

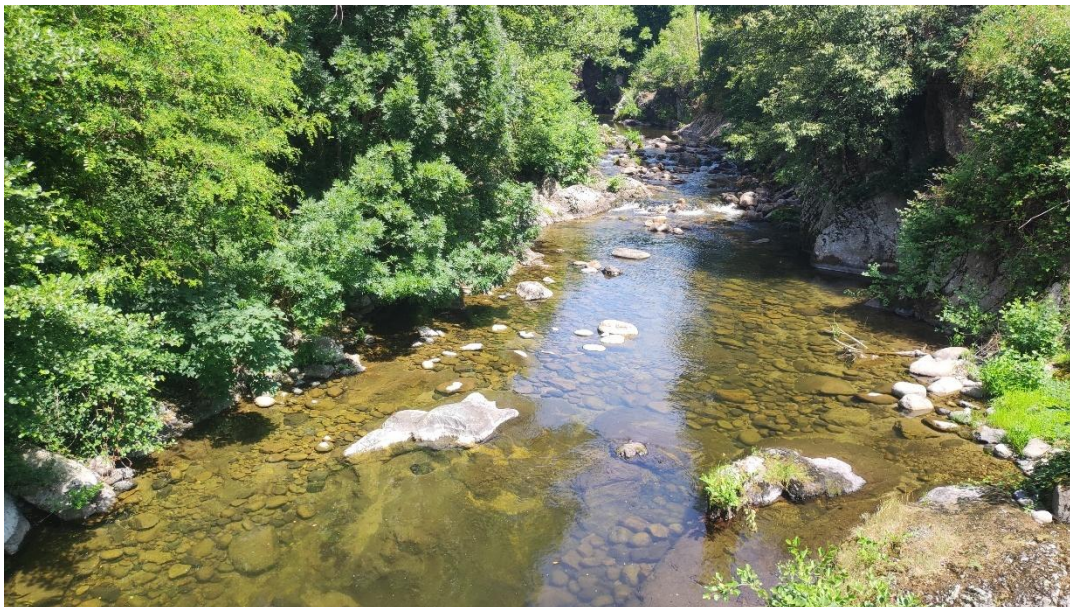


NV2E

COMPTE DE RENDU DE PRELEVEMENTS HYDROBIOLOGIQUES REALISES SUR LA VOLANE A VALS-LES-BAINS (07)

ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA MICROCENTRALE
DU MOULIN DE LA COMBELLE

I2M2 ET IBG-DCE



Octobre 2025

SOMMAIRE

1.	INTRODUCTION.....	2
2.	PROTOCOLE D'ETUDE.....	3
2.1.	Stations d'étude et campagne de prélèvement	3
2.2.	Protocole I2M2 et IBG-DCE	4
3.	RESULTATS.....	5
3.1.	Etude de la composition du peuplement benthique	5
3.2.	Interprétation des indices I2M2 et IBG-DCE	7
4.	CONCLUSION.....	11
5.	SYNTHESE	12
6.	ANNEXES	13
6.1.	Protocole d'analyses (I2M2 et IBG-DCE)	13
6.2.	Fiches des habitats prélevés	23
6.3.	Liste faunistique	25

1. INTRODUCTION

Dans le cadre de la demande d'autorisation d'exploiter l'usine hydroélectrique du Moulin de la Combelle sur la Volane à Vals-les-Bains, une **analyse hydrobiologique** du cours d'eau est réalisée à deux stations d'étude :

- **Vol01** : située en amont de la prise d'eau ;
- **Vol02** : située en aval de la prise d'eau, dans le tronçon-court-circuité.

Dans ce rapport sont présentés les résultats des campagnes de prélèvements pour le calcul de l'I2M2 et de l'IBG-DCE suivant les normes NF T90-333 et NF T90-388.

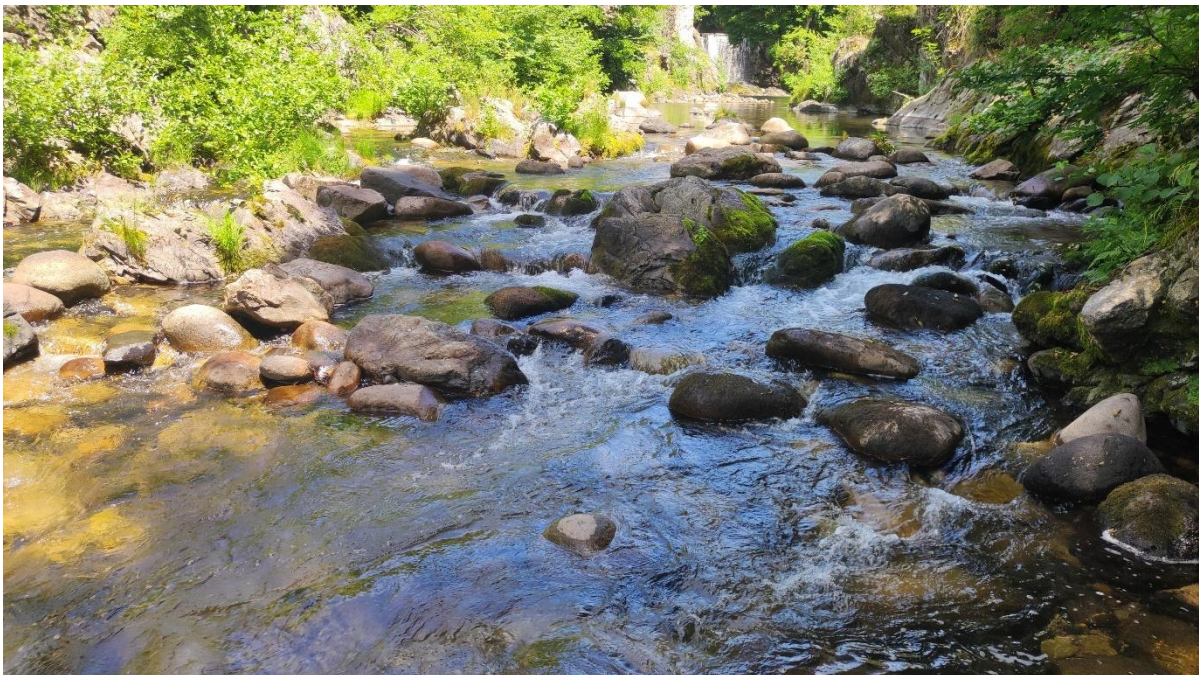


Photo 1 : La Volane en aval de la prise d'eau du Moulin de la Combelle (notée Vol02) le 24 juin 2025

2. PROTOCOLE D'ETUDE

2.1. Stations d'étude et campagne de prélèvement



Carte 1 : Localisation des stations de prélèvements hydrobiologiques (protocole I2M2) sur la Volane à Vals-les-Bains (07)

La localisation des stations d'étude est donnée ci-dessus. Elles sont situées en amont de la prise d'eau du Moulin de la Combelle (Vol01) et dans le TCC de l'aménagement concerné (Vol02).

Les prélèvements hydrobiologiques ont été réalisés dans les deux stations le **24 juin 2025**.

2.2. Protocole I2M2 et IBG-DCE

Les prélèvements, les dénombrements et les déterminations taxonomiques des invertébrés sont réalisés en suivant le protocole défini par les normes en vigueur :

- **Norme française NF T90-333**, septembre 2016 : *Prélèvements des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes* et le guide d'application de la norme **FD T90-733**, août 2017 ;
- **Norme française NF T90-388**, décembre 2020 : *Qualité de l'eau – traitement au laboratoire d'échantillons contenant des macro-invertébrés de cours d'eau*.

Le protocole d'échantillonnage consiste :

- À effectuer un relevé de la **mosaïque des substrats dominants et marginaux**, de les identifier, d'en estimer la surface, d'évaluer les classes de vitesse et de réaliser un croquis de la station mentionnant l'emplacement des échantillons ;
- À réaliser **12 prélèvements au filet Surber (maille de 500 µm et surface de prélèvement de 1/20^{ème} de m²)** dans les habitats sélectionnés ;
- À regrouper ces prélèvements dans **trois pots** de prélèvements notés **A, B et C**, correspondant aux phases A, B et C du protocole.

Les principales étapes et les points essentiels sont décrits en annexe.

3. RESULTATS

3.1. Etude de la composition du peuplement benthique

- Richesses taxonomiques et densités (basées sur 12 prélèvements)

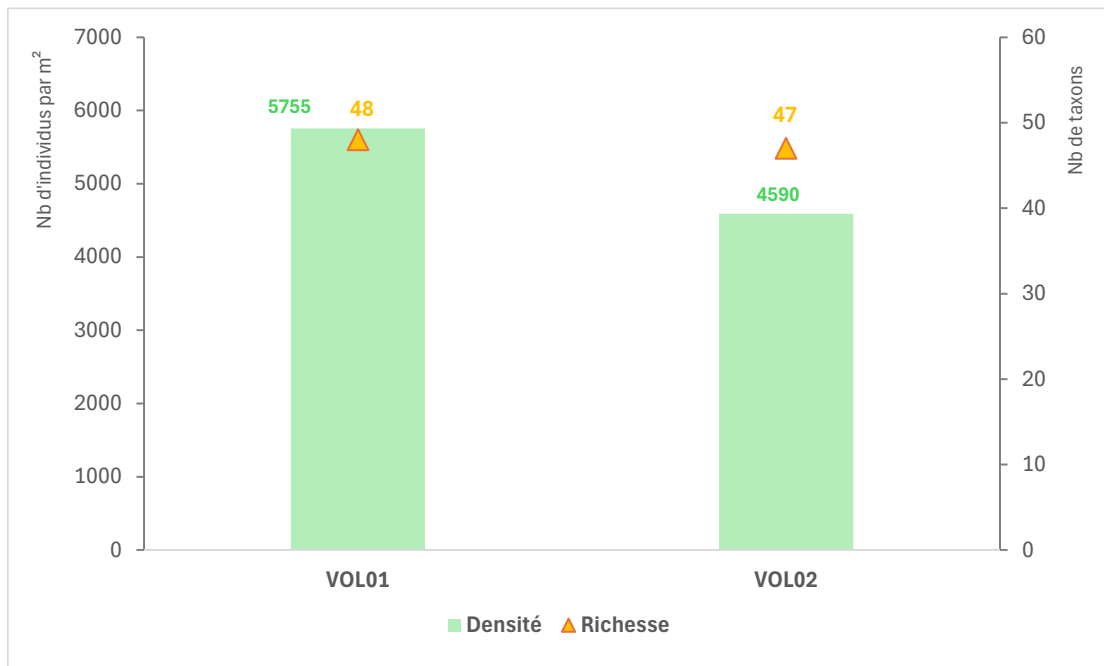


Figure 1 : représentation graphique des densités et des richesses taxonomiques calculées dans les stations Vol01 et Vol02 (Volane, Vals-Les-Bains)

Avec 48 et 47 taxons recensés dans les deux stations, les **richesses taxonomiques** sont élevées dans les deux stations situées sur la Volane de part et d'autre de la prise d'eau. La différence d'un taxon entre les deux stations est faible et non significative. Les **densités** sont moyennes aux deux stations, témoignant d'une productivité modérée du milieu.

- **Indices de diversité**

	Vol01	Vol02
<i>Ind. Shannon</i>	3,70	3,84
<i>Équitabilité</i>	0,66	0,69
<i>Ind. Jaccard (/100)</i>	66,7	
<i>Ind. Whittaker (/100)</i>	82,9	

Figure 2 : Indices de diversité calculés aux stations Vol01 et Vol02 sur la Volane

L'indice de Shannon et l'équitabilité indiquent une diversité moyenne et très proche dans les deux stations. Ces valeurs témoignent d'une **répartition relativement équitable des taxons au sein du peuplement**, sans dominance excessive d'une espèce proliférante.

Les **indices de similarité de Jaccard et de Whittaker** permettent de comparer les peuplements entre eux de manière qualitative et quantitative. L'indice de Jaccard indique que le nombre de taxons communs aux deux stations est assez élevé (Ij : 66,7). L'indice de Whittaker révèle une similitude structurelle très importante entre les deux peuplements (Iw : 82,9), indiquant que les mêmes taxons sont dominants.

L'analyse comparative de la composition des peuplements montre un **noyau de taxons abondants communs aux deux stations** (voir figure 3 ci-dessous).

Vol01	Vol02
<i>Simulium</i> (22,3%)	<i>Simulium</i> (24,7%)
<i>Baetis</i> (17,3)	<i>Baetis</i> (18,1)
<i>Tanytarsini</i> (15,7)	<i>Tanytarsini</i> (9,5)
<i>Orthoclaadiinae</i> (9,8)	<i>Leuctra</i> (5,9)
<i>Leuctra</i> (6)	<i>Elmis</i> (4,9)
<i>Oulimnius</i> (3,2)	<i>Hydropsyche</i> (4,3)
<i>Epeorus</i> (2,7)	<i>Hydracarina</i> (4,2)
<i>Hydropsyche</i> (2,5)	<i>Orthoclaadiinae</i> (4,1)
<i>Serratella ignita</i> (2,2)	<i>Micrasema</i> (2,9)
<i>Hydracarina</i> (2,2)	<i>Serratella ignita</i> (2,5)
<i>Elmis</i> (2)	<i>Oulimnius</i> (2,1)
<i>Esolus</i> (1,8)	<i>Rhyacophila</i> (2)
<i>Rhyacophila</i> (1,7)	<i>Oligochaeta</i> (1,9)
<i>Protonemura</i> (1,6)	<i>Protonemura</i> (1,5)
<i>Oligochaeta</i> (1,4)	<i>Epeorus</i> (1,5)

Figure 3 : Taxons dominants (ab.relative > 1% du peuplement) dans les stations Vol01 et Vol02 classés par abondance relative décroissante ; en gras sont figurés les taxons communs aux deux peuplements

La figure 3 ci-dessus montre les **similitudes très fortes entre les peuplements** : la grande majorité des taxons les plus abondants sont retrouvés dans les deux stations dans des abondances similaires.

Les taxons dominants *Simulium* (Diptère), *Baetis* (Ephéméroptère) et *Tanytarsini* (Diptère) qui représentent à eux trois la majorité des effectifs comptabilisés, indiquent dans les deux stations un milieu légèrement enrichi par des apports de matières organiques fines.

3.2. Interprétation des indices I2M2 et IBG-DCE

Dans ce chapitre, les notes I2M2, IBG-DCE et EQR, calculées à partir du peuplement d'invertébrés benthiques, sont interprétées pour chaque station d'étude. Pour chacun de ces indices, les valeurs seuils des **classes de qualité** sont données dans le tableau ci-dessous.

	I2M2	EQR	IBG (2016)
Très bon	> 0.665	> 0.93333	15 à 20
Bon	de 0.498 à 0.665	de 0.8 à 0.93333	13 à 14
Moyen	de 0.332 à 0.498	de 0.53333 à 0.8	9 à 12
Médiocre	de 0.166 à 0.332	de 0.33333 à 0.53333	6 à 8
Mauvais	de 0 à 0.166	de 0 à 0.33333	0 à 5

Figure 4 : Valeurs seuils pour les différents indices biologiques « invertébré » utilisés pour l'évaluation des **cours d'eau moyens de l'hydro-écorégion « Cévennes »** (conformes à l'arrêté du 27 juillet 2018 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface)

Les valeurs seuils pour l'indice IBG-DCE sont données à titre indicatif. Cet indice ne constitue plus la référence dans le guide d'évaluation de l'état des eaux de surface (dernière version de 2019).

Les valeurs indiquées tiennent compte de la classification des cours d'eau par hydro-écorégion et du rang de Strahler du cours d'eau étudié.

Les caractéristiques typologiques de la **Volane** au niveau des stations d'étude (commune de Vals-Les-Bains) sont :

- Rang de Strahler : 4 ;
- Hydro-écorégion de rang 1 : Cévennes (numéro 8) ;
- Hydro-écorégion de rang 2 : Cévennes (numéro 71).

La Volane au niveau des stations étudiées est donc considérée pour le calcul et l'interprétation des indices comme faisant partie de la catégorie « **Grands et Moyens cours d'eau des Cévennes** » (code : GM8).

- **Vol01 : La Volane en amont de la prise d'eau**

Vol01-240625		
Sous-indices I2M2	Indice Shannon	0,6121
	ASPT	0,9909
	Polyvoltinisme	0,999
	Ovoviviparité	1
	Richesse	0,4963
	Nb taxons contributifs	44
Indice I2M2		0,85



Figure 5 : Valeurs des sous-indices et de l'indice I2M2 calculés à la station Vol01 (sur la base de 12 prélèvements, phase A, B et C)

Les valeurs de l'indice I2M2 et de ses sous-indices reflètent une **qualité très bonne** du milieu à la station Vol01, en amont de la prise d'eau. Aucune valeur des sous-indices de l'I2M2 ne permet de déceler un impact significatif d'une quelconque perturbation, même si les valeurs de l'indice de Shannon et de la richesse ne sont pas maximales.

Vol01-240625		
Richesse taxonomique (A+B)	31	
Densité (nb ind/m2)	6453	
Taxon Indicateur	Perlidae	
Groupe Indicateur (GFI)	9	
Note IBG-DCE (/20)	17	
Note de référence (/20)	16	
note EQR	1,07	
Taxons dominants	Chironomidae	30,1%
	Simuliidae	19,6%
	Baetidae	16,4%
	Elmidae	8,8%

Figure 6 : Valeurs de l'IBG-DCE et de l'EQR calculés à la station Vol01 (sur la base de 8 prélèvements, phase A et B)

La **richesse taxonomique élevée** et la présence d'un **taxon indicateur polluo-sensible** de la famille des Perlidae (Plécoptère) concourent à l'obtention d'une note IBG-DCE élevée, reflétant une **très bonne qualité du milieu**

Les densités élevées et l'abondance importante des Chironomidae et des Simuliidae (Diptères saprophiles pour la plupart) traduisent un milieu productif, enrichi par **des apports modérés de matières organiques fines**. Ces apports semblent insuffisants pour déséquilibrer et perturber le milieu de manière significative.

- **Vol02 : La Volane en aval de la prise d'eau (TCC)**

Vol02-240625		
Sous-indices I2M2	Indice Shannon	0,7648
	ASPT	0,9123
	Polyvoltinisme	0,9807
	Ovoviviparité	0,9823
	Richesse	0,4963
	Nb taxons contributifs	43
Indice I2M2		0,85



Figure 7 : Valeurs des sous-indices et de l'indice I2M2 calculés à la station Vol02 (sur la base de 12 prélèvements, phase A, B et C)

Les valeurs de l'indice I2M2 et de ses sous-indices reflètent une **qualité très bonne** du milieu en aval de la restitution. Aucune valeur des sous-indices de l'I2M2 ne permet de déceler un impact significatif d'une quelconque perturbation. Les valeurs des sous-indices « indice de Shannon » et « richesse » montrent une légère hausse par rapport à la station amont.

Vol02-240625		
Richesse taxonomique (A+B)	35	
Densité (nb ind/m2)	4150	
Taxon Indicateur	Perlidae	
Groupe Indicateur (GFI)	9	
Note IBG-DCE (/20)	18	
Note de référence (/20)	16	
note EQR	1,13	
Taxons dominants	Chironomidae	23,4%
	Baetidae	20,2%
	Elmidae	12,3%
	Hydropsychidae	7,0%

Figure 8 : Valeurs de l'IBG-DCE et de l'EQR calculés à la station Vol02 (sur la base de 8 prélèvements, phase A et B)

La **richesse taxonomique élevée** et la présence d'un **taxon indicateur polluo-sensible** de la famille des Perlidae (Plécoptères), concourent à l'obtention d'une note IBG-DCE reflétant une **très bonne qualité du milieu**. Par comparaison à la station située en amont de la prise, la note augmente d'un point, conséquence d'une richesse taxonomique légèrement plus élevée.

Les densités moyennes et les abondances relatives des taxons dominants ne traduisent pas une prolifération excessive d'un taxon. Cependant, la dominance du Diptère Chironomidae laisse supposer que les dépôts de matières organiques fines constituent un apport trophique prépondérant. Cette influence des apports organiques semble cependant s'atténuer par rapport à l'amont.

- **Comparaison entre Vol01 et Vol02 :**

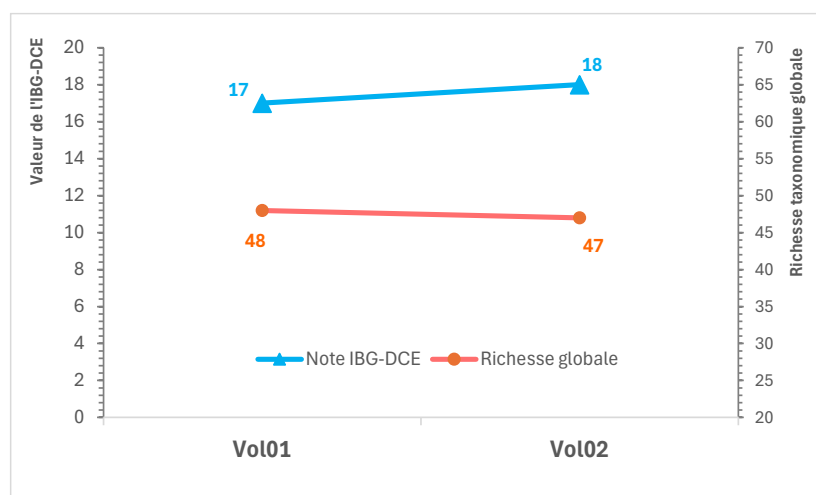


Figure 9 : Comparaison des richesses globales et des valeurs de l'IBG-DCE

Les valeurs des richesses taxonomiques globales sont élevées et équivalentes dans les deux stations d'étude. Les valeurs de l'IBG-DCE sont également importantes et très proches de part et d'autre de la prise d'eau. La différence d'un point de la note est due à une richesse supérieure de 4 taxons à la station Vol02. Cette différence reste relativement faible.

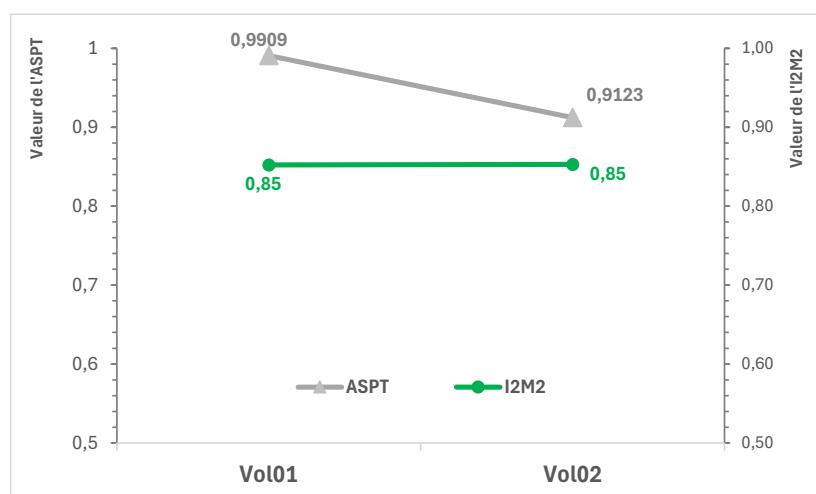


Figure 10 : Comparaison des valeurs de l'ASPT et de l'I2M2

Les valeurs de l'I2M2 sont identiques dans les deux stations, reflétant une très bonne qualité du milieu. L'ASPT (indice qui reflète la polluo-sensibilité globale du peuplement) est très élevé à la station Vol01, indiquant un peuplement particulièrement polluo-sensible. Il a tendance à baisser légèrement entre les deux stations, mais cette évolution reste minime.

Les méthodes indicielles et les métriques utilisées ne permettent pas de conclure à un effet de la prise d'eau du Moulin de la Combelle sur la qualité hydrobiologique de la Volane.

4. CONCLUSION

Dans le cadre de la demande d'autorisation d'exploiter l'aménagement hydroélectrique du Moulin de la Combelle sur la Volane, à Vals-les-Bains (07), des analyses hydrobiologiques ont été réalisées en amont de la prise d'eau et dans le tronçon-court-circuité (TCC). Les prélèvements d'invertébrés aquatiques pour le calcul de l'I2M2 et de l'IBD-DCE ont été réalisés par le CERIA le 24 juin 2025.

La **qualité biologique constatée est très bonne** dans les deux stations, avec des valeurs indicielles élevées. Le milieu est productif et légèrement enrichi, en particulier à la station amont où l'abondance des Diptères Simuliidae traduit un flux de matières organiques fines. Cependant, l'influence de ces apports reste minime. A la date des prélèvements, ils ne semblent pas perturber la qualité générale du cours d'eau.

L'analyse comparative des deux points d'étude situés de part et d'autre de la prise d'eau n'indique **pas d'influence directe de l'aménagement hydroélectrique** sur les peuplements d'invertébrés aquatiques de la Volane.

5. SYNTHÈSE

- **Vol01 : la Volane en amont de la prise d'eau du Moulin de la Combelle**
 - Richesse élevée et densité moyenne, avec certains taxons saprophiles dominants traduisant un léger enrichissement organique du milieu ;
 - **Qualité biologique très bonne** (I2M2 : 0,85 et IBG-DCE : 17/20) ;
- **Vol02 : la Volane en aval de la prise d'eau du Moulin de la Combelle**
 - Richesse taxonomique élevée, densité moyenne, influence d'éventuels apports organiques moins visible qu'en amont ;
 - **Qualité biologique très bonne** (I2M2 : 0,85 et IBG-DCE : 18/20) ;
- **Comparaison Vol01/Vol02 :**
 - Peuplements des deux stations **très proches** au niveau qualitatif et structurel ;
 - **Qualité biologique très bonne** de part et d'autre de l'aménagement : **aucun effet visible de la prise d'eau** du Moulin de la Combelle sur le peuplement d'invertébrés aquatiques de la Volane.

6. ANNEXES

6.1. Protocole d'analyses (I2M2 et IBG-DCE)

6.1.1. Phase de prélèvements

Le protocole de tri et de dénombrement respectera la **norme NF T90-333**, septembre 2016 : *Prélèvements des macro-invertébrés aquatiques en rivières peu profondes* et le guide d'application de la norme **FD T90-733**, août 2017.

A. Choix de la station et observations de terrain

Après avoir noté les **conditions de prélèvement** (conditions climatiques, hydrologiques, présence de rejets, d'un seuil, aspect des abords, odeurs et toutes autres perturbations observées) et **photographié** la station *in situ*, l'opérateur réalise :

- Une mesure des **limites amont et aval** de la station (mesures GPS) ;
- Un **croquis et une description** des habitats à prélever (voir chapitre suivant).

Rappel sur la longueur d'une station d'étude dans le cadre du protocole normalisé :

Après les premières observations réalisées, la **largeur du lit à plein bord** est estimée (Lpb) afin de calculer la **longueur totale** de la station (Lt).

$$Lt = 6 * Lpb \text{ (grand cours d'eau)}$$

$$Lt = 12 * Lpb \text{ (petit et moyen cours d'eau)}$$

$$Lt = 18 * Lpb \text{ (très petit cours d'eau)}$$

Remarques :

- La largeur du lit à plein bord est une grandeur de calage en géométrie hydraulique qui permet de prévoir statistiquement la longueur moyenne des séquences de faciès : une séquence radier/mouille représente en moyenne 6 fois la largeur du lit à plein bord. Pour les cours d'eau de petites et moyennes dimensions, **2 séquences radier/mouille** seront considérées dans la station (soit 12 x Lpb). Pour les très petits cours d'eau, il est préférable de considérer **3 séquences radier/mouille** (soit 18 x Lpb). Et enfin pour les grands cours d'eau, il est possible de prendre une séquence radier/mouille représentative, mais deux séquences restent préférables.
- Les valeurs moyennes de la **largeur du lit mouillée** et à **plein bord** sont calculées sur la station par mesures au télémètre ou au décamètre (cas de très petits cours d'eau). Le nombre de mesures dépendra de l'homogénéité de la largeur du lit (3 ou 4 dans le cas de rivières homogènes, de 10 à 12 dans le cas de rivières aux largeurs hétérogènes).

B. Description des habitats

Pour rendre compte des caractéristiques de la station d'étude, des différents habitats et de la localisation des prélèvements, un **croquis** est réalisé par l'opérateur en accompagnement de la **fiche descriptive** de la station. Il est décrit :

- L'état des berges et la morphologie du lit ;
- L'état de la ripisylve, les principales espèces et son taux de recouvrement ;
- La présence éventuelle d'espèces végétales envahissantes ;
- Les faciès d'écoulement (selon clé de Malavoi et Souchon (2002)) ;
- Le colmatage moyen (selon clé de Archambault et al. (2005)) ;
- Les conditions climatiques et hydrologiques ;
- La présence de rejets éventuels, de recalibrage ou de traces de piétinements ;
- La visibilité du fond et la turbidité ;
- Les traces de perturbations éventuelles (mousses, odeurs, dépôts, turbidité...)

Dans un deuxième temps, les différents supports minéraux et organiques (liste définie selon la norme IBGN AFNOR, 2004 et repris dans la norme NF T 90-333, 2016) sont repérés. Il sera mentionné sur le croquis et la fiche descriptive :

- L'ensemble des **substrats présents** sur la station ;
- Les **substrats prélevables** (profondeur et visibilité suffisantes, vitesses non dangereuses) ;
- Leur **surface de recouvrement** superficiel. Cette étape est particulièrement importante pour l'établissement du plan d'échantillonnage. Il sera distingué :
 - Les supports **dominants** dont la superficie représente plus de 5% de la surface mouillée de la station ;
 - Les supports **marginiaux** représentatifs, dont la superficie représente au maximum 5% de la surface mouillée de la station, mais dont la présence n'est ni exceptionnelle, ni liée à des structures artificielles (ponts, enrochement...).
- Les **classes de vitesses** présentes pour chaque habitat.

Cette description est toujours accompagnée de **photographies** visant à rendre compte des éléments descriptifs essentiels. Une fois la fiche de prélèvements complétée, il sera déterminé le **plan d'échantillonnage** qui précise la **localisation et l'ordre** des prélèvements.

Remarque :

La description des habitats sera réalisée **de la berge** afin d'éviter tout piétinement de la station. Si les conditions ne permettent pas de rester systématiquement sur la même berge, les endroits traversés seront toujours situés en aval de la station. Dans le cas où il n'y a pas d'autres choix (berges impraticables), les endroits piétinés seront localisés et scrupuleusement évités lors des prélèvements, ainsi que leur aval immédiat.

Station :		Cond climatiques :		XY Lim. amont :				
Cours d'eau		Cond hydrologiques :						
Date :		Visibilité fond :		XY Lim. aval :				
Longueur totale :		Turbidité :						
Largeur à plein bord :		Encroûtement :						
Largeur du lit mouillé :		Colmatage :						
Observations/commentaires :								
		Représentativité des substrats (%)		Classes de vitesse et répartition des prélèvements				Code schéma
Supports	S	Marginaux (<5%)	Dominants (>5%)	V>75	75>V>25	25>V>5	V<5	
Bryophytes	11							
Spermaphytes immergés	10							
Débris organiques grossiers (litières)	9							
Chevelus racinaires, support ligneux	8							
Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) taille>25mm	7							
Blocs (> 250 mm)	6							
Granulats grossiers 25mm >taille>2,5mm	5							
Spermaphytes émergents de strate basse	4							
Sédiments fins organiques, "vases"<0,1mm	3							
Sables et limons grains <2,5mm	2							
Algues ou à défaut, marne et argile	1							
Surfaces naturelles et artificielles (roches, dalles,sols) Blocs >250mm	0							

Remplir en % estimé (total : 100%)

Mettre le nom du prélèvement (ex : B1)

Figure 11 : Exemple de fiche descriptive des substrats pour l'estimation des habitats à prélever

C. Prélèvements sur le terrain

Après avoir décrit les habitats et réaliser le plan d'échantillonnage sur le croquis, les prélèvements sont réalisés en respectant strictement le protocole normalisé.

Trois phases sont distinguées :

- **Phase A** : échantillonnage des quatre habitats marginaux représentatifs. Ils représentent moins de 5% de la superficie de la station mais sont régulièrement rencontrés le long de la station. Ils sont choisis en fonction de leur capacité d'accueil pour la faune benthique, du plus biogène au moins biogène, et sont placés dans un bocal B1 ;
- **Phase B** : échantillonnage des quatre habitats dominants, du plus biogène au moins biogène ; ils sont placés dans un bocal noté B2 ;
- **Phase C** : échantillonnage de quatre habitats de manière à compléter l'échantillonnage des habitats dominants au prorata de leur superficie. Ils sont placés dans un bocal noté B3.

La définition précise des différents types d'habitats prélevés est mentionnée dans la norme NF T 90-333 de septembre 2016. Rappelons que ce document avec son guide d'application sert de référence à la mise en place du protocole de prélèvements.

Rappel de quelques règles de prélèvements pouvant être sources d'erreurs :

Si le principe des prélèvements de la phase A est assez simple dans l'ensemble et bien compréhensible dans la norme, les prélèvements de la phase B et C peuvent faire l'objet de mauvaises interprétations menant à des erreurs de prélèvements.

Pour la phase B, la principale source d'erreur est la règle des 25% qui s'applique quand deux substrats seulement sont dominants. Celle-ci est la suivante : si les deux substrats dominants représentent une surface supérieure à 25%, deux prélèvements sont effectués dans chaque substrat. Si un des substrats présente une superficie inférieure ou égale à 25%, seul un prélèvement est réalisé dans ce substrat, les trois autres dans le second.

Pour la phase C, la règle des 10% est source de confusion. Si tous les habitats dominants ont été prélevés dans la phase B et C (dans le cas où il y a plus de 4 habitats dominants), le reste des prélèvements est réalisé dans les substrats dominants ayant déjà été prélevés, auxquels est retranché 10% de la surface. Après avoir réalisé l'échantillonnage sur le substrat présentant la plus grande superficie, cette opération est répétée jusqu'à terminer les 4 prélèvements de phase 3 en enlevant toujours 10% au substrat dominant prélevé. Le substrat présentant la plus grande surface après retrait des 10% est considéré pour réaliser le prélèvement.

Points à respecter lors des prélèvements pour limiter les biais interprétatifs :

- Les stations situées sur un même linéaire sont, si possible, **toujours prélevées le même jour** ou à des dates contiguës si leur nombre le nécessite (plus 5 stations) ;
- Dans la station, les prélèvements sont toujours réalisés de **l'aval vers l'amont** pour ne pas perturber les échantillons par piétinement ou dérive ;
- Les habitats marginaux sont par définition plus rares et parfois peu évidents à déceler de la berge (cas par exemple des Bryophytes dispersées dans les secteurs ombragés et sur les blocs exposés au courant). Un **soin particulier sera mis à décrire minutieusement les substrats** et si nécessaire, une correction sera apportée après déplacement dans le lit pour prélèvements ;
- Les prélèvements sont réalisés à l'unité et mis dans une bassine où un **pré-tri attentif** des matières organiques et minérales est réalisé ;
- Le sable et les graviers font l'objet d'une **élutriation** minutieuse permettant de séparer les éléments minéraux du surnageant organique ;
- Pour le transfert de l'échantillon du filet au pot, il est utilisé un **petit filet de maille souple de 500 µm**, qui permet un transfert plus pratique de la bassine vers le pot de prélèvements ;
- Lors de ce transfert, le pot est **toujours mis dans une bassine** afin de retenir d'éventuelles projections de matières et ainsi, d'éviter une perte d'une partie de l'échantillon ;
- L'intérieur du Surber et du filet de transfert est méticuleusement **vérifié** pour éviter de perdre des individus échantillonnés. Ces derniers, s'ils sont présents, sont capturés à la pince fine et placés dans le pot de prélèvements ;
- Les prélèvements très chargés (une fois le pré-tri réalisé) sont **fractionnés dans plusieurs pots** afin que la conservation par l'alcool soit optimale ;
- Enfin, toutes les **difficultés éventuelles d'échantillonnage** sont notées et rapportées au maître d'ouvrage. _____

D. Le matériel de prélèvements et flaconnage

Afin de réaliser les prélèvements en conformité avec la **norme NF T90-333**, le CERIA dispose de :

- **2 Surbers** à filet de maille 500 µm et de surface 1/20 m² ;
- **2 filets à bluter** (maille 500 µm) ;
- **4 bassines**, permettant d'éliminer les éléments les plus grossiers (pierres, galets, branches...) ;
- Un stock d'environ 100 **pots hermétiques** destinés uniquement aux échantillons IBG-DCE ;
- Une mallette **multi-paramètres** équipés de sonde mesurant le pH, le taux de saturation, l'oxygène dissous, la conductivité et la température ;
- **Appareils photos** (reflex et subaquatiques) pour les photos des stations et d'éventuelles sources de pollution et autres observations... ;
- Fiches de terrain.

E. Conditionnement, conservation, transport et réception des échantillons

Les douze échantillons d'invertébrés réalisés sur une station sont conditionnés dans **trois bocal**s (chacun représentant une phase de prélèvement), sur lesquels il est mentionné :

- Le nom du cours d'eau ;
- Le code de la station et de l'étude ;
- La date et heure de prélèvement ;
- Le numéro du bocal ;
- Le numéro du prélèvement.

Après avoir retiré un maximum d'eau par filtration (au filet de mailles 500 µm), les prélèvements sont fixés à l'**alcool à 90%** (il est considéré que l'eau résiduelle participe à la dilution de l'alcool qui approche après mélange les 80% dans le pot de prélèvement, teneur optimale pour une bonne conservation des organismes).

Les prélèvements sont placés dans des caisses de transport, dans le véhicule, par l'agent préleveur et **classés par station** afin d'assurer leur traçabilité. Le transfert vers le lieu de stockage se fait le **plus rapidement possible**, en prenant soin de ne pas agiter les pots de prélèvements pour **éviter la détérioration** des invertébrés. Ils sont maintenus dans une atmosphère la plus optimale possible (air climatisée, à l'abri de la lumière). L'exposition prolongée du véhicule de transport au rayonnement solaire est évitée.

Une fois au laboratoire, les flacons sont rangés sur des étagères propres, à l'abri de la lumière, dans une pièce dédiée au stockage des échantillons avant tri. Ils sont classés par étude et par station.

L'ensemble des informations relatives à la station d'étude et au prélèvement reste disponible à tout moment en cas d'anomalie ou sur simple demande du client. Tout au long de la phase d'acquisition des données, un soin particulier est porté à la **démarche qualité** afin d'assurer une traçabilité des échantillons.

6.1.2. Phase de laboratoire

Le protocole de tri et de dénombrement respectera la **norme NF T90-388** (décembre 2020) qui remplace la norme expérimentale XP T90-388 (juin 2010) : Qualité de l'eau - Traitement au laboratoire d'échantillons contenant des macro-invertébrés de cours d'eau.

A. Protocole de tri réalisé par le CERIA

Chaque échantillon est séparé en 3 fractions dans une colonne de tamis :

- Tamis 1 de 5 mm,
- Tamis 2 de 1 mm
- Tamis 3 de 500 µm ;

Afin de **préserver au maximum les individus** pour permettre une détermination fiable, le jet d'eau ne sera jamais orienté directement sur les échantillons. La méthode de **balnéation** sera utilisée. Le principe de la méthode utilisée est le suivant :

- Le premier tamis (tamis 1) est placé dans une cuvette partiellement remplie d'eau (au maximum au trois quarts pour éviter les débordements) ;
- Ce tamis est remué manuellement de bas en haut et tourné sur lui-même. Ces gestes se répètent jusqu'à qu'aucun élément plus fin que la maille ne s'échappe du tamis ;
- Toute la matière récupérée dans la cuvette est ensuite ajoutée dans le tamis inférieur (tamis 2). La même opération de tamisage dans une cuvette d'eau est ensuite répétée sur ce tamis ;
- Toute la matière récupérée dans la cuvette est ensuite ajoutée dans le tamis inférieur (tamis 3). La même opération de tamisage est répétée mais les particules inférieures à 500 µm sont cette fois rejetées.

Le but de cette étape est la séparation des fractions standardisées et **sans dommages conséquents** sur les invertébrés. Elle garantit une meilleure préservation des caractères distinctifs que le passage au jet d'eau, souvent destructeur.

Les prélèvements sont ensuite triés au **laboratoire du CERIA**, sous loupe binoculaire (grossissement allant de x 4 à x 60), suivant le protocole ci-dessous :

- Une fois la balnéation réalisée, le refus des tamis est placé délicatement à l'aide d'une pissette d'eau une petite bassine dont le contenu est réparti dans des coupelles de tri, de forme rectangulaire (5 x 10 cm). Ces coupelles présentent un fond transparent et quadrillé de manière à diviser la surface en 50 carrés de dimensions identiques.

***Remarque** : Il est important à cette étape à veiller à disposer d'un échantillon clair et peu chargé sous la binoculaire afin d'optimiser l'observation des taxons et de ne laisser passer aucun individu.*

- Tous les individus observés sont d'abord séparés pour identification ;
- Une fois identifiés, ils sont placés dans des tubes Eppendorf dans une **solution d'alcool éthylique non dénaturée et diluée à 80%**, jusqu'à atteindre le seuil de sous-échantillonnage préconisé (20 à 40 en fonction des taxons). Passé ce seuil, les individus des différents taxons identifiés seront comptabilisés dans la coupelle sans être prélevés.

Dans le cas où certains taxons présentent des effectifs très abondants (> 100 individus par coupelle de tri), un **sous-échantillonnage** sera réalisé. Dans chaque coupelle de tri, il sera dénombré les effectifs dans 10 carrés uniquement de manière aléatoire (en veillant à ce que le contenu de la coupelle soit réparti de manière homogène). Les effectifs sont alors multipliés par 5 pour avoir une estimation du nombre d'individus dans chaque coupelle. Le Maître d'ouvrage sera tenu informé de ce sous-échantillonnage.

Après l'identification, le comptage et le retrait des taxons identifiés, la coupelle de tri est repassée lors de **trois passages successifs** sous la binoculaire pour vérification afin de s'assurer que tous les taxons ont bien été pris en compte.

Ce protocole, sans être en contradiction avec la norme, permet d'avoir **une estimation plus proche** de la réalité. Les densités étant une métrique pertinente lors de l'interprétation des résultats, un soin particulier est porté au dénombrement, et le sous-échantillonnage ne s'applique qu'aux taxons très abondants.

B. Conservation

Pour chaque station, un **échantillon témoin est conservé**. Il comprend plusieurs exemplaires de chaque taxon inventorié sur la station. Ces échantillons sont conditionnés de manière à permettre la bonne conservation des macro-invertébrés présents dans les piluliers (éthanol 80%) et leur traçabilité (code station Agence, nom station, numéro de l'échantillon, date de prélèvement).

Après comptage, détermination et extraction d'un échantillon témoin, **l'ensemble du prélèvement est conservé dans l'alcool (90%)**. Ces échantillons sont conditionnés pour une conservation minimum de 5 ans.

Pour assurer la traçabilité des échantillons, un fichier Excel de référence sera élaboré et mentionnera pour chaque échantillon le n° de la station, la date du prélèvement, le nom du cours d'eau, la nature exacte des habitats, le nom du préleveur et du déterminateur.

6.2. Fiches des habitats prélevés

Station : Vol01			Cond climatiques : <i>Beau/ très chaud</i>		Long./Lat. Lim. amont : 4,368391/44,681753			
Cours d'eau : <i>Volane</i>			Cond hydrologiques : <i>Débit stable</i>					
Date : <i>24/06/2025 (15h)</i>			Visibilité fond : <i>Bonne</i>		Long./Lat. Lim. aval : 4.367917/44.681045			
Longueur totale : <i>100 m</i>			Turbidité : <i>Eau claire</i>					
Largeur à plein bord : <i>25 m</i>			Encroûtement : <i>non</i>					
Largeur du lit mouillé : <i>8 m</i>			Colmatage : <i>non</i>					
Observations/commentaires : T°C eau : 22,4°C ; C : 70 µS/cm ; ph : 6,7. Période caniculaire (air : 36/37°C).								
			Représentativité des substrats (%)		Classes de vitesses			
					N6	N5	N3	N1
Type substrat	S	Sandre	Superficie relative % estimé	Domin (D) / Margin (M) / Présent (P)	> 75 cm/s	75>V>25 cm/s	25>V>5 cm/s	V<5 cm/s
					N° Prélèvement	N° Prélèvement	N° Prélèvement	N° Prélèvement
Bryophytes	11	S1	4	M		A1		
Spermaphytes immergés (hydrophytes)	10	S2						
Débris organiques grossiers (litière)	9	S3						
Chevelus racinaires libres Supports ligneux	8	S28	1	M			A2	
Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) (25 à 250 mm)	7	S24	15	D		B1		
Blocs facilement déplaçables (> 250 mm)	6	S30	53	D	B4/C2	B2/C1	C3	
Granulats grossiers 25mm >taille>2 mm	5	S9						
Spermaphytes émergents de strate basse (Helophytes)	4	S10						
Sédiments fins organiques, "vases" <0,1mm	3	S11						
Sables <2 mm Limons	2	S25	1	M				A3
Algues bactéries et champignons filamenteux	1	S18	1 (Lemanea)	M		A4		
Surfaces uniformes dures naturelles et artificielles (roches, dalles,sols)	0	S29	25	D	B3	C4		

Station :	Vol02	Cond climatiques :	<i>Beau/ très chaud</i>	Long./Lat. Lim. amont :
Cours d'eau	<i>Volane</i>	Cond hydrologiques :	<i>Débit stable</i>	4.367042/44.679211
Date :	<i>24/06/2025 (13h)</i>	Visibilité fond :	<i>Bonne</i>	Long./Lat. Lim. aval :
Longueur totale :	<i>80 m</i>	Turbidité :	<i>Eau claire</i>	4.3661077/44.678378
Largeur à plein bord :	<i>16 m</i>	Encroûtement :	<i>non</i>	
Largeur du lit mouillé :	<i>7 m</i>	Colmatage :	<i>non</i>	

Observations/commentaires : T°C eau : 21,7°C ; C : 70 µS/cm ; ph : 6,7. Période caniculaire (air : 36/37°C).

Type substrat			Représentativité des substrats (%)		Classes de vitesses			
					N6	N5	N3	N1
					> 75 cm/s	75>V>25 cm/s	25>V>5 cm/s	V<5 cm/s
S			Superficie relative % estimé	Domin (D) / Margin (M) / Présent (P)	N° Prélèvement	N° Prélèvement	N° Prélèvement	N° Prélèvement
		Sandre						
Bryophytes	11	S1	5	M	A3	A1		
Spermaphytes immergés (hydrophytes)	10	S2						
Débris organiques grossiers (litière)	9	S3						
Chevelus racinaires libres Supports ligneux	8	S28						
Sédiments minéraux de grande taille (pierres, galets) (25 à 250 mm)	7	S24	15	D		B1		
Blocs facilement déplaçables (> 250 mm)	6	S30	40	D	B4/C3	B2/C1		
Granulats grossiers 25mm >taille>2 mm	5	S9						
Spermaphytes émergents de strate basse (Helophytes)	4	S10						
Sédiments fins organiques, "vases" <0,1mm	3	S11						
Sables <2 mm Limons	2	S25	2	M				A2/A4
Algues bactéries et champignons filamenteux	1	S18						
Surfaces uniformes dures naturelles et artificielles (roches, dalles,sols)	0	S29	38	D	B3	C2/C4		

6.3. Liste faunistique

Ordres	Familles	Taxons	Vol01	Vol02
Plécoptères	Chloroperlidae	<i>Siphonoperla</i>	2	0
Plécoptères	Leuctridae	<i>Leuctra</i>	206	162
Plécoptères	Leuctridae	<i>Leuctra geniculata</i>	12	11
Plécoptères	Nemouridae	<i>Protonemura</i>	55	41
Plécoptères	Perlidae	<i>Perla</i>	24	15
Trichoptères	Brachycentridae	<i>Micrasema</i>	28	81
Trichoptères	Hydropsychidae	<i>Hydropsyche</i>	87	119
Trichoptères	Hydroptilidae	<i>Hydroptila</i>	0	2
Trichoptères	Leptoceridae	<i>Mystacides</i>	7	0
Trichoptères	Leptoceridae	<i>Setodes</i>	17	9
Trichoptères	Limnephilidae	<i>Stenophylacini</i>	1	0
Trichoptères	Philopotamidae	<i>Chimarra marginata</i>	1	2
Trichoptères	Polycentropodidae	<i>Polycentropus</i>	3	6
Trichoptères	Psychomyiidae	<i>Psychomyia</i>	0	2
Trichoptères	Psychomyiidae	<i>Tinodes</i>	0	1
Trichoptères	Rhyacophilidae	<i>Rhyacophila</i>	58	54
Ephéméroptères	Baetidae	<i>Baetis</i>	598	499
Ephéméroptères	Baetidae	<i>Centroptilum luteolum</i>	3	0
Ephéméroptères	Baetidae	<i>Proclonia</i>	3	5
Ephéméroptères	Caenidae	<i>Caenis</i>	5	0
Ephéméroptères	Ephemerellidae	<i>Serratella ignita</i>	77	70
Ephéméroptères	Heptageniidae	<i>Ecdyonurus</i>	15	36
Ephéméroptères	Heptageniidae	<i>Epeorus</i>	93	40
Ephéméroptères	Leptophlebiidae	<i>Habrophlebia</i>	1	0
Ephéméroptères	Leptophlebiidae	<i>Leptophlebiidae</i>	1	0
Coléoptères	Dryopidae	<i>Dryops</i>	0	1
Coléoptères	Elmidae	<i>Elmis</i>	69	136
Coléoptères	Elmidae	<i>Esolus</i>	63	29
Coléoptères	Elmidae	<i>Limnius</i>	14	15
Coléoptères	Elmidae	<i>Oulimnius</i>	109	59
Coléoptères	Elmidae	<i>Stenelmis</i>	0	1
Coléoptères	Hydraenidae	<i>Hydraena</i>	4	5
Coléoptères	Scirtidae	<i>Hydrocyphon</i>	1	15
Coléoptères	Scirtidae	<i>Scirtidae</i>	1	0
Diptères	Anthomyiidae	<i>Anthomyiidae</i>	0	1
Diptères	Athericidae	<i>Atherix</i>	8	8
Diptères	Blephariceridae	<i>Blepharicera</i>	22	2
Diptères	Blephariceridae	<i>Liponeura</i>	0	1
Diptères	Chironomidae	<i>Chironomini</i>	12	1
Diptères	Chironomidae	<i>Orthoclaadiinae</i>	338	112
Diptères	Chironomidae	<i>Tanypodinae</i>	33	27
Diptères	Chironomidae	<i>Tanytarsini</i>	543	262
Diptères	Empididae	<i>Empididae</i>	6	7
Diptères	Limoniidae	<i>Limoniidae</i>	0	3
Diptères	Simuliidae	<i>Simulium</i>	769	680
Diptères	Tabanidae	<i>Tabanidae</i>	3	3
Odonates	Aeschnidae	<i>Boyeria irene</i>	4	1
Odonates	Gomphidae	<i>Onychogomphus</i>	5	9
Hémiptères	Gerridae	<i>Gerridae</i>	1	4
Hémiptères	Corixidae	<i>Micronecta</i>	2	0
Amphipodes	Gammaridae	<i>Gammarus</i>	0	1
Arachnida	Hydrachnidae	<i>Hydracarina</i>	75	117
Gastéropodes	Ancylidae	<i>Ancylus</i>	12	15
Nematoda	Nematoda	<i>Nematoda</i>	2	3
Oligochaeta	Oligochaeta	<i>Oligochaeta</i>	48	51
Tricladés	Dugesidae	<i>Dugesia</i>	11	30
Tricladés	Planariidae	<i>Polycelis</i>	1	0
richesses			48	47
effectifs			3453	2754
densité			5755	4590

Figure 12 : Tableau faunistique global des deux stations d'étude (phase A, B et C regroupées)