10. TRAVAUX CITES</u> | 17 |

1. INTRODUCTION

L'objectif de ce document est de présenter les techniques conduisant au calcul de l'Indice Oligochètes de Bioindication des Sédiments ou IOBS. Mis au point au début des années 1980, cette méthode de bioindication a fait l'objet de diverses évolutions et de tests concernant sa signification écologique (Lafont *et al.*, 1988 ; Lafont, 1989 ; Rosso *et al.*, 1993, 1994 ; Rosso, 1995 ; Prygiel *et al.*, 1999).

Des indications sont données sur les modalités d'échantillonnage des sédiments, sur la préparation au laboratoire du matériel en vue d'un examen microscopique, la détermination à l'espèce des oligochètes, le calcul de l'IOBS et l'interprétation des résultats. Des précisions d'ordre méthodologique sont apportées en complément.

2. DOMAINE D'APPLICATION DE L'IOBS

L'IOBS décrit la qualité biologique des sédiments fins ou sableux permanents et stables de cours d'eau ou canaux et indique des tendances fortes sur l'incidence écologique des rejets polluants (charge organique ; micropolluants organiques et métalliques). L'IOBS peut en outre être utilisé comme indice de qualité biologique générale dans les milieux où prédominent les sédiments fins ou sableux (canaux, rivières canalisées...).

Il est basé sur des taxons à développement strictement aquatique, en général peu mobiles, recensés dans toutes les eaux continentales et ne présentant ni zonation ni distribution régionale dans les eaux courantes européennes.

Les caractères généraux de la biologie et de l'écologie des oligochètes sont précisés dans différents travaux (Avel, 1959 ; Giani, 1984 ; Lafont, 1983 ; 1989 ; Martinez-Ansemil, 1993 ; Juget & Lafont, 1994 ; Rosso, 1995).

La méthode IOBS est en principe applicable à toutes les eaux courantes et tous les bassins hydrographiques européens. Elle a fait l'objet d'applications dans l'ensemble des grands bassins hydrographiques français (cf. synthèse sur le bilan de l'application de l'indice IOBS ; Lafont & Bernoud, 1999).

L'IOBS n'a pas encore été testé dans les zones d'estuaires, les eaux saumâtres et les milieux aquatiques insulaires. Il semble cependant encore applicable dans des eaux où les chlorures ne dépassent pas la concentration de 5 000 mg l⁻¹ (Rosso-Darmet *et al.*, 1998).

Il n'est pas toujours performant dans les sédiments fins de sources et les sédiments sableux de petits cours d'eau montagnards, où des valeurs d'indice IOBS ≤ 2 (qualité biologique des sédiments médiocre à mauvaise) révèlent parfois une faible capacité d'assimilation des sédiments face à des rejets polluants réels mais encore modérés.

Inversement, l'IOBS peut présenter des valeurs élevées (> 3 ; bonne à très bonne qualité biologique des sédiments) dans des sédiments sableux très instables ou dans des sédiments recouverts d'un tapis dense et épais de macrophytes et/ou d'algues filamenteuses ; l'instabilité des sédiments ne permet pas en effet à la charge polluante d'être stockée et les macrophytes, ou les algues filamenteuses, peuvent constituer une couche protectrice par rapport à la toxicité sous-jacente des sédiments.

Dans le cas de sédiments constitués presque exclusivement par une fraction minérale (bancs ou plages de sables), l'application de l'IOBS ne peut pas se réaliser mais le recours à d'autres méthodes (indices oligochètes IOSG, groupements d'espèces ; Lafont, 1989) reste permis. Ce type de sédiment est d'ailleurs aisé à caractériser sur le terrain : aspect " minéral " semblable à celui d'une plage de sable, pas de particules fines présentes, débris végétaux grossiers et non intégrés dans la masse sédimentaire, présence d'une couche fluide de surface déconnectée de la masse sédimentaire.

Par ailleurs, l'IOBS ne s'applique pas aux sédiments constitués presque exclusivement par une fraction organique (par exemple, tourbe).

3. TERMES ET DEFINITIONS

- **Oligochète** : ver annélide dont le corps, de forme grossièrement cylindrique, est constitué par une chaîne d'éléments identiques (les anneaux ou métamères ; la taille est variable (quelques millimètres à plusieurs centimètres) ; pas de squelette ; présence de soies locomotrices ; reproduction asexuée ou sexuée (hermaphrodite) ; certains oligochètes possèdent des taches oculaires.
- **Station** : tronçon de cours d'eau d'une longueur comprise entre 50 et 150 m, dans lequel sont réalisés les prélèvements de sédiment.
- **Echantillon** : ensemble constitué de un ou plusieurs prélèvements de sédiments sur une station donnée.
- **Taxon** : unité systématique (famille, genre, espèce, sous-espèce, écotype)

4. PRINCIPE

Les principales phases exécutives lors de l'application de l'IOBS sont les suivantes :

- Prélèvements de sédiments par station selon un protocole d'échantillonnage tenant compte du type de sédiment présent ;
- Extraction dans l'échantillon des oligochètes, selon un protocole de sous-échantillonnage ;
- Montage des oligochètes extraits entre lame et lamelle dans un liquide de montage puis identification et numération des taxons d'oligochètes présents ;
- Détermination des valeurs de l'IOBS par échantillon et par site ; la valeur IOBS=0 est attribuée par défaut à tout échantillon ne renfermant pas d'oligochètes.

5. MATERIEL NECESSAIRE A LA MISE EN OEUVRE DE L'IOBS

5.1. REACTIFS

Les produits chimiques appelés à être utilisés lors des différentes phases exécutives sont :

- Formol, solution aqueuse à environ 40 % (v/v)
- Acide lactique pur
- Glycérine
- Vernis à luter (optionnel)
- Ethanol, éosine aqueuse, hexamétaphosphate de sodium (optionnels)

Avertissement : L'utilisation de produits chimiques peut s'avérer dangereuse. Il est donc nécessaire de respecter scrupuleusement les consignes d'utilisation mentionnées par le fabricant.

5.2. APPAREILLAGE

5.2.1. Appareils de prélèvement

5.2.1.1. Généralités

Les appareils disponibles dans le commerce (bennes, carottiers, filets échantillonneurs), et notamment ceux qui sont utilisés dans la norme IBGN (filet échantillonneur/Haveneau, NF T 90-350), peuvent convenir pour prélever des oligochètes. Toutefois, en cas d'utilisation de l'appareillage IBGN, il est impératif d'une part de munir Surber et Haveneau d'un filet avec un vide de maille maximal de 0,315 mm (pour l'IBGN, la maille de 0,500 mm est retenue), d'autre part de prélever les surfaces préconisées pour les relevés d'oligochètes et de respecter les protocoles d'échantillonnage.

Sont à proscrire, dans le cas de l'utilisation de matériels du commerce, tous les appareils qui ne permettent pas de conserver intacte la couche de surface des sédiments (couche particulièrement biogène), comme par exemple les piochons ou les dragues à manche.

Les avantages et inconvénients inhérents à l'utilisation des engins de prélèvement sont présentés dans les travaux de Juget & Lafont (1982) et Lafont (1989). Le choix de l'appareil de prélèvement se fait en fonction de la profondeur des sédiments (hauteur de la lame d'eau) et de la nature des sédiments (épaisseur, texture, ...).

5.2.1.2. Cas des sédiments fins accessibles (< 1 m de profondeur) (Annexe 1, planches 1 et 2)

L'appareil le plus couramment utilisé est un carottier de 20 à 25 cm² d'ouverture. Mais deux types de carottiers sont conseillés :

- carottier de type Rofès-Savary (Rofès & Savary, 1981) ;
- tube en altuglass, obstrué dans sa partie haute par un bouchon amovible en caoutchouc et dans sa partie basse à l'aide de la paume de la main.

5.2.1.3. Cas des sédiments fins situés entre 1 et 2 m de profondeur (Annexe 1, planche 3)

Deux appareils de prélèvement peuvent être utilisés :

- Haveneau de type IBGN (avec un filet de 0,315 mm de vide de maille maximal) ;
- bennes ; sont conseillées les bennes de type Friedinger et Ekman-Lenz ; cette dernière peut être actionnée à partir d'un manche télescopique ; elle permet de stratifier l'échantillon de sédiment prélevé.

5.2.1.4. Cas des sédiments fins profonds (> 2 m de profondeur)

Les échantillons de sédiments sont collectés à l'aide d'une benne (cf. § 6.2.3).

5.2.1.5. Cas des sédiments sableux jusqu'à 1 m de profondeur (Annexe 1, planche 4).

L'appareil utilisé est un filet échantillonneur de type Surber (filet de 0,315 mm de vide de maille maximal), de 100 cm² d'ouverture (cadre horizontal). A l'aide d'une petite pelle s'encastant dans l'ouverture du cadre, le sédiment est collecté sur 10 cm d'épaisseur ; celui-ci est retenu par le filet attaché au cadre. Si le filet préconisé pour l'IBGN est utilisé (cadre horizontal de 500 cm²), il suffit d'adapter au cadre vertical une toile de 0,315 mm de vide de maille et de placer, dans le cadre horizontal délimitant la surface à prélever, des entretoises individualisant une surface de 100 cm².

5.2.1.6. Cas des sédiments sableux plus profonds (> 1 m de profondeur)

Les mêmes appareils préconisés pour les sédiments fins profonds sont utilisables (Haveneau ou benne), mais parfois, les bennes ne pénètrent pas dans le sédiment lorsqu'il est trop compact. Les sédiments sableux profonds restent donc un problème pour l'échantillonnage mais ce type de sédiments s'avère relativement rare dans les eaux courantes. En effet, les sédiments grossiers (blocs, pierres, graviers) prédominent très généralement dans la zone profonde du lit mineur des grands cours d'eau, à l'exception des secteurs proches d'un barrage. Le recours à un plongeur actionnant le filet échantillonneur et sa pelle adaptée (cf. § 5.2.1.5) peut être envisagé (Lafont & Durbec, 1990).

5.2.1.7. Appareils nécessaires dans tous les cas (Annexe 1, planche 5)

- Un seau ou une cuvette de 15 litres, pour recueillir les sédiments et l'eau surnageante récoltés avec les appareils de prélèvement ;
- un tamis de 0,315 mm de vide de maille, pour filtrer le surplus éventuel de sédiment et d'eau surnageante. Le refus de tamis est ensuite reversé dans le récipient de récupération ;
- des récipients de récupération des échantillons de sédiment, de 1 à 4 litres, en verre ou en matière plastique, à fermeture hermétique.

5.2.2. Matériel d'extraction (Annexe 1, planches 6 et 7)

L'extraction des oligochètes des sédiments nécessite de disposer du matériel suivant :

- **colonne de 2 tamis** : 1 tamis de 2,5 mm environ ou de 5 mm de vide de maille pour retenir les débris grossiers, 1 tamis de 0,500 mm de vide de maille, dont le refus servira à extraire les oligochètes ;
- **un robinet muni d'une douchette** permettant de régler le débit de l'eau lors de la filtration au laboratoire des sédiments sur la colonne de tamis ;
- **une cuvette à bec** pour effectuer une décantation (dans le cas des sédiments sableux) ;
- **des cuves quadrillées** de sous-échantillonnage (12, 25, 49, 100 cases) ; les dimensions conseillées des cuves font l'objet de l'Annexe 2 (tab.1) ;
- **pipettes** de 5 mm d'ouverture minimale pour aspirer le contenu des carrés dans les cuves quadrillées ;
- **boîtes de Petri** en matière plastique ou en verre (diamètre conseillé : 90 à 100 mm) pour récupérer le contenu des pipettes ; **pincés fines**.
- **loupe binoculaire** (X 4 à 40), avec un éclairage à fibres optiques (conseillé) ;

5.2.3. Matériel de préparation et d'examen des lames en vue d'une observation microscopique (Annexe 1, planche 7).

- **Liquide de montage, verrerie** (lames et lamelles du commerce) ;
- **Platine chauffante** (80°C environ) ;
- **Microscope optique** équipé d'un objectif à immersion (environ X 10 à 600) ; le contraste de phase est optionnel, mais il est conseillé d'utiliser des objectifs à grand champ angulaire.

6. DESCRIPTIF DES OPERATIONS DE TERRAIN : ECHANTILLONNAGE DES SEDIMENTS ET PRE-TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON

6.1. GENERALITES

L'échantillonnage doit être réalisé de préférence en régime permanent d'étiage ou au minimum 10 jours après un épisode de hautes eaux.

Il est nécessaire de s'assurer que les sédiments permanents ont toujours été immergés. Après des événements hydrologiques stressants, comme un assec complet du cours d'eau ou des crues exceptionnelles, les sédiments peuvent présenter, dans des secteurs pollués, une bonne qualité biologique lors des deux premiers mois de remise en eau ou de stabilisation des écoulements (Rosso, 1995). Cette restauration de la qualité des sédiments n'a rien d'anormal et il faut toujours en tenir compte dans un bilan annuel. En revanche, c'est la durée de cette restauration qui peut prendre toute son importance dans un bilan. Il est donc impératif d'attendre environ 2 mois après des événements hydrologiques stressants pour procéder à des prélèvements d'oligochètes.

Les prélèvements sont effectués en priorité dans le sédiment dominant sur une station donnée. En principe, un seul échantillon est réalisé par station. Cependant, si deux types différents de sédiments sont significativement présents sur une station donnée (une vase, un sable vaseux), il est possible d'effectuer deux échantillons par station. Au niveau de l'interprétation, l'information individuelle de chaque relevé sera conservée (pas de moyenne à partir des deux valeurs d'IOBS obtenues).

Pour des raisons de sécurité, si les sédiments à collecter sont (potentiellement) contaminés par des micropolluants ou des agents biologiques pathogènes, il importe de se protéger (port de gants notamment).

Pour chaque opération de terrain, un descriptif de la station, du mode de prélèvement utilisé et de l'aspect des sédiments collectés sera réalisé (cf. fiche terrain, Annexe 3).

Un échantillon est constitué d'au moins 3 prélèvements et d'une surface totale minimale de 100 cm².

6.2. ECHANTILLONNAGE DANS LES SEDIMENTS FINS OU SABLEUX

6.2.1. Prélèvements au carottier

Effectuer au moins 4 à 5 carottages, soit un premier carottage, puis un carottage tous les 30 pas, dans la mesure du possible. Dans le cas de surfaces réduites de sédiments, il peut être effectué 1 prélèvement tous les 10 pas.

Seuls les 8 à 10 premiers centimètres de sédiment sont récupérés. Les prélèvements sont regroupés dans le même récipient de stockage. Dans le cas de la présence d'un excès d'eau surnageante ou de sédiment par rapport au volume du récipient, il est permis d'effectuer sur le terrain une filtration sur un tamis de 0,315 mm de vide de maille pour éliminer cet excès.

Si une couverture d'algues est présente, éviter de prélever sur cette couverture. Si tout le sédiment est recouvert d'algues, cette caractéristique devra être reprise dans l'interprétation des résultats.

6.2.2. Prélèvements au filet échantillonneur de type Surber

Effectuer au moins 3 prélèvements, soit un premier prélèvement, puis un prélèvement tous les 30 pas, dans la mesure du possible. Dans le cas de la présence de surfaces réduites de sédiment, il peut être effectué 1 prélèvement tous les 10 pas. Le sédiment est transféré à l'aide d'une petite pelle quadrangulaire (L = 9,8 cm, l = 9,8 cm), s'encastant dans le cadre horizontal, et permettant de refouler dans le filet 100 cm² de sable sur 10 cm d'épaisseur, soit approximativement 1 litre de sédiment par prélèvement.

Très généralement, la quantité de sédiment récoltée est telle qu'il est nécessaire de se débarrasser de l'excès de sable pour réduire la quantité de prélèvement. En outre, l'excès de sable peut entraîner, notamment lors du transport des récipients de stockage, des phénomènes d'abrasion, avec un broyage du corps des oligochètes les plus fragiles et/ou une cassure des soies. Effectuer alors une première décantation (ou lévigation) dans une cuvette à bec selon le procédé suivant :

Chaque prélèvement est versé dans une cuvette à bec dans laquelle est ajoutée de l'eau. Le contenu de la cuvette (sédiment + eau) est alors agité manuellement. L'eau surnageante, chargée de débris organiques et de faune, est versée sur un tamis de 0,315 mm de vide de maille. Cette opération est répétée au moins 10 fois. Se débarrasser alors du résidu restant dans la cuvette, qui n'est constitué que de particules minérales.

Les trois prélèvements ou les trois refus de tamis (dans le cas d'une décantation) sont transférés dans le même récipient de stockage, en s'aidant au besoin d'une pissette remplie d'eau du robinet ou d'eau du cours d'eau (remplir la pissette avec de l'eau de surface hors de l'endroit où est effectué le prélèvement, pour éviter la contamination du prélèvement par des spécimens d'oligochètes mis en suspension par le déplacement de l'opérateur sur la surface des sédiments).

6.2.3. Prélèvements à la benne

Utiliser la même stratégie d'échantillonnage que précédemment (voir 6.2.2), soit 3 prélèvements (avec un prélèvement tous les 10-30 pas, selon la taille du banc de sédiment prélevable). Lorsque le type de benne le permet, il est intéressant de ne conserver que les 8 à 10 premiers centimètres de sédiment superficiel (cf. possibilité de stratifier le prélèvement de sédiments avec la benne Ekman-Lenz) pour des raisons pratiques (les oligochètes se trouvent essentiellement dans les 10 premiers centimètres du sédiment).

L'utilisation d'une benne nécessite certaines précautions, notamment assurer une descente et une remontée lentes et régulières de l'engin. Ces manipulations peuvent être facilitées par l'emploi d'un treuil. Elles évitent d'accentuer la vague de front au contact du sédiment en place et permettent de minimiser les pertes de vase qui proviendraient d'une remontée trop saccadée. Il est en outre important de sortir la benne de l'eau en la tenant bien verticalement, pour ne pas perturber la couche de surface des sédiments récoltés.

Dans le cas des prélèvements à la benne se pose toujours le problème de la récolte d'un excès de sédiment, chaque relevé ayant un volume supérieur ou égal à 2 ou 3 litres. La réduction du volume de sédiment prélevé est donc nécessaire et s'effectue sur le terrain par une filtration sur un tamis inox de 0,315 mm de vide de maille.

Lors de cette filtration, le colmatage éventuel des mailles du tamis par des particules fines est évité en tapotant avec la main le dessous du tamis et en le heurtant sur la surface de l'eau du cours d'eau, ou sur celle d'un récipient à large ouverture rempli d'eau du cours d'eau (se servir de gants).

6.2.4. Prélèvements au Haveneau

Chaque raclage au Haveneau est réalisé approximativement sur une longueur de 30 cm. Dans la mesure où l'estimation du nombre d'oligochètes n'est pas nécessaire au calcul de l'IOBS, cette approximation n'est pas un facteur limitant la méthode. Le Haveneau constitue l'appareil de prélèvement le moins conseillé mais parfois le plus rustique et le seul utilisable, notamment dans le cas de sédiments sableux à -2m de profondeur.

Effectuer 3 prélèvements, répartis tous les 10-30 pas, selon l'importance du banc de sédiment prospecté et il est presque toujours indispensable de réduire la taille du prélèvement (voir 6.2.2).

6.3. PRE-TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON SUR LE TERRAIN ET CONDITIONNEMENT POUR LE TRANSPORT

Sur le terrain, ajouter au récipient de stockage une quantité de formol permettant d'obtenir une concentration finale de formaldéhyde dans le récipient d'environ 5 % (v/v). Il faut donc apprécier approximativement le volume de prélèvement dans le récipient et connaître avec certitude la concentration de la solution de formaldéhyde du commerce utilisée (en général 30 ou 40%). Il peut être nécessaire de s'aider d'un flacon gradué de 300 cm³ pour maîtriser la quantité de formaldéhyde ajoutée au sédiment.

Il est indispensable de bien assurer l'homogénéisation de la fixation, notamment dans le cas de sédiments fins, sinon le formaldéhyde reste en surface et les couches profondes du prélèvement peuvent se décomposer dans le récipient de stockage. Il importe d'agiter le récipient horizontalement et verticalement, notamment par des rotations de 180 degrés. Dix agitations horizontales et 10 rotations sont suffisantes. Dans le cas de sédiments sableux, les rotations doivent être effectuées doucement, pour éviter les phénomènes d'abrasion des particules sableuses sur les oligochètes (cf. § 6.2.2).

Attention.

1 - L'opérateur doit impérativement mettre des lunettes de protection, enfiler des gants et se munir d'un masque de protection nasale, pour se prémunir contre les projections éventuelles de formaldéhyde ou de prélèvement fixé lors de toutes les opérations de fixation sur le terrain.

2 - Pour des raisons de sécurité, les récipients doivent être hermétiques et enfermés dans une caisse elle-même hermétique, pour éviter que des vapeurs de formaldéhyde incommodent les agents lors du transport, les vapeurs de formaldéhyde, même diluées, étant toxiques à respirer et irritantes pour les yeux.

Se conformer en tout point aux normes de sécurité en vigueur concernant l'utilisation du formaldéhyde.

7. OPERATIONS DE LABORATOIRE - MODE OPERATOIRE

Les opérations suivantes, effectuées au laboratoire, doivent être réalisées sous une hotte aspirante ou un extracteur de vapeurs afin d'éviter l'inhalation des vapeurs de formaldéhyde, en respectant toutes les consignes de sécurité (cf. paragraphe précédent).

7.1. TAMISAGE DES SEDIMENTS

Le tamisage de l'échantillon fixé s'effectue sur une colonne de deux tamis (Annexe 1, planche 6). Le premier tamis a une maille de 2,5 à 5 mm et sert à éliminer les grosses particules minérales et organiques, notamment les débris végétaux grossiers. Il retient éventuellement des oligochètes de grande taille, qu'il conviendra de retirer à la pince pour les incorporer au refus du deuxième tamis. Le deuxième tamis a une maille de 0,500 mm et c'est sur son refus que s'effectuera l'extraction des oligochètes.

7.1.1. Cas des sédiments fins

Effectuer un tamisage sur la colonne de deux tamis en eau courante à débit modéré selon la procédure suivante. Après avoir versé le liquide surnageant sur la colonne de tamis, le sédiment est versé progressivement sur la colonne et lavé sous le jet modéré d'une douchette pour éliminer le formaldéhyde et les particules fines. Les particules fines colmatent parfois le dernier tamis. Empêcher ce colmatage en tapotant de manière répétée le dessous du tamis pour désagréger mécaniquement les agrégats.

L'utilisation d'un agent défloculant (hexamétaphosphate de sodium par exemple) est recommandée dans le cas de vases très limoneuses. Un certain volume d'hexamétaphosphate de sodium (50 à 100 cm³) est alors incorporé au prélèvement avant tamisage. Après quelques minutes d'attente, tamiser les sédiments (lavage des sédiments sur la colonne de tamis), ce qui permet de se débarrasser du formaldéhyde, de l'agent défloculant et des agrégats de particules fines.

7.1.2. Cas des sédiments sableux

Verser d'abord le liquide surnageant du récipient chargé de formaldéhyde sur la colonne des deux tamis citée dans le 7.1. Puis procéder, comme sur le terrain, à une **lévigation** : le substrat est placé dans une cuvette à bec (Annexe 1, planche 6) et agité sous le jet d'une douchette à débit modéré ; lorsque la cuvette est pleine, l'eau surnageante, chargée de débris organiques et de faune, est versée sur la colonne de 2 tamis ; cette opération doit être répétée au moins 10 fois. Se débarrasser ensuite du résidu restant dans la cuvette.

7.2. TECHNIQUES DE COLORATION (FACULTATIVES)

Une **coloration** peut être effectuée sur l'échantillon (avant ou après tamisage) afin de faciliter ultérieurement l'extraction des oligochètes de petite taille. La coloration est réalisée en ajoutant à l'échantillon une solution d'éosine aqueuse à 2 %, à raison de 100 ml par litre d'échantillon. Une coloration stable est obtenue au bout de 15 minutes. Les oligochètes sont colorés en rouge, alors que les débris végétaux ne prennent pas la coloration et que les autres invertébrés se révèlent relativement peu colorés. Il est alors nécessaire de rincer le prélèvement sur un tamis de 0,500 mm de vide de maille, ce qui permet de se débarrasser de l'excès d'éosine.

7.3. EXTRACTION DES OLIGOCHETES

L'utilisation d'une hotte aspirante n'est plus nécessaire, le formaldéhyde ayant été éliminé et le liquide de montage utilisé par la suite n'étant pas toxique. Quel que soit le type de sédiment considéré, l'extraction des oligochètes s'effectue sur le refus du dernier tamis (0,500 mm de

vide de maille), refus auquel ont été éventuellement incorporé les oligochètes accrochés aux mailles du premier tamis (2,5 ou 5 mm de vide de maille).

Le refus est rassemblé à l'aide de la douchette à débit modéré sur le bord du tamis et versé dans des cuves de sous-échantillonnage à l'aide d'une pissette remplie d'eau du robinet. Ces cuves ont un format carré ou rectangulaire et leur fond est compartimenté en cases carrées de surface égale (Annexe 1, planche 7). Chaque boîte est munie d'un couvercle étanche. Une série de 4 boîtes comportant 12, 25, 49 ou 100 cases permet d'avoir toujours une dimension compatible avec le volume de matériel à examiner (Annexe 2, tab.1).

Le refus du tamis est versé dans la cuve choisie dans laquelle est ajoutée un peu d'eau du robinet, de sorte que le niveau de l'eau ne dépasse le niveau du quadrillage que de 5 mm environ au maximum. La cuve fermée par son couvercle est alors agitée vigoureusement 50 fois pour homogénéiser le contenu. Laisser ensuite le matériel décanter pendant au moins 5 minutes.

L'emplacement des cases à examiner doit être choisi au hasard, à l'aide d'une table de nombres aléatoires par exemple (cf. Annexe 2, tab. 2). Prélever le contenu de chaque case choisie à l'aide d'une pipette de 8 à 10 mm d'ouverture. Le contenu de la pipette est transféré dans une boîte de Petri.

Le contenu de la boîte de Petri est examiné avec une loupe binoculaire au cours de 2 passages au grossissement moyen (X10) sur fond noir et éclairage latéral (conseillés), et les oligochètes sont extraits avec une pince fine (Annexe 1, planche 7). Examiner ainsi des cases successives jusqu'à l'obtention d'un total de 100 oligochètes identifiables.

Remarque : Les oligochètes triés peuvent être conservés soit dans de l'éthanol à 75 % , soit dans du formaldéhyde à 3%, soit directement préparés en vue d'un examen microscopique. Dans les deux premiers cas, il est conseillé d'immerger les oligochètes dans un bain d'eau pendant 24h avant le montage entre lame et lamelle.

A l'occasion des opérations de tamisage et d'extraction des oligochètes, une description sommaire des caractéristiques de la structure du sédiment sera effectuée (fiche laboratoire, Annexe 3).

7.4. MONTAGE DES OLIGOCHETES ENTRE LAME ET LAMELLE

Les 100 oligochètes extraits de la boîte de Petri doivent être déposés sur une lame dans un milieu de montage constitué d'un mélange à parts égales de glycérine et d'acide lactique pur.

Ils doivent être déposés sur la lame si possible en position latérale pour permettre l'observation sur le même champ des faisceaux de soies dorsaux et ventraux. Les oligochètes sont regroupés selon leur taille sur des lames séparées, à raison de 8 (gros exemplaires) ou de 25 spécimens (petits exemplaires) par lame.

Les lames sont alors recouvertes par une lamelle et mises à chauffer sur une platine chauffante à environ 80°C pendant au moins 30 minutes (Annexe 1, planche 7). Ce chauffage

est indispensable pour assurer l'éclaircissement des individus avant détermination au microscope.

7.5. EXAMEN MICROSCOPIQUE

La détermination des taxons d'oligochètes montés sur les lames s'effectue à l'aide d'un microscope, équipé si possible d'un contraste de phase, et permettant un grossissement de X10 à X1000 (objectif à immersion). Cependant, en principe, le recours à l'immersion n'est pas indispensable pour des déterminations de routine. Des clés de détermination sont disponibles, mais les plus complètes et les plus pratiques sont en anglais. Un ouvrage en français, adapté à l'IOBS, est cependant en cours d'élaboration. On citera les ouvrages suivants, les plus accessibles étant notés avec un astérisque (*) :

Sperber, 1950(*) ; Nielsen & Christensen, 1959 ; 1961 ; 1963 (ces trois derniers travaux sont les moins inaccessibles sur la difficile famille des Enchytraeidae, mais commencent à dater ; Cekanovskaya, 1962 ; Brinkhurst, 1971(*) ; Brinkhurst & Jamieson, 1971 ; Brinkhurst & Wetzel, 1984 ; Klemm, 1985(*) ; Lafont, 1983(*) ; Rodriguez, 1984(*) (clés en espagnol).

7.6. NOMBRE D'OLIGOCHETES EXAMINES

Le calcul de l'IOBS s'effectue sur la base de l'examen de 100 oligochètes identifiables. Il arrive très fréquemment que les oligochètes soient sectionnés lors des opérations de tamisage.

De façon générale, seuls les fragments correspondant à la partie antérieure du ver (prostomium + une vingtaine de métamères) sont conservés et montés entre lame et lamelle. Mais certaines espèces ne sont identifiables que si la partie postérieure est intacte (exemple des espèces possédant des branchies). Dans le cas particulier des Naididae en cours de bourgeonnement, ne dénombrer et ne monter que les individus souches (c'est-à-dire les individus possédant une partie antérieure complètement formée).

Pour chaque prélèvement, à partir du nombre de cases examinées dans la boîte de sous-échantillonnage pour obtenir 100 oligochètes, le nombre total N d'individus est estimé dans le prélèvement par simple règle de trois. A partir de ce nombre N, et en fonction de la surface échantillonnée sur le terrain, la densité des vers est ramenée à une surface unitaire de **0,1 m²**.

Le plus fréquemment, les 100 individus extraits ne correspondent pas à un nombre entier de cases. Dans ce cas, il faut terminer le comptage des oligochètes dans la case en cours d'examen pour estimer le nombre N par échantillon.

La densité en oligochètes pour 0,1 m² peut être calculée à partir de la formule suivante :

$$D = \frac{N \times C \times 0,1}{c \times X}$$

Où

D est la densité en oligochètes pour 0,1 m² ;

N est le nombre d'oligochètes dans les c cases prospectées ;

- c est le nombre de cases prospectées ;
- C est le nombre total de cases de la cuve de sous-échantillonnage ;
- X est la surface échantillonnée en m².

8. DETERMINATION DE L'IOBS

8.1. CALCUL DE L'IOBS

La qualité biologique des sédiments est appréciée par l'IOBS. Cet indice est de la forme :

$$\text{IOBS} = 10 \times S \cdot T^{-1}$$

S : nombre total de taxons identifiés parmi les 100 oligochètes

T : pourcentage du groupe dominant de Tubificidae, avec ou sans soies capillaires, adultes et immatures confondus.

IMPORTANT — Ne pas comptabiliser dans le calcul du nombre d'espèces S les individus non reconnaissables à l'état immature si dans le groupe considéré, des espèces seulement reconnaissables à l'état mature sont présentes.

La valeur IOBS = 0 est attribuée par défaut à tout prélèvement ne renfermant pas d'oligochètes ; lorsque **T = 0**, par convention **IOBS = 10 S**.

Si le nombre d'oligochètes dans l'échantillon est inférieur à 100, l'IOBS est égal à NC (Non Calculable).

Un exemple de données obtenues et de calcul de l'IOBS figure en annexe 4.

8.2. ABAQUE D'INTERPRETATION DE L'INDICE IOBS

L'analyse des valeurs de l'IOBS est complétée par l'examen des pourcentages de Tubificidae sans soies capillaires, décrivant un effet des micropolluants (métaux et/ou PCB) pour des valeurs > 60 %. L'ensemble des résultats (IOBS, classes de qualité biologique et pourcentages de Tubificidae sans soies capillaires) est présenté sous forme d'un abaque. Un exemple d'utilisation de l'abaque dans le bassin Adour-Garonne est présenté (fig. 1).

| Classes de qualité (couleurs) | Valeurs de l'indice IOBS | Niveau de qualité biologique des sédiments |
|-------------------------------|--------------------------|--|
| Bleu | $> \text{ou} = 6$ | Très bon |
| Vert | $3 \leq \text{IOBS} < 6$ | Bon |
| Jaune | $2 \leq \text{IOBS} < 3$ | Moyen |
| Orange | $1 \leq \text{IOBS} < 2$ | Médiocre |
| Rouge | $\text{IOBS} < 1$ | Mauvais |

Tableau 1. Classes de qualité biologique des sédiments établies à l'aide de l'indice IOBS ;

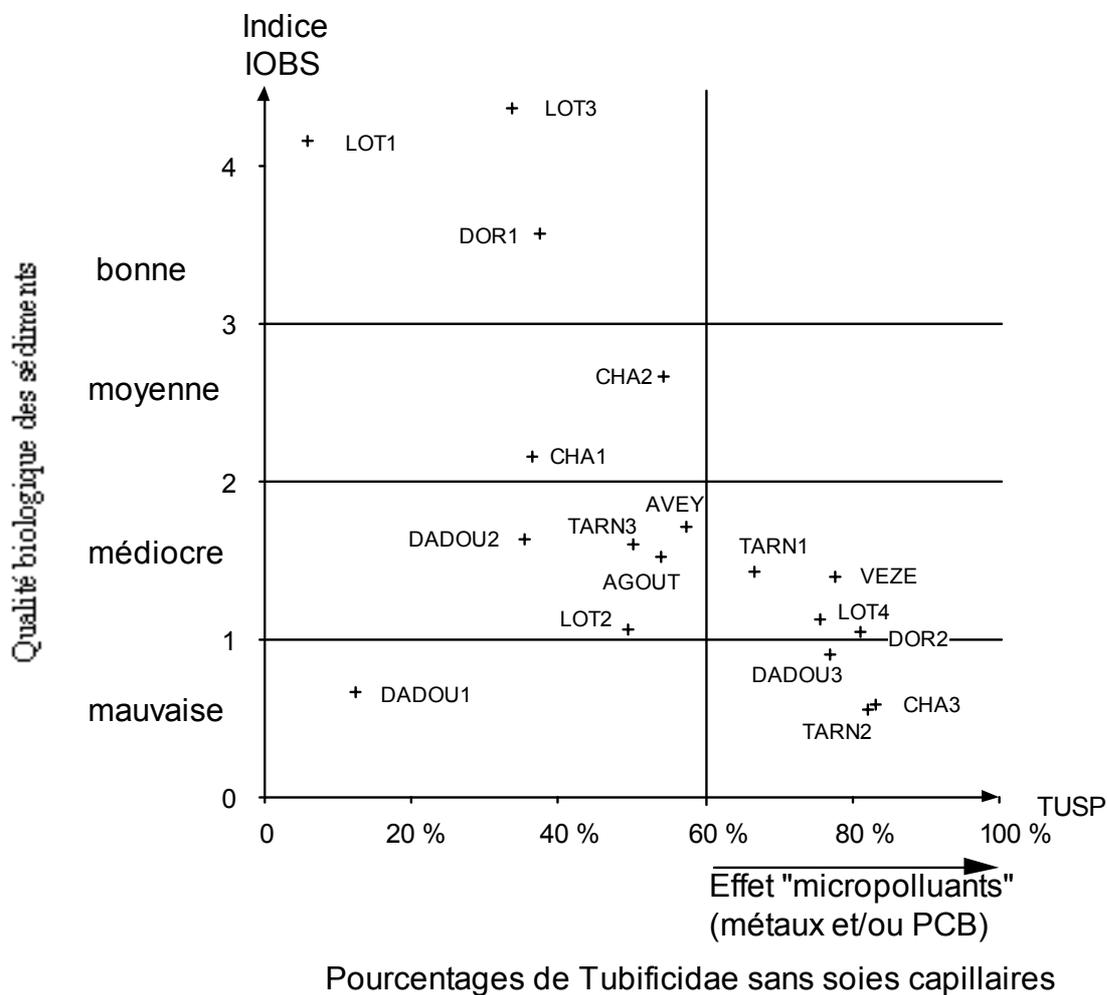


Figure 1. Exemple d'abaque de présentation des résultats de l'examen des peuplements d'oligochètes dans le bassin Adour-Garonne ; qualité biologique des sédiments et incidence suspectée des substances à caractère toxique ; AVEY : Aveyron ; CHA : Charente ; DOR : Dordogne ; VEZE : Vézère ; les autres cours d'eau sont inscrits en clair (Tarn, Dadou etc.) ; (d'après Rosso-Darmet *et al.*, 1997 ; 1998).

9. RAPPORT D'ESSAIS

Le rapport d'essai doit contenir les indications suivantes (Annexes 5, 6, 7) :

- a) la date de prélèvement
- b) la localisation géographique précise du site : nom du cours d'eau et du bassin versant, commune, code hydrographique, emplacement précis de la station (carte ou schéma précis)
- c) la description de la station étudiée, la description des sédiments présents, (nature, odeur, pourcentage estimé de recouvrement des sédiments ayant fait l'objet d'un prélèvement, etc)
- d) tout écart au protocole d'échantillonnage et/ou au protocole d'extraction, de montage et de détermination, tout incident survenu au cours des différentes manipulations de terrain et de laboratoire, accompagnés des justifications correspondantes
- e) toute information susceptible d'aider à l'interprétation des résultats (travaux d'aménagement en cours, conditions climatiques ou hydrauliques exceptionnelles, etc)
- f) par station, une fiche comportant la valeur de l'IOBS, le nombre de taxons (*S*), le pourcentage du groupe dominant dans la famille des Tubificidae avec ou sans soies capillaires (*T*), le pourcentage de Tubificidae sans soies capillaires (*TUSP*), la densité en oligochètes (*D*) (le cas échéant) (modèle en Annexe 5)
- g) par station, la liste faunistique complète ; elle n'est pas nécessaire au calcul de l'indice IOBS, mais indispensable à conserver notamment en cas de vérification ;
- h) tout détail opératoire non prévu dans le présent document ou facultatif et les incidents susceptibles d'avoir influé sur les résultats.
- i) (optionnel) par station, une fiche d'interprétation des résultats (Annexe 6) ; on peut s'aider du schéma d'évaluation du risque écotoxicologique *in situ* (Annexe 7) ;

10. TRAVAUX CITES

- Avel M., 1959. Classe des Annélides Oligochètes. In : « *Précis de Zoologie* », P.P. GRASSE, Masson, Paris, V : 224-470.
- Brinkhurst, R.O., 1971. A guide for the identification of British Aquatic Oligochaeta. *Sci. Publ. Freshwat. Biol. Ass., Ambleside*, 22 : 55 p.
- Brinkhurst R. O. & B. G. M. Jamieson, 1971. Aquatic Oligochaeta of the world. Oliver and Boyd, Edinburgh : 860 p.
- Brinkhurst, R.O. & M.J. Wetzel, 1984. Aquatic Oligochaeta of the World: supplement. A catalogue of new freshwater species, descriptions, and revisions. *Can. Tech. Rep. Hydrogr. Ocean Sci.*, 44: 1-101.
- Cekanovskaya, O. V., 1962. Aquatic oligochaeta of the USSR. In : Keys to the fauna of the USSR. *Academy of Sciences, USSR, Moscow and Leningrad*, 78 : 1-411. (Translation Amer. Publ. Co., New Dehli : 505 p.)
- Cemagref, 1982. Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux . *Rapport Cemagref DQEPP, Lyon* : 218 p.
- Giani N., 1984. Contribution à l'étude de la faune d'eau douce et plus particulièrement des Oligochètes. II - les Oligochètes aquatiques: taxinomie, répartition et écologie. *Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Univ. P. Sabatier, Toulouse*: 173 p. + annexes.
- J. O. CE (1999) Position commune (CE) N° 41/1999, arrêtée par le Conseil du 22 octobre 1999. In : *J.O. CE, France* : C 343/1-343/72.
- Juget J. & M. Lafont, 1982. L'échantillonnage de la faune benthique : revue des techniques de prélèvement, d'extraction et de tri ; application aux oligochètes. *Sciences de l'Eau*, 1 : 243-254.
- Juget J. & M. Lafont, 1994. Theoretical habitat templates, species traits, and species richness: aquatic Oligochaetes in the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwat. Biol.*, 31: 327-340.
- Klemm, D. J., 1985. A guide to the freshwater Annelida (Polychaeta,, Naidid and Tubificid Oligochaeta, and Hirudinea) of North America. *Kendall/Hunt, Iowa* : 198 p.
- Lafont M. 1983 - Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentale françaises. 3 : Annélides Oligochètes. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon* 52 (4) : 108-135.
- Lafont M., M. Coste, J.-G. Wasson & B. Faessel, 1988. Comparaison de quatre indices biologiques pour apprécier l'impact de la pollution dans des cours d'eau français. *Naturalist Can. (Rev. Ecol. Syst.)*, 115 : 77-87.
- Lafont M., 1989. Contribution à la gestion des eaux continentales : utilisation des oligochètes comme descripteurs de l'état biologique et du degré de pollution des eaux et des sédiments. *Thèse de Doctorat ès Sciences, Université Lyon I* : 311 p.
- Lafont M. & A. Durbec, 1990. Essai de description biologique des interactions entre eau de surface et eau souterraine : application à l'évaluation de la vulnérabilité d'un aquifère à la pollution d'un fleuve. *Annals. Limnol.* 26 : 119-129.

- Lafont M. & S. Bernoud, 1999. Bilan sur les indices oligochètes (IOBS et % de Tubificidae sans soies capillaires) – Intérêt et modalités d'intégration dans le SEQ-Biologie – Phase A : Bilan des applications. *Rapport InterAgences/Cemagref*: 32 p.
- Martinez-Ansemil E., 1993. Etude sur les Oligochètes aquatiques des pays du pourtour de la Méditerranée : taxonomie, phylogénie, biogéographie et écologie. *Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Univ. P. Sabatier Toulouse* : 197 p.
- Nielsen, C.O. & B. Christensen, 1959. The Enchytraeidae. Critical revision and taxonomy of European species. *Natura Jutl.*, 8-9 : 1-160.
- Nielsen, C.O. & B. Christensen, 1961. The Enchytraeidae. Critical revision and taxonomy of European species. *Natura Jutl., Suppl. 1*, 10 : 1-23.
- Nielsen, C.O. & B. Christensen, 1963. The Enchytraeidae. Critical revision and taxonomy of European species. *Natura Jutl., Suppl. 2*, 10 : 1-19.
- Nixon S.C., C. P. Mainstone, T. Moth Iversen, P. Kristensen, E. Jeppesen, N. Friberg, E. Papathanassiou, A. Jensen & F. Pedersen, 1996. The harmonised monitoring and classification of ecological quality of surface waters in the European Union, final report. *DG XI, Report No CO 4150, WRc*: 293 p.
- Prygiel J, A. Rosso-Darmet, M. Lafont, C. Lesniak, A. Durbec & B. Ouddane, 1999. Use of Oligochaete communities for assessment of ecotoxicological risk in fine sediment of rivers and canals of the Artois-Picardie water basin (France). *Hydrobiologia*, 410 : 25-37.
- Rodriguez, P., 1984. Estudio taxonómico de los oligochetos acuáticos del País Vasco y Cuenca alta del Ebro y caracterización de las comunidades de los ríos Nervion y Butron (Viscaya). *Memoria para optar el grado de doctor en Ciencias biológicas, Universidad del País Vasco* : 362 p.
- Rosso A., 1995. Description de l'impact des micropolluants sur les peuplements d'oligochètes des sédiments de cours d'eau du bassin versant de l'Ill (Alsace). Elaboration d'une méthode biologique de diagnostic de l'incidence des micropolluants. *Thèse de Doctorat, Université Lyon I* : 248 p.
- Rosso A., M. Lafont & A. Exinger, 1993. Effets des métaux lourds sur les peuplements d'oligochètes de l'Ill et de ses affluents (Haut-Rhin, France). *Annls Limnol.*, 29 (3-4) : 295-305.
- Rosso A., M. Lafont & A. Exinger, 1994. Impact of heavy metals on benthic oligochaete communities in the river Ill and its tributaries. *Wat. Sci. Technol.*, 3 : 241-248.
- Rosso-Darmet A., Lafont M. & Mouthon J., 1997. Utilisation des peuplements d'oligochètes et de mollusques comme descripteurs du degré de pollution des sédiments. *Agence de l'Eau Adour-Garonne/Cemagref/BELYI* : 34 p + annexe.
- Rosso- Darmet A., Rebillard J. P. & Lafont M., 1998. Ces vers qui nous surveillent. *Adour-Garonne*, 74 : 23-27.
- Sperber, C., 1950. A guide for the determination of European Naididae. *Zool. Bidr. Upps.*, 29 : 45-78.

ANNEXE 1

PLANCHES 1 à 7

BURGEAP

19, rue de la Villette
69425 LYON CEDEX 03
TEL : 04 37 91 20 50
FAX : 04 37 91 20 69

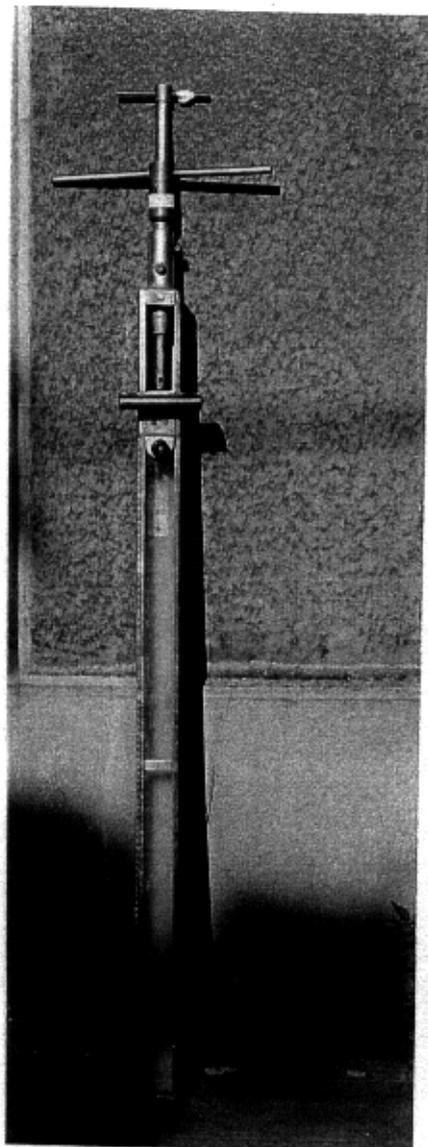
GUIDE METHODOLOGIQUE

Planche 1

CAROTTIER DE TYPE ROFES - SAVARY

RLy. 654

A. 7044



Vue générale

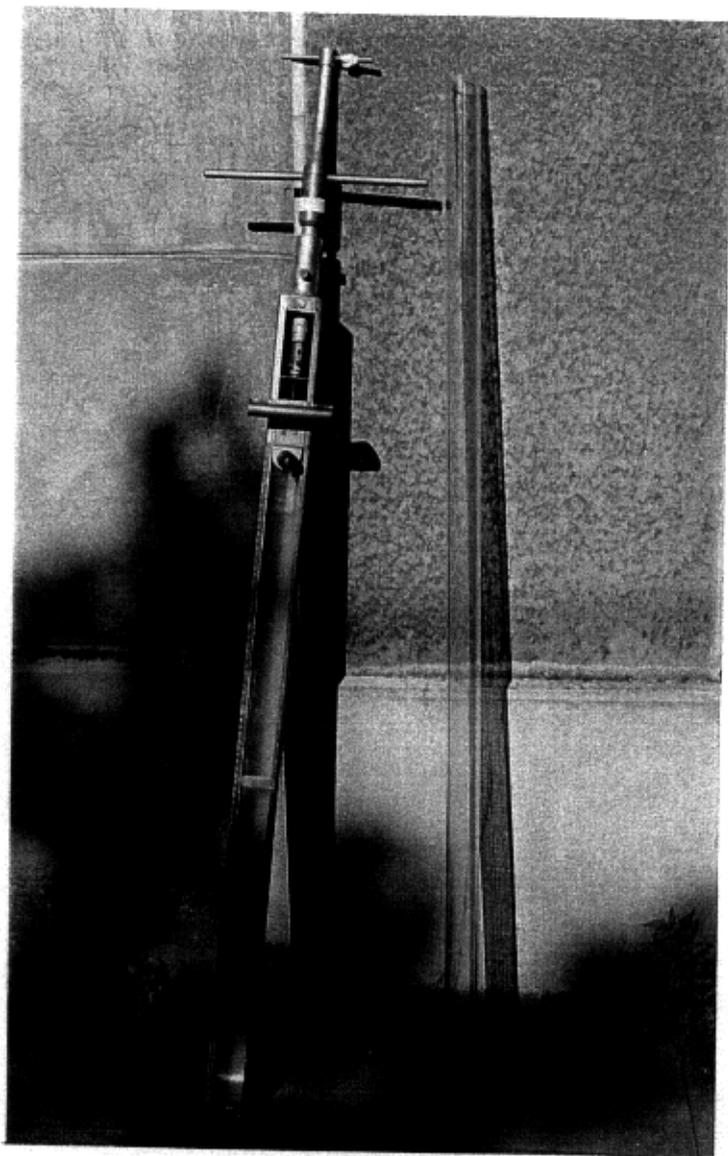
*Recueil des 8 à 10 premiers centimètres de
sédiment dans un récipient de récupération
(cuvette)*



CAROTTIERS

RLy. 654

A. 7044



- à gauche, carottier de type Rofès - Savary
- à droite, tube en altuglass

*Carotte de sédiment collectée à l'aide d'un tube en altuglass ;
obstruction de la partie basse à l'aide de la paume de la main*

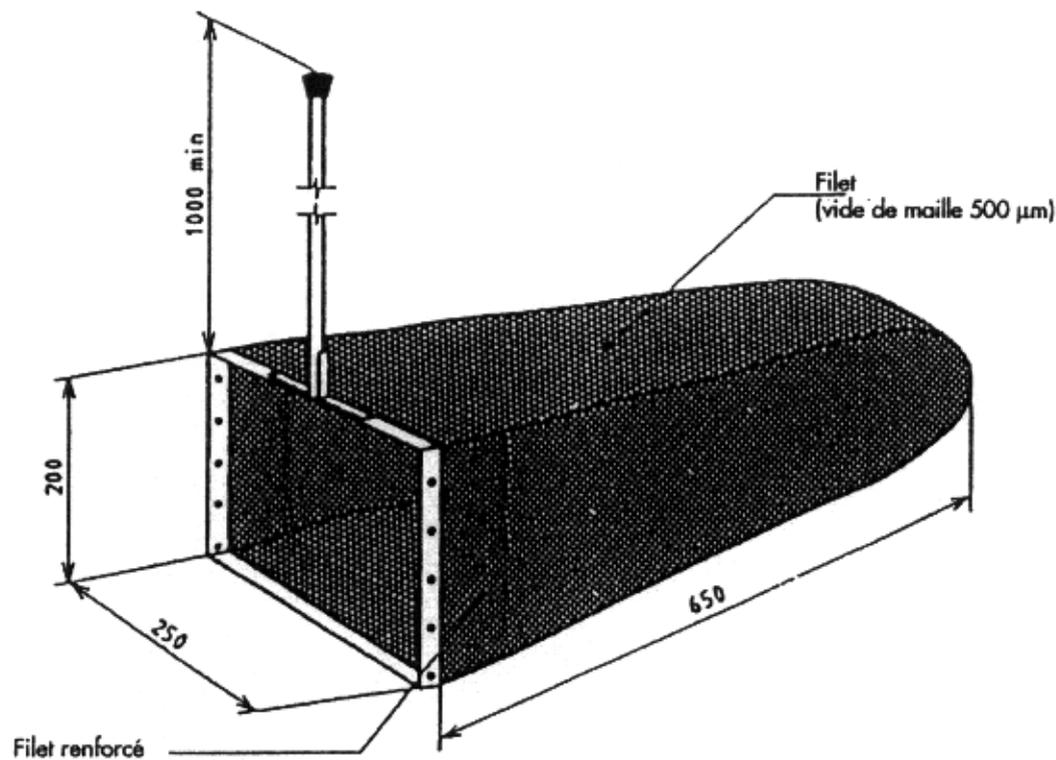


HAVENEAU DE TYPE IBGN ET BENNES DE TYPE FRIEDINGER ET EKMAN-LENZ

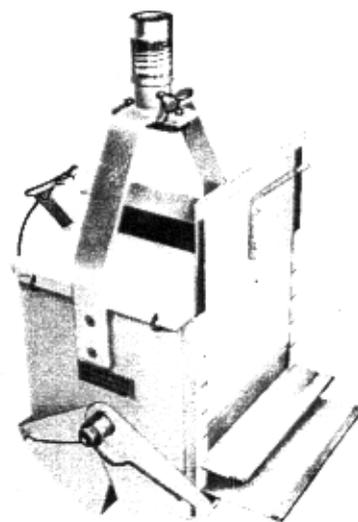
RLy. 654

A. 7044

*Schéma d'un échantillonneur de type "Haveneau" utilisé pour l'IBGN (cotes données en mm)
(extrait de la norme AFNOR T90-350 - déc. 1992)
Pour l'indice IOBS, le haveneau doit être muni d'un filet de 0,315 mm de vide de maille au maximum*



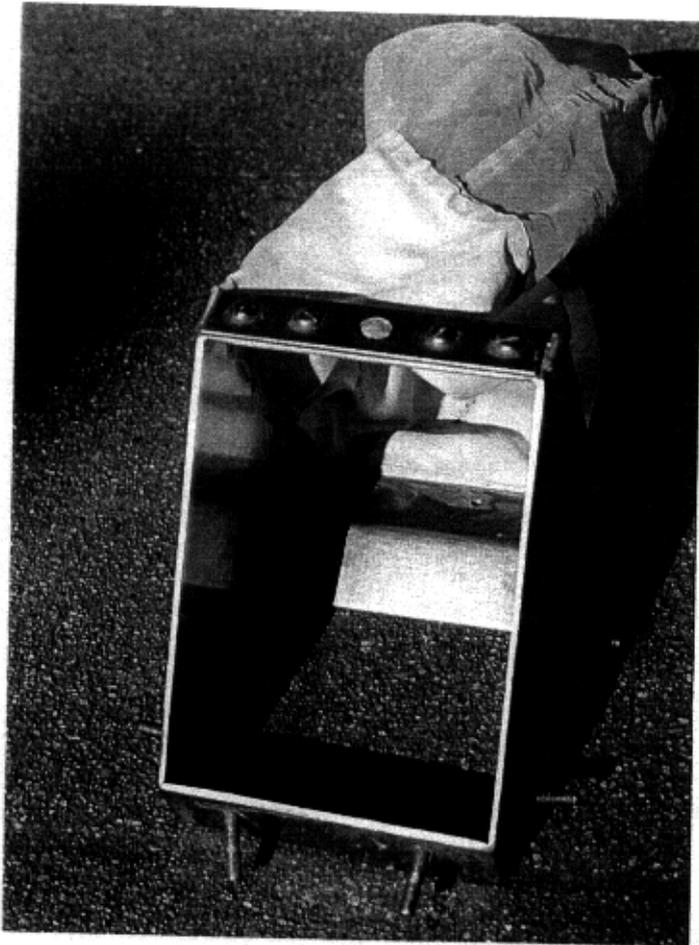
Bennes de type Friedinger (à gauche) et Ekman-Lenz (à droite)



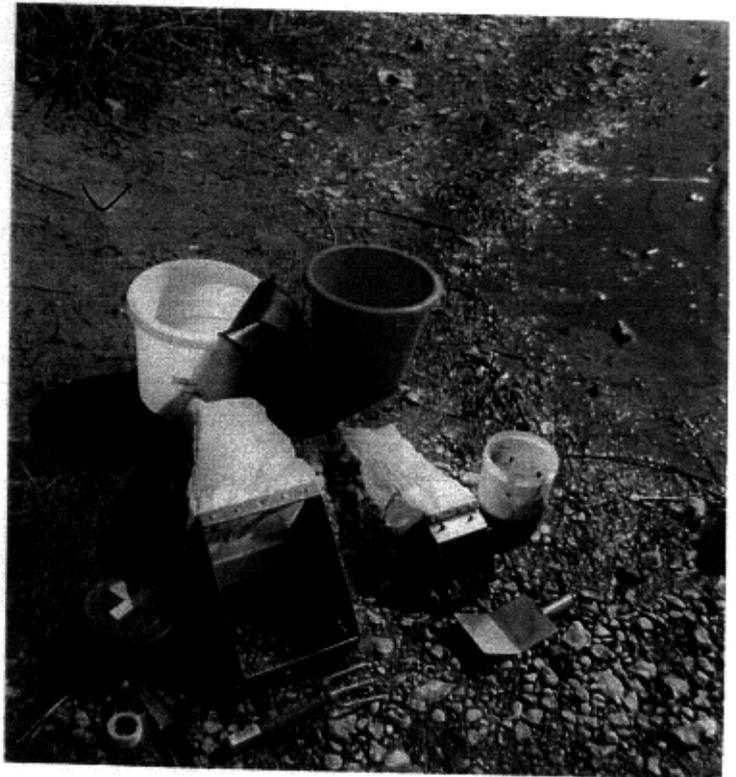
**FILET ECHANTILLONNEUR
DE TYPE SURBER**

RLy. 654

A. 7044



*Filet de type Surber
(cadre horizontal de 100 cm² d'ouverture ;
filet de 0,315 mm de vide de maille)*



*Appareils nécessaires
pour les prélèvements au Surber :*

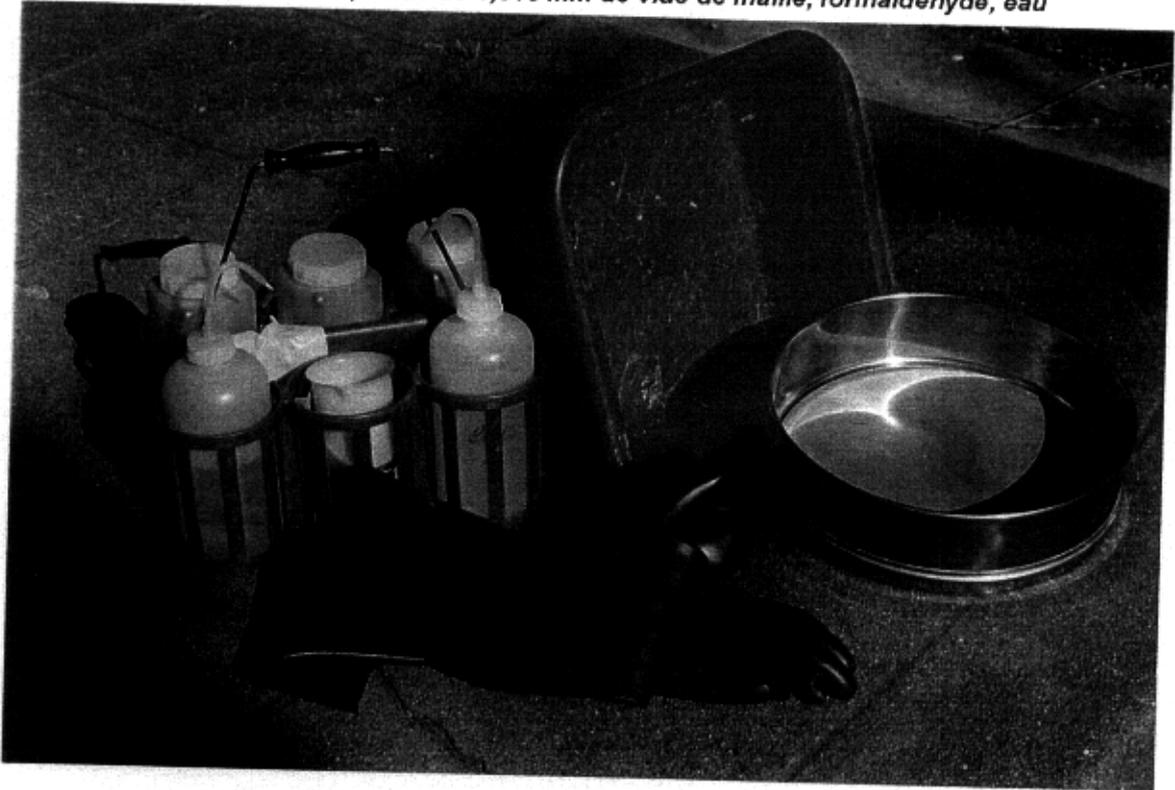
- pelle, récipient de récupération, gants
- à gauche, filet de type IBGN devant être muni d'entretoises et d'un filet de 0,315 mm de vide de maille

MATERIELS DE TERRAIN NECESSAIRES EN TOUTE SITUATION

RLy. 654

A. 7044

gants, bassine, tamis de 0,315 mm de vide de maille, formaldéhyde, eau



Tamisage des sédiments in situ (tamis de 0,315 mm de vide de maille)



MATERIEL NECESSAIRE A LA LEVIGATION, AU TAMISAGE ET AU LAVAGE DES SEDIMENTS

RLy. 654

A. 7044

Vue globale du matériel :
colonne de 2 tamis, robinet muni d'une douchette, cuvette à bec



Vue détaillée de la colonne de 2 tamis :
-un tamis de 2,5 mm ou 5 mm de vide de maille pour retenir les débris grossiers
-un tamis de 0,500 mm de vide de maille dont le refus servira à l'extraction des oligochètes



BURGEAP

19, rue de la Villette
69425 LYON CEDEX 03
TEL : 04 37 91 20 50
FAX : 04 37 91 20 69

GUIDE METHODOLOGIQUE

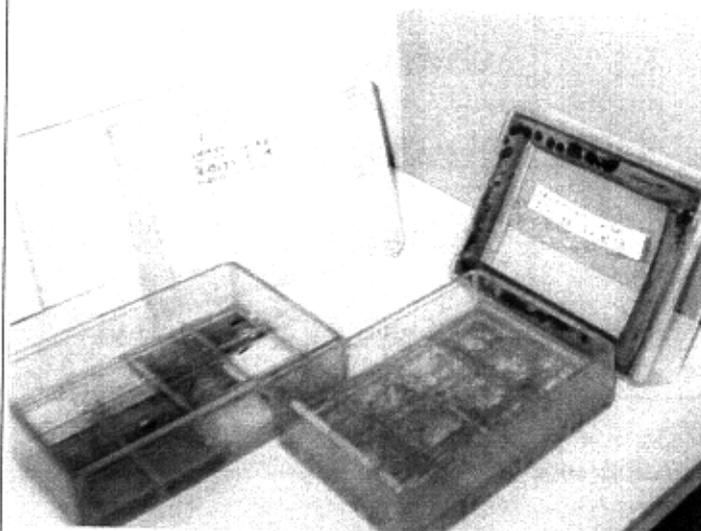
Planche 7

MATERIEL DE LABORATOIRE

RLy. 654

A. 7044

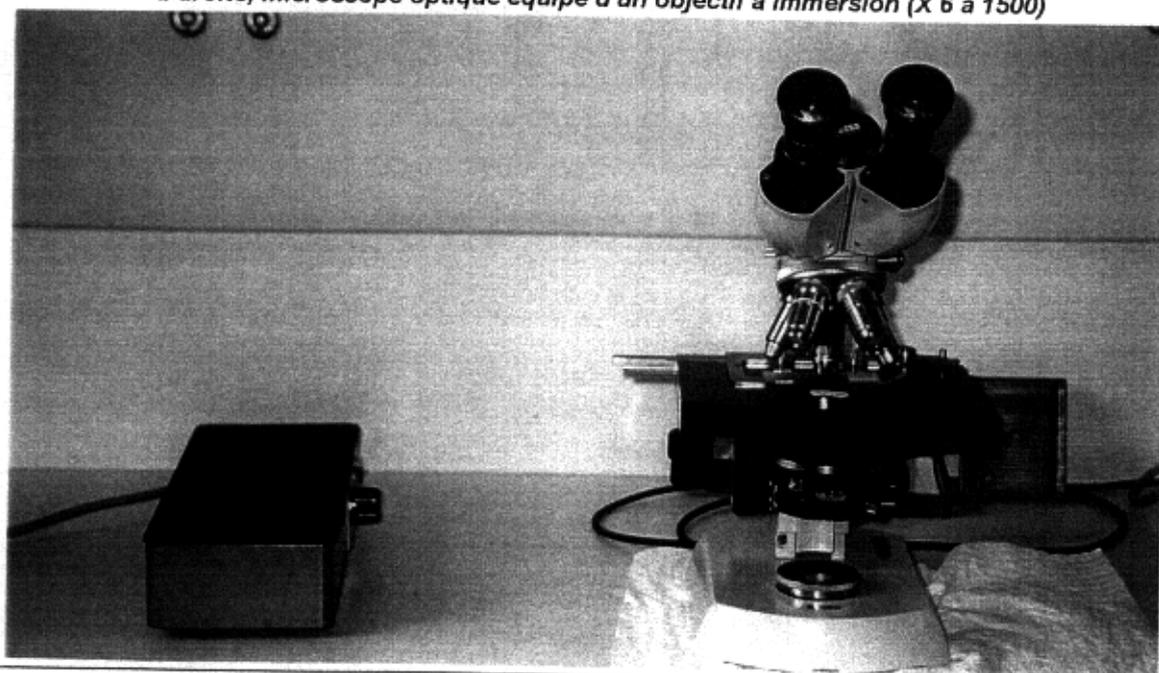
Cuves quadrillées de sous-échantillonnage



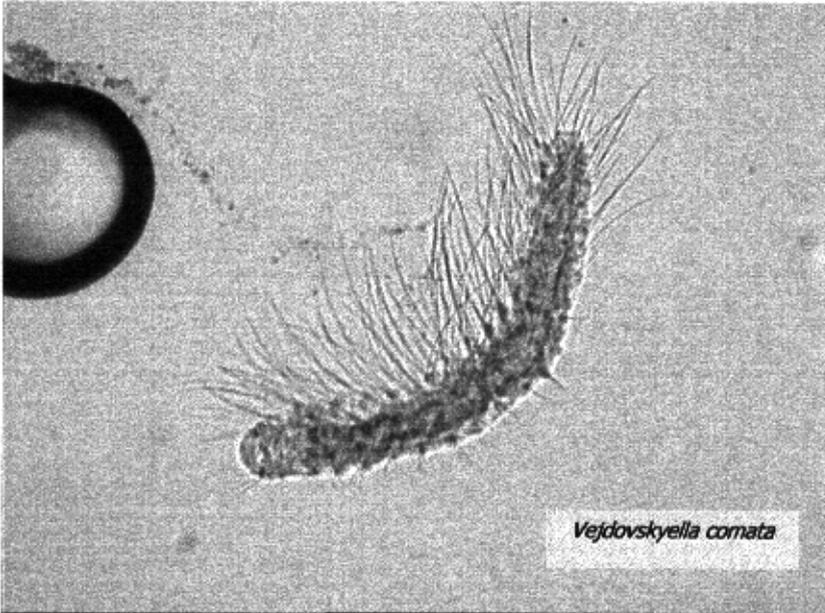
*Loupe binoculaire
(X 4 à 40) avec éclairage à fibres
optiques*



*à gauche, platine chauffante (80°C)
à droite, microscope optique équipé d'un objectif à immersion (X 6 à 1500)*



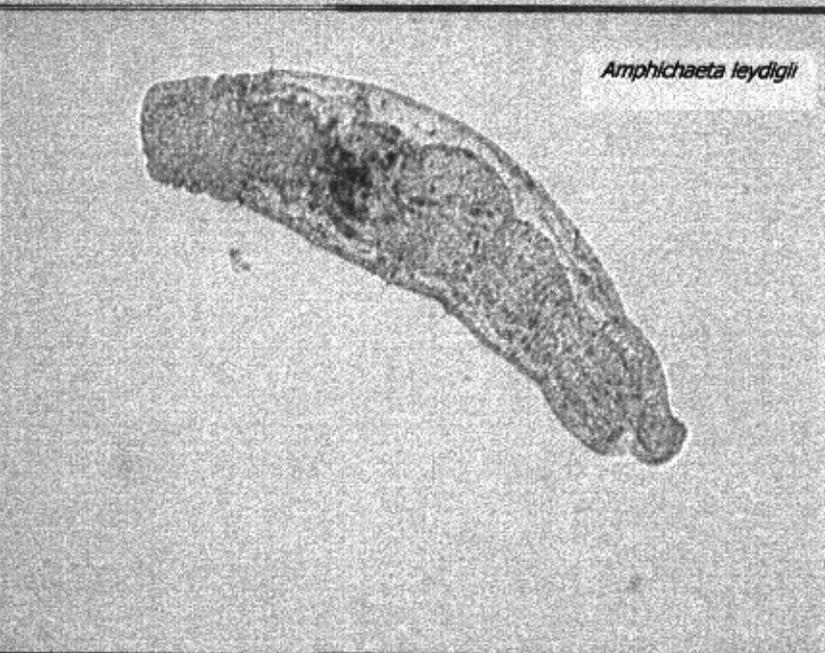
OLIGOCHETES (NAIDIDAE)



Vejdovskyella comata



Chaetogaster diastrophus



Amphichaeta leydigii

ANNEXE 2

| Nombre de cases | Dimensions intérieures Lx1xh (mm) | Volume approx. (litres) | Dimension des cases Lx1xh (mm) | Volume des cases approx. cm ³ |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--|
| 12 (4x3) | 180x135x50 | 1,2 | 42x42x12 | 21 |
| 25 (5x5) | 200x200x40 | 1,6 | 36x36x10 | 13 |
| 49 (7x7) | 245x245x50 | 3 | 33x33x10 | 11 |
| 100 (10x10) | 25x25x30 | 1,8 | 20x20x5 | 2 |

Tableau 1. Dimension des boîtes de sous-échantillonnage (dimensions conseillées).

| | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 26 | 71 | 08 | 37 | 33 | 63 | 01 | 24 | 92 | 16 |
| 81 | 28 | 62 | 84 | 89 | 13 | 50 | 22 | 68 | 65 |
| 61 | 29 | 41 | 77 | 52 | 60 | 32 | 82 | 99 | 39 |
| 15 | 69 | 80 | 42 | 56 | 78 | 30 | 38 | 88 | 59 |
| 04 | 12 | 94 | 09 | 17 | 21 | 51 | 83 | 57 | 23 |
| 54 | 98 | 91 | 19 | 03 | 05 | 20 | 55 | 86 | 02 |
| 11 | 93 | 47 | 06 | 07 | 48 | 45 | 31 | 72 | 18 |
| 74 | 79 | 43 | 34 | 46 | 27 | 25 | 97 | 67 | 73 |
| 85 | 96 | 75 | 87 | 58 | 10 | 70 | 40 | 95 | 44 |
| 53 | 14 | 66 | 64 | 36 | 76 | 35 | 49 | 90 | |

Tableau 2. Permutation au hasard des nombres de 1 à 99.

ANNEXE 4 :

Exemple de données obtenues et de calcul de l'IOBS

| TUBIFICIDAE avec soies capillaires | | | |
|--|-------------------|---------------|--------------------|
| Taxon | Code | Nombre | Pourcentage |
| Tubificidae avec soies capillaires non reconnaissables à l'état immature | TUBC | 2 | 2% |
| <i>Branchiura sowerbyi</i> | BRSO ^a | 1 | 1% |
| Sous-total | 2 taxons | 3 | 3% |

| TUBIFICIDAE sans soies capillaires | | | |
|--|-----------------|---------------|--------------------|
| Taxon | Code | Nombre | Pourcentage |
| Tubificidae sans soies capillaires non reconnaissables à l'état immature | TUSS | 71 | 71% |
| <i>Limnodrilus claparedeanus</i> | LICL | 2 | 2% |
| <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> | LIHO | 6 | 6% |
| <i>Limnodrilus profundicola</i> | LIPR | 3 | 3% |
| <i>Potamothenix moldaviensis</i> | POMO | 1 | 1% |
| Sous-total | 4 taxons | 83 | 83% |

| NAIDIDAE | | | |
|---------------------------------|-------------------|---------------|--------------------|
| Taxon | Code | Nombre | Pourcentage |
| <i>Dero digitata</i> | DEDI ^a | 1 | 1% |
| <i>Nais communis</i> | NACO ^a | 3 | 3% |
| <i>Vejdovskyella comata</i> | VECO ^a | 7 | 7% |
| <i>Vejdovskyella intermedia</i> | VEIN ^a | 3 | 3% |
| Sous-total | 4 taxons | 14 | 14% |

| TOTAL | 10 taxons | 100 | |
|--|------------------|------------|--|
| ^a : Taxon reconnaissable à l'état sexuellement immature | | | |

Les Tubificidae sans soies capillaires non reconnaissables à l'état immature (TUSS) ne sont pas comptabilisés comme un taxon car dans le groupe considéré (Tubificidae sans soies capillaires), des taxons seulement reconnaissables à l'état mature (LICL, LIHO, LIPR et POMO) sont présents. En revanche, les Tubificidae avec soies capillaires non reconnaissables à l'état immature (TUBC) sont comptabilisés comme un taxon car dans le groupe considéré (Tubificidae avec soies capillaires), aucun adulte correspondant aux formes immatures n'a été recensé. En revanche, le taxon (BRSO) doit être compté car il est reconnaissable à l'état sexuellement immature et ne doit pas être comptabilisé dans les TUBC.

| | |
|--|-------------|
| Nombre d'oligochètes extraits (N) | 132 |
| Nombre de cases prospectées (c) | 9 |
| Nombre de cases dans la cuve (C) | 100 |
| Surface échantillonnée en m ² (X) | 0.0768 |
| Densité pour 0,1 m² (D) | 1910 |

| | |
|---|------------|
| Nombre de taxons (S) | 10 |
| % du groupe dominant de Tubificidae (T) | 83 |
| IOBS=10xS/T | 1,2 |

ANNEXE 3

Indice IOBS : Fiches de terrain et de laboratoire

TERRAIN

| | |
|--|---|
| Cours d'eau : Station : - code hydrographique : - emplacement précis station (joindre carte ou schéma précis) | - joindre au dos un schéma avec une brève description de la station ; position des prélèvements, photo de la station ; - granulométrie dominante ; profondeur moyenne ; largeur moyenne ; recouvrement par la végétation ; - estimer le % recouvrement des sédiments sur la station et du couvert végétal rivulaire |
| Date des prélèvements / heure Nom de l'opérateur | |
| Hauteur de la lame d'eau et vitesse du courant | En cm et en cm s^{-1} (approximativement) |
| Appareil de prélèvement / surface échantillonnée / nombre d'échantillons | |
| Épaisseur approximative des dépôts | En cm |
| Aspect | Couleur, odeur, texture (sableuse, fine, ...) |
| Nature des sédiments | Charge en débris végétaux ; fluidité |
| Épaisseur et aspect de la couche de surface du sédiment | En mm, fluide, déconnectée ou non de la masse sédimentaire... |
| Nature des débris végétaux | Grossiers, fins, feuilles, aiguilles de conifères... |
| Lévigation | Oui/non |
| Tamissage sur le terrain | Oui/non |
| Autres caractéristiques des sédiments ou de la station | Laisser à l'appréciation de l'opérateur |
| Écarts éventuels au protocole | |

LABORATOIRE

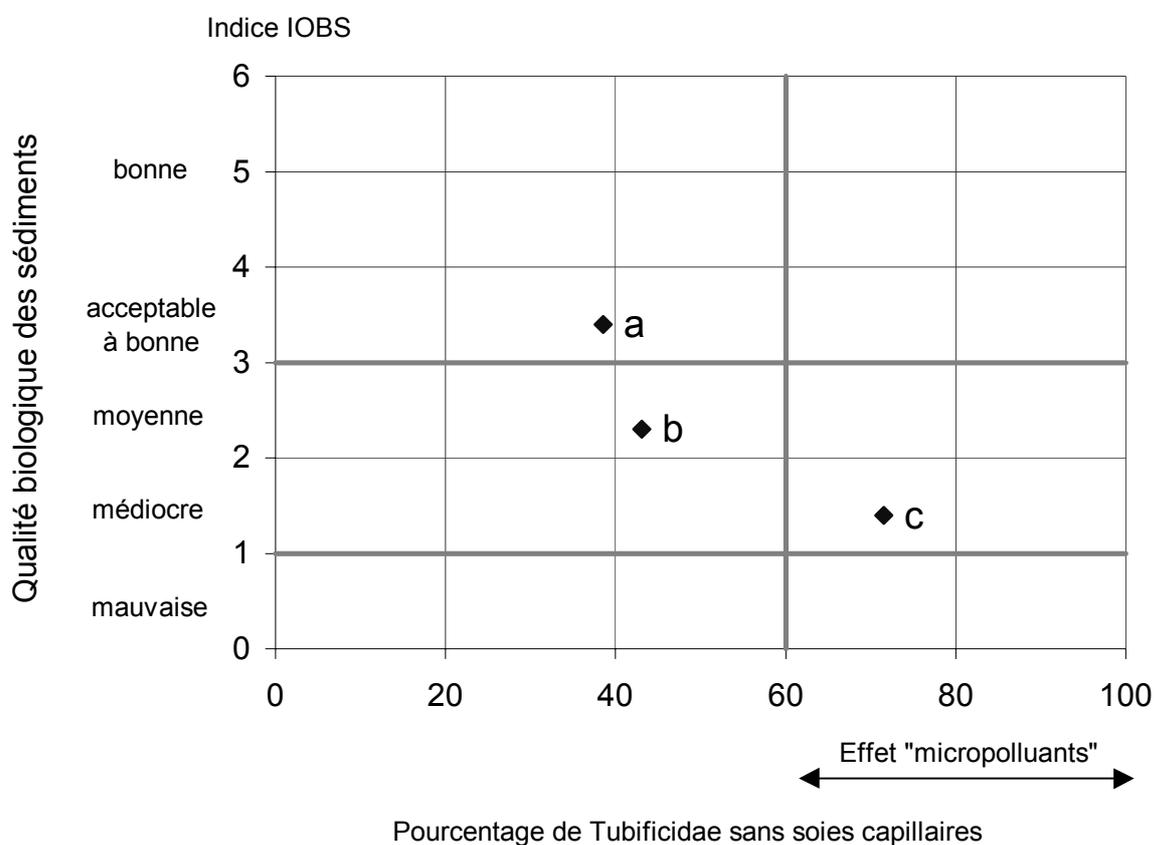
| | |
|---|--|
| Nom de l'opérateur / date | |
| Lévigation (oui/non) | Oui/non |
| Maille de tamisage ; colmatage du tamis | En mm ; très important, peu important, faible à nul |
| Sous-échantillonnage (nombre de cases triées et type de boîte utilisé, à 12, 25, 49 ou 100 cases) | |
| Structure des sédiments (à la loupe binoculaire après tamisage) | Fibreuse, floconneuse, concrétions, éléments minéraux, nature et quantité approximative de débris végétaux |
| Autres : (examen à la loupe binoculaire après tamisage) : | Présence de colonies bactériennes macroscopiques, d'algues, d'invertébrés autres que les oligochètes. |

ANNEXE 5 :

Fiche de résultats : tableau de données et abaque ; d'après Rosso-Darmet *et al.*, 1998.

| Sites | NSPS | TUSP | IOBS | TUCP | EFBR | SYLA |
|-------|------|------|------|------|------|------|
| a | 13 | 38,5 | 3,4 | 2,3 | 2781 | 2,4 |
| b | 10 | 43,1 | 2,3 | 23,1 | 2623 | 24,6 |
| c | 10 | 71,5 | 1,4 | 21,5 | 7187 | 4,6 |

Oligochètes du canal de Bourbourg à Grande Synthe (a), de la Scarpe à Courchelettes (b) et de la Somme à Offroy (c); NSPS : nombre de taxons par relevé ; TUSP : pourcentage de Tubificidae sans soies capillaires ; IOBS : indice IOBS ; TUCP : pourcentage de Tubificidae avec soies capillaires ; EFBR : effectifs d'oligochètes/0,1 m²; SYLA pourcentage de *Stylaria lacustris*,,



Abaque de qualité biologique des sédiments; position des stations d'échantillonnage a, b et c en fonction des valeurs de l'indice IOBS et du pourcentage de Tubificidae sans soies capillaires (TUSP).

ANNEXE 6

Exemple de fiche d'interprétation ; d'après Rosso-Darmet *et al.*, 1998.

| | |
|---|--|
| Cours d'eau | Somme rivière |
| Station | Offoy (119000) |
| Date des prélèvements | 19/06/97 |
| <i>Diagnostic de qualité du milieu</i> | |
| Indice IOBS | 1,4 |
| Nombre d'espèces | 10 |
| Effectifs/0,1 m ² | 7 187 |
| % de Tubificidae avec soies capillaires | 21,5 |
| % de Tubificidae sans soies capillaires | 71,5 |
| % de Naididae | 6,9 |
| Diagnostic | Situation S3 du modèle TYPOL ; qualité biologique médiocre à mauvaise ; effet micropolluants |
| Taxons ou espèces caractéristiques | NS |
| Examen de la faune associée | 3 taxons présents (Chironomidae, Asellidae, Gammaridae) ; plus pessimiste que les oligochètes |
| <i>Explications possibles</i> | |
| Habitat physique | Vase gris beige ; odeur faible |
| Physico-chimie des eaux | NH ₄ (2,5 mg l ⁻¹) ; NO ₂ (0,6 mg l ⁻¹) ; PO ₄ (1,1 mg l ⁻¹) ; conductivité (765 µS cm ⁻¹) ; absence périodique en O ₂ dissous (0,3 mg l ⁻¹) |
| Micropolluants des sédiments | Forte contamination par les métaux (Zn, Hg, Cd, Pb) et les PCB ; classée 5A (contamination métallique sévère et absence de contamination micro-organique, données AEAP) |
| Spéciation des métaux | Métaux sous forme carbonates et oxydes |
| <i>Conclusion, proposition de mesures de gestion</i> | Sédiments toxiques et support aqueux très pollué ; améliorer si possible la qualité des eaux ; décontaminer les sédiments ; épandage exclu |

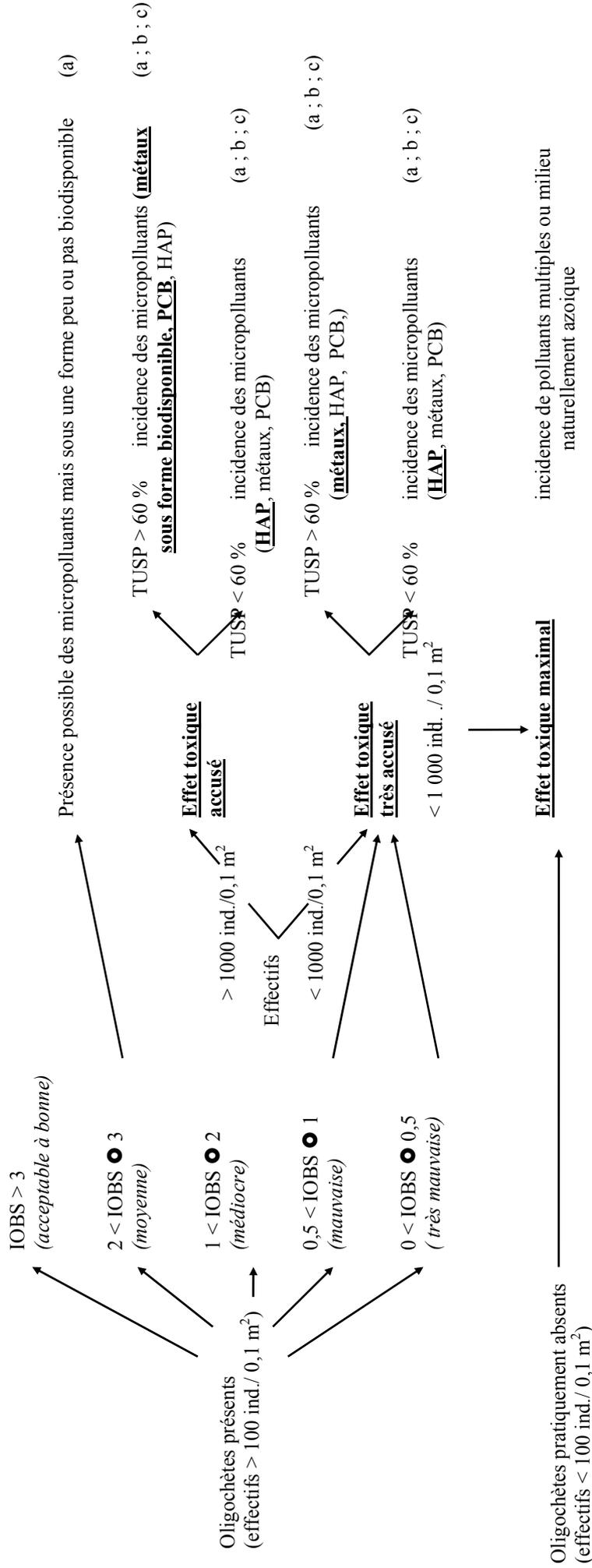
ANNEXE 7

Prévision du risque écotoxicologique *in situ* dans les sédiments fins.

D'après Prygiel *et al.*, 2000 ; Rosso-Darmet *et al.*, 1998.

QUALITE BIOLOGIQUE

CAUSE(S) SUSPECTEE(S) DE DEGRADATION



a) effectifs > 1000 ind./0,1 m² ; effet polluant des matières organiques ; cet effet peut se superposer à d'autres types de pollution ;

b) si prolifération d'une espèce n'appartenant pas à la famille des Tubificidae, la cause suspectée de dégradation est identifiée par l'examen des Tubificidae ;

c) si métaux, PCB, HAP absents, suspecter la présence de micropolluants non analysés, de fortes pollutions organiques, de perturbations physiques et de chlorures.

Utilisation des peuplements d'oligochètes des sédiments fins comme descripteurs de l'incidence de la pollution.

IOBS : Indice Oligochètes de Bioindication des Sédiments ; TUSP : pourcentage de Tubificidae sans soies capillaires.

L'objectif de ce document est de présenter les techniques conduisant au calcul de l'Indice Oligochètes de Bioindication des Sédiments ou IOBS. Mis au point au début des années 1980, cette méthode de bioindication a fait l'objet de diverses évolutions et de tests concernant sa signification écologique (Lafont et al., 1988 ; Lafont, 1989 ; Rosso et al., 1993, 1994 ; Rosso, 1995 ; Prygiel et al., 1999).

Des indications sont données sur les modalités d'échantillonnage des sédiments, sur la préparation au laboratoire du matériel en vue d'un examen microscopique, la détermination à l'espèce des oligochètes, le calcul de l'IOBS et l'interprétation des résultats. Des précisions d'ordre méthodologique sont apportées en complément.

Agence de l'Eau Adour-Garonne

90, rue du Férétra
31078 TOULOUSE CEDEX
Tél. : 05 61 36 37 38
Fax : 05 61 36 37 28

Agence de l'Eau Artois-Picardie

200, rue Marceline
59508 DOUAI CEDEX
Tél. : 03 27 99 90 00
Fax : 03 27 99 90 15

Agence de l'Eau Loire-Bretagne

Avenue Buffon - B.P. 6339
45063 ORLEANS CEDEX 2
Tél. : 02 38 51 73 73
Fax : 02 38 51 74 74



Site Internet :
<http://www.eaufrance.tm.fr>

Agence de l'Eau Rhin-Meuse

Route de Lessy-Rozérieulles
B.P. 30019
57161 MOULIN-LES-METZ CEDEX
Tél. : 03 87 34 47 00
Fax : 03 87 60 49 85

Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse

2-4, allée de Lodz
69363 LYON CEDEX 07
Tél. : 04 72 71 26 00
Fax : 04 72 71 26 01

Agence de l'Eau Seine-Normandie

51, Rue Salvador Allende
92027 NANTERRE CEDEX
Tél. : 01 41 20 16 00
Fax : 01 41 20 16 09

**Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement
Direction de l'Eau**

20, avenue de Ségur
75302 PARIS 07 SP
Tél. : 01 42 19 20 21
Fax : 01 42 19 12 22
<http://www.environnement.gouv.fr>

