

Détails des travaux de laboratoire

Introduction

Ce document est une annexe à la fiche technique du jeu d'indicateurs 6 - Macrozoobenthos du « Contrôle des effets des revitalisations de cours d'eau ». Il est une aide pour le travail de tri et de dénombrement au laboratoire des invertébrés aquatiques récoltés lors d'un échantillonnage normal (8 placettes séparées). Les travaux se déroulent en 4 phases :

- 1) IBCH: Tri et dénombrement (-> remplir «ProtocoleLabo_IBCH_modif_8x» dans le formulaire des données);
- 2) EPT: Tri et dénombrement (-> remplir «Liste taxons E», «Liste taxons P», «Liste taxons T» dans le formulaire des données) ;
- 3) Envoi du matériel pour le contrôle qualité (détails à régler d'entente avec l'expert);
- 4) Archivage du matériel (recommandé mais optionnel).

Déroulement du tri et de la détermination au laboratoire

1. IBCH : Tri et dénombrement (-> remplir «ProtocoleLabo_IBCH_modif_8x» dans le formulaire des données)

Étape	Description
Vider le matériel d'une placette dans un bac ou une boîte de Pétri	<ul style="list-style-type: none">Le matériel d'une placette est vidé dans un récipient plat manipulable sous un stéréomicroscope en vue du tri des organismes. Un bac rectangulaire blanc de 18x23cm (bac de laboratoire) ou une boîte de Pétri en verre 9-11 cm Ø intérieur conviennent. Pour le tri, le stéréomicroscope peut être équipé d'une lentille additionnelle 0,5 ou 0,3x pour augmenter le champ de vision. Figure 1.
Étaler le matériel dans le récipient en le couvrant d'éthanol	<ul style="list-style-type: none">Le matériel est étalé de façon à pouvoir compter les invertébrés individuellement. Retirer la matière organique si le nettoyage sur le terrain était insuffisant. S'il y a des grands invertébrés, vérifier s'ils cachent les plus petits (p.ex. dans les pattes, les soies, sous leur corps). Étaler dans plusieurs bacs ou coupelles si le matériel est trop abondant. Figure 2.Si le tri est effectué dans l'eau, le travail nécessite beaucoup de soins : temps de passage dans l'eau court, retour rapide des animaux triés dans l'éthanol, contrôle du degré d'éthanol pour le conditionnement dans les tubes (voir point 3 et 4). Il est impératif que le matériel soit bien conservé pour empêcher le pourrissement des tissus, perte de pattes ou de branchies.
Trier, déterminer et dénombrer les taxons IBCH	<ul style="list-style-type: none">Les taxons sont triés et déterminés au niveau IBCH (généralement au niveau famille) et placés dans un récipient rempli d'éthanol non dénaturé à 85%. Figure 3.Le comptage est exhaustif ou suit la recommandation de l'IBCH_2019 c.-à-d. :<ul style="list-style-type: none">○ 1-50 individus en nombre absolu ;○ 51-100 individus estimation par tranches de 10 ;○ 101-300 individus estimation par tranches de 50 ;○ > 300 individus estimation par tranches de 100.
Cas particulier de taxons abondants (>100 à 200 individus)	<ul style="list-style-type: none">Le subsampling n'est pas permis. Lors de cas particuliers où un grand nombre d'individus (>100 à 200) du même taxon (p.ex. <i>Gammaridae</i>, larvules de <i>Baetidae</i>, pullulation de <i>Limnephilidae</i>...) est présent, il est autorisé de faire le dénombrement par comptage sur une portion du taxon réparti uniformément dans le bac ou la boîte de Pétri, puis en rapportant ce nombre à l'entier de l'échantillon de la placette. Figures 6 et 7.Les résultats des dénombrements au niveau IBCH sont reportés sur la feuille de calcul «ProtocoleLabo_IBCH_modif_8x» dans la colonne de la placette correspondante.



Figure 1 : Stéréomicroscope



Figure 2 : Bac 18x23 cm



Figure 3 : Boîte de Pétri en verre Ø 10 cm

Étape	Description
Conditionner les taxons non-EPT pour l’archivage définitif (recommandé mais optionnel)	<ul style="list-style-type: none"> Une fois comptés et saisis, les taxons non-EPT peuvent être archivés dans des tubes en verre (réf. modèle MZB). Seule une vingtaine d’individus sont conservés par taxons non-EPT et par station (c.-à-d. sur les 8 échantillons). Ces individus doivent représenter au mieux la diversité taxonomique (espèces, stades de développement, etc.). Une «étiquette-Wiko 1x» est placée dans chaque tube avec le nom du taxon au dos. Figures 4 et 13.
Conditionner les taxons EPT pour la détermination à l’espèce	<ul style="list-style-type: none"> Tous les taxons EPT sont conservés séparément par famille dans des tubes en verre ou des tubes PP/PS de 40-50 ml (en fonction du volume du matériel). Une «étiquette-Wiko 8x» avec le nom du taxon au dos est placée dans chaque tube. Figures 5 et 12.
Conserver la totalité du matériel EPT	<ul style="list-style-type: none"> A ce stade, la totalité du matériel EPT est conservé dans de l’éthanol non dénaturé à 85% et séparé par famille et par placette pour une détermination à l’espèce par un spécialiste. Des pastilles de couleur peuvent être utilisées pour séparer les éphémères (rouge) des plécoptères (bleu) et des trichoptères (vert). Ce marquage est utile si la détermination est effectuée par un spécialiste différent pour chaque ordre.
Répéter cette procédure pour chaque placette	<ul style="list-style-type: none"> A la fin du tri et de la détermination au niveau IBCH on peut se retrouver avec un assez grand volume de tubes pour les familles EPT, mais un seul tube pour chaque taxon non-EPT.



Figure 4 : Taxon non-EPT au dos d’une «étiquette-Wiko 1x»

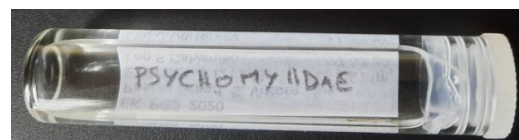


Figure 5 : Taxon EPT au dos d’une «étiquette-Wiko 8x»

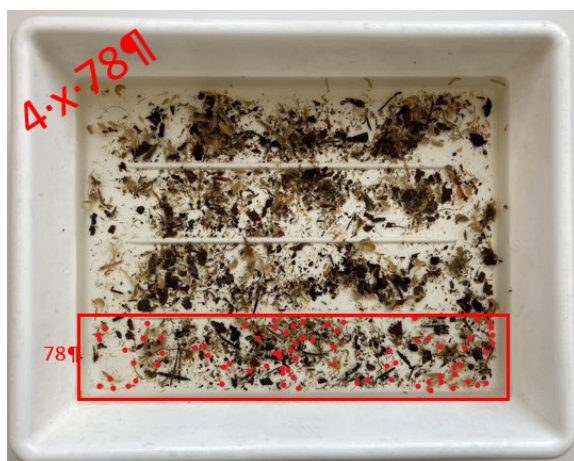


Figure 6 : Dénombrement de 1/4 des gammares abondants



Figure 7 : Coupelle avec 361 Gammares

2. EPT : Tri et dénombrement (-> remplir «Liste taxons E», «Liste taxons P», «Liste taxons T» dans le formulaire des données)

Étape	Description
Vider une famille EPT d'une placette dans une boîte de Pétri remplie d'éthanol non dénaturé à 85%	<ul style="list-style-type: none"> • Pour chaque famille et placette, les espèces présentes sont triées et déterminées au plus haut niveau possible en fonction du stade de développement des larves et de la littérature conseillée. Différents niveaux de déterminations sont décrites par la liste «Liste déroulante EPT» dans le formulaire des données du jeu 6. Ce travail est réalisé par un spécialiste. • Les résultats des dénombrements au niveau espèce sont reportés sur les feuilles de calculs «Liste taxons E/P/T» dans le formulaire des données séparément pour chaque ordre dans la colonne de la placette correspondante. • Le comptage est exhaustif ou suit la recommandation de l'IBCH_2019 c.-à-d. : <ul style="list-style-type: none"> ○ 1-50 individus en nombre absolu ; ○ 51-100 individus estimation par tranches de 10 ; ○ 101-300 individus estimation par tranches de 50 ; ○ > 300 individus estimation par tranches de 100. • Lors de cas particuliers où un grand nombre d'individus (>100 à 200) de la même espèce (p.ex. <i>Allogamus auricollis</i>) est présent, il est autorisé de faire le dénombrement par comptage sur une portion du taxon réparti uniformément dans le bac ou la boîte de Pétri, puis en rapportant ce nombre à l'entier de l'échantillon de la placette. Figure 8.
Trier, déterminer et dénombrer les taxons EPT	
Cas particuliers des taxons très abondants (>100 à 200 individus)	
Conditionner les taxons EPT pour l'envoi au contrôle qualité (expert EPT)	<ul style="list-style-type: none"> • Toutes les espèces EPT sont conservées dans des tubes en verre remplis d'éthanol non dénaturé à 85% et séparées par placette pour un envoi à un expert pour le contrôle qualité. Les détails de l'expédition (date d'envoi, délais, format...), sont réglés d'entente avec l'expert. • Des pastilles de couleur peuvent être utilisées pour séparer les éphémères (rouge) des plécoptères (bleu) et des trichoptères (vert). Ce marquage est utile si la détermination est effectuée par un expert différent pour chaque ordre.
Répéter cette procédure pour chaque placette	<ul style="list-style-type: none"> • A la fin du tri et de la détermination au niveau EPT on peut se retrouver avec un assez grand volume de tubes pour les espèces EPT.



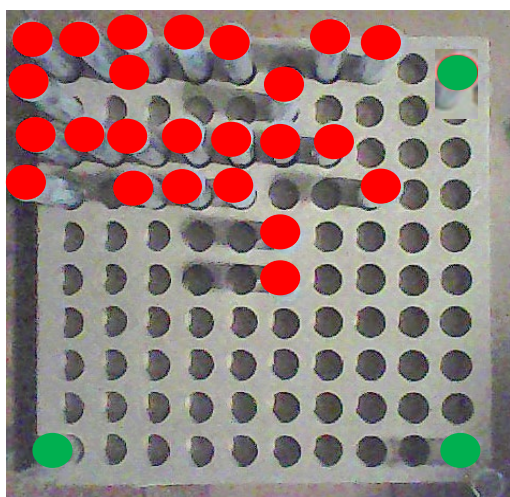
Figure 8 : Exemple avec 137 individus de *Allogamus auricollis* étalés uniformément dans une coupelle. Selon le quart dénombré, le rapport de ce nombre à l’entier de l’échantillon varie entre 128 et 144 individus.

3. Envoi du matériel pour le contrôle qualité (détails à réglés d’entente avec l’expert)

Étape	Description
Conditionner les taxons EPT pour l’envoi au contrôle qualité (expert EPT)	<ul style="list-style-type: none"> Les tubes de verre séparés par placette et contenant les taxons EPT déterminés à l’espèce sont placés par quatre dans des tubes PP de 60 ml et répartis par ordre dans des sachets. Les sachets sont placés verticalement dans un bidon d’expédition pour l’envoi. Figure 9. Les détails de l’envoi (date d’envoi, délais, format, etc.) sont réglés d’entente avec l’expert (variante Figure 10). Des pastilles de couleur peuvent être utilisées pour séparer les éphémères (rouge) des plécoptères (bleu) et des trichoptères (vert). Ce marquage est utile si la détermination est effectuée par un expert différent pour chaque ordre.
Recommandations complémentaires	<ul style="list-style-type: none"> Toujours mettre l’étiquette dans le tube pour indiquer la provenance. Jamais de marquage au feutre à l’extérieur du tube, car s’efface au contact de l’alcool. Etiquette lisible, appliquée contre la paroi avec l’écriture de bas en haut. Ne pas « tasser » les spécimens dans les tubes ! Ils ne doivent pas représenter plus de la moitié du volume de l’alcool. Remplir d’alcool 85% non-dé-naturé jusqu’en haut. Si nécessaire, utiliser un 2ème tube type MZL pour le même taxon. Utiliser un autre système de conditionnement d’entente avec l’expert (figure 10).
Feedback de l’expert	<ul style="list-style-type: none"> Le matériel est en principe retourné à l’expéditeur une fois le contrôle qualité terminé. Les remarques de l’expert sont transmises dans la colonne « Remarque CQ » dans les feuilles de calculs « Liste taxons E/P/T » dans le formulaire des données. D’autres informations plus détaillées peuvent éventuellement être transmises séparément. Après le contrôle qualité, le matériel des différentes placettes est rassemblé dans un seul tube par taxon et par station pour réduire le volume du matériel et recycler les tubes en verre. Cela se fait d’entente, soit par le déterminateur soit directement par l’expert.



Figure 9 : **A :** System de conditionnement conseillé pour l’envoi de tous les tubes PP EPT pour le contrôle qualité. Pour une même station, tous les tubes EPT sont identifiés par une pastille de couleur, groupés dans un sachet et rassemblés dans un seau pour l’envoi postal. Coller sur le couvercle une ou plusieurs «étiquette-Wiko 1x» avec le nom du collaborateur. **B :** grouper dans un sachet par couleur (EPT) et par station en cas d’envoi séparé par experts EPT.



Liste taxons EPT	Total	1	2	3	4	5	6	7	8
Taxons certains /sicher identifizierte Taxa									
1 Baetis rhodani	485	97	20	37	53	11		16	2
2 Baetis alpinus	81	80					1		
3 Baetis sp.	165	40	12	15	12	29	2	5	
4 Alainites muticus	46	17	8	6	10				5
5 Centroptilum luteolum	1						1		
6 Ephemera danica	7						7		



Figure 10 : Système de conditionnement alternatif pour l’expédition des espèces EPT pour le contrôle qualité. Les échantillons sont séparés par station et ordre sur des plaques perforées. Les plaques peuvent être superposés par 3 pour l’expédition.

4. Archivage du matériel (recommandé mais optionnel)

Étape	Description
Conditionnement définitif du matériel après contrôle qualité	<ul style="list-style-type: none"> Les taxons-EPT déterminés à l'espèces et contrôlés sont rassemblés par ordre et par station dans des tubes en verre modèle MZL fermés par des bouchons d'ouate. Si les taxons EPT ont déjà été conservés dans des tubes en verre pour le contrôle de qualité, le couvercle en plastique peut être facilement remplacé par un bouchon en ouate. Un tube par taxon et par station constitue la collection de référence pour la station. Les tubes en verre sont placés par ordre EPT dans des Flacons à col large PET brun de 750 ml. Chaque flacon peut contenir environ 60 tubes en verre. Les flacons en PET à col large sont ensuite remplis d'éthanol non dénaturé à 85% et fermés. Figure 11.



Figure 11 : Flacons à col large PET brun pour l'archivage du matériel EPT et non EPT.

Références pour le matériel conseillé

Matériel	Source d'approvisionnement possible
Boîtes de Pétri	Semadeni art.12215 (Ø 60 mm), Semadeni art. 12218 (Ø 100 mm), Semadeni art. 12219 (Ø 120 mm)
Bac de laboratoire	Semadeni art.3616
Tubes en verre et bouchons	MILIAN art. 041-412112A (fabrication spéciale sur demande)
Tubes PP ou PS	Semadeni art. 11513 (correspond aux anciens tubes 50 ml PS)
Brucelles entomo	Bioform « Entomologiebedarf» art. B31b
Ethanol 85%	éthanol 94% non dénaturé , coupé avec de l'eau distillée
Entonnoir de transvasage	Semadeni art. 211 (Entonnoir à poudre PP ø 100 mm)
Récipient pour Ethanol	Semadeni art. 16 (fiolle à jet PE-LD 250ml)
Seau pour envoi postal	Semadeni art. 12276 (seau rectangulaire PE-HD 295 x 200 x 150mm)
Séparation des échantillons par ordre EPT et station	Sachets plastiques divers (p.ex. sachets multiusage 2 l par rouleaux de 150 pièces)
Flacons à col large PET brun	Semadeni art. 5546 (750 ml)
Plaque perforée	MILIAN art. 39290371 (Porte-tubes en polystyrol) ou fait à la main

Modèles pour les étiquettes

Des modèles d'étiquettes spécifiques liée à la station sont disponibles (voir annexes) :

- «Etiquette-Wiko 8x» pour l'étiquetage des
 - bacs sur le terrain, séparés par placettes, contenant tout le matériel
 - tubes des taxons EPT avant le contrôle qualité

Contrôle des effets des projets de revitalisations – Apprendre ensemble pour l’avenir.

- «Etiquette-Wiko 1x» pour l’étiquetage des
 - tubes pour l’archivage des taxons Non-EPT
 - tubes pour l’archivage des taxons EPT après le contrôle qualité
 - seau pour l’envoi postal

Les étiquettes sont imprimées à l’aide d’une imprimante laser. Eviter le papier recyclé gris ou blanchi de mauvaise qualité. Utiliser du papier blanc à 80mg/m2.

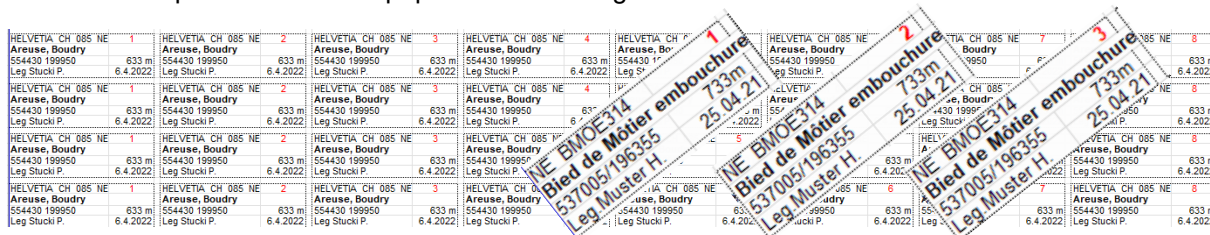


Figure 12 : Exemple d’un modèle d’étiquette «étiquette-Wiko 8x». La couleur rouge a été utilisée ici à des fins d’illustration.

HELVETIA CH 085 NE	
Areuse, Boudry	
554430 199950	633 m
Leg Muster H.	6.4.2022

Figure 13 : Exemple d’un modèle d’étiquette «étiquette-Wiko 1x».

Informations complémentaires

Annexes

Le formulaire des données (contenant la grille d’échantillonnage et les protocoles de labo), le formulaire contrôle qualité, les détails des travaux de laboratoire et les modèles d’étiquettes sont téléchargeables sur: <https://www.bafu.admin.ch/contrôle-des-effets-revit>

Le module SMG (OFEV 2019) est téléchargeable [ici](#).

Répertoire des modifications

Les changements pertinents depuis la dernière version sont mis en évidence en [vert](#).

Date (mm/yy)	Version	Modification	Responsabilité