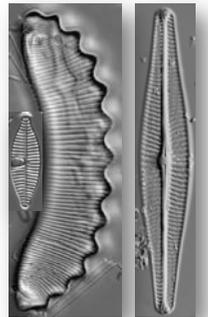


Protocole d'échantillonnage des diatomées benthiques

Procédure à des fins de biosuivi de l'intégrité
biotique des cours d'eau



2018

Photos de la page couverture : Martine Grenier (MDDELCC) et Isabelle Lavoie (INRS-ETE)

Coordination et rédaction

Cette publication a été réalisée sous la coordination de la Direction générale du suivi de l'état de l'environnement du ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC).

Renseignements

Pour tout renseignement, vous pouvez remplir le formulaire disponible à cette adresse :

www.mddelcc.gouv.qc.ca/formulaires/renseignements.asp.

Téléphone : 418 521-3830
1 800 561-1616 (sans frais)

Le présent document peut être consulté sur le site du ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques à l'adresse suivante : www.mddelcc.gouv.qc.ca

Ou

Visitez notre site Web :

<http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/flrivlac/Protocole.pdf>

Référence à citer

Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (2018). *Protocole d'échantillonnage des diatomées benthiques - Procédure à des fins de biosuivi de l'intégrité biotique des cours d'eau*. Québec, Direction de l'information sur les milieux aquatiques. 11 pages + 2 annexes.

Dépôt légal – 2018
Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2018
ISBN 978-2-550-82564-7 (PDF)

Tous droits réservés pour tous les pays

© Gouvernement du Québec, 2018

ÉQUIPE DE RÉALISATION

Coordination et rédaction	Martine Grenier, Ph. D. ¹
Révision scientifique	Isabelle Lavoie, Ph. D. ² Stéphane Campeau, Ph. D. ³ Sylvie Legendre, technicienne ¹

¹ Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Direction générale du suivi de l'état de l'environnement, Direction de l'information sur les milieux aquatiques.

² Institut national de la recherche scientifique – Centre Eau, Terre et Environnement.

³ Université du Québec à Trois-Rivières, Département des sciences de l'environnement.

TABLE DES MATIÈRES

Conditions d'application et contenu du document	1	
1. Matériel nécessaire pour le prélèvement des diatomées benthiques	2	
2. Agent de conservation	3	
3. Échantillonnage : procédure abrégée	4	
4. Échantillonnage : procédure détaillée	6	
4.1 Période d'échantillonnage	6	
4.2 Localisation des stations d'échantillonnage et des points de prélèvement	7	
4.2.1 Nature du substrat à échantillonner	7	
4.2.2 Caractéristiques hydromorphologiques à l'intérieur de la station d'échantillonnage	9	
Références bibliographiques	11	
Annexe 1	Fiche terrain : caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques	13
Annexe 2	Illustrations des procédures d'échantillonnage	14

CONDITIONS D'APPLICATION ET CONTENU DU DOCUMENT

Le présent protocole vise à faire connaître la méthode d'échantillonnage des diatomées benthiques (périphytiques)⁴ (composante majeure du biofilm⁵) adéquate à des fins de biosuivi de l'intégrité biotique des cours d'eau. Elle est appropriée, entre autres, pour le biosuivi à l'aide d'indices diatomiques, dont l'Indice Diatomées de l'Est du Canada (IDEC; Lavoie et coll., 2006, 2010 et 2014; Grenier et coll., 2006, 2010a et 2010b), ou de toute autre analyse de la composition (structure) et de la diversité taxonomique des communautés de diatomées benthiques. Cette approche n'est toutefois pas adaptée pour une analyse de la biomasse diatomifère. La méthode est applicable aux cours d'eau naturels ou artificialisés, ainsi qu'aux fossés du Québec, mais elle peut également être utilisée ailleurs qu'au Québec si les objectifs de l'étude s'y prêtent. La méthode d'échantillonnage proposée est inspirée du *Guide d'identification des diatomées des rivières de l'Est du Canada* (Lavoie et coll., 2008) et de la norme AFNOR (2016; T90-354) émise pour les applications de la Directive-cadre européenne sur l'eau (DCE; 2000/60/CE).

Dans le cadre de l'application de l'IDEC, les mesures de pH et de conductivité spécifique du cours d'eau sont particulièrement utiles afin de tenir compte de la variabilité naturelle liée aux différents types de géologie et dépôts de surface. Celles-ci facilitent le choix du sous-indice (neutre, alcalin ou minéral) de l'IDEC approprié à chaque site d'échantillonnage. Pour plus de détails sur la méthode permettant la sélection du sous-indice de l'IDEC adapté à chaque site, consulter la publication de Campeau et ses collaborateurs (2013).

Les sections 1 et 2 du protocole traitent du matériel nécessaire à l'échantillonnage des diatomées benthiques, la section 3 traite de la procédure d'échantillonnage abrégée et la section 4 traite de la procédure détaillée. Une fiche de caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques est jointe à l'annexe 1 et des photographies illustrant différentes étapes de l'échantillonnage des diatomées benthiques apparaissent dans l'annexe 2.

⁴ Algues microscopiques unicellulaires (taille comprise entre environ 5 µm et 500 µm), appelées aussi Bacillariophycées, qui croissent sur un substrat (support de culture) submergé dans les cours d'eau ou dans les plans d'eau. Ce groupe algal est généralement dominant dans les biofilms de cours d'eau.

⁵ Mince couche de microorganismes (champignons, algues ou protozoaires), qui adhèrent entre eux et à une surface, marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice.

1. MATÉRIEL NÉCESSAIRE POUR LE PRÉLÈVEMENT DES DIATOMÉES BENTHIQUES

Le matériel nécessaire pour prélever les diatomées benthiques est présenté en deux catégories : le matériel particulier pour le prélèvement du biofilm et le matériel d'échantillonnage courant.

Matériel particulier pour le prélèvement du biofilm	
Brosses à dents standards (au moins deux) ou autre instrument similaire (p. ex., pinceau dont les poils sont coupés à environ 1 cm)	<input type="checkbox"/>
Un échantillonneur de type brosse télescopique, ou tout autre échantillonneur donnant un résultat similaire – optionnel – seulement si des surfaces verticales dures doivent être échantillonnées.	<input type="checkbox"/>
Récipients étanches et propres (pot, bouteille ou tube) d'environ 50 ml. La forme, la taille et le matériau sont au choix du technicien – un par site.	<input type="checkbox"/>
Solution Lugol (solution d'iodure de potassium iodée – concentrée à au moins 2 %) ou autre agent de conservation (voir la section 2)	<input type="checkbox"/>
Pipettes (au moins deux), en plastique de préférence, pour éviter les bris.	<input type="checkbox"/>
Gants de caoutchouc ou de nitrile	<input type="checkbox"/>
Bidon d'eau propre	<input type="checkbox"/>
Fiches de caractérisation de l'habitat des diatomées (annexe 1) – une par site	<input type="checkbox"/>
Bordereau de demande d'analyse pour les diatomées (p. ex., CEAEQ ⁶)	<input type="checkbox"/>
Glacière et glace (ou bloc réfrigérant de type <i>ice pack</i>)	<input type="checkbox"/>
Sonde multiparamètres pour mesures physicochimiques <i>in situ</i> (ou sondes individuelles) – optionnel	<input type="checkbox"/>
Matériel d'échantillonnage courant	
Équipement de sécurité approprié pour l'échantillonnage en milieu aquatique (VFI ⁷ et corde)	<input type="checkbox"/>
Bottes-pantalons de pêche, cuissardes ou bottes d'eau	<input type="checkbox"/>
Crayons-feutres à encre permanente ou autre moyen pour identifier de façon permanente les échantillons. Si des étiquettes sont utilisées, elles doivent pouvoir résister à un environnement humide.	<input type="checkbox"/>
Tablette rigide pour écrire et crayon à mine de plomb	<input type="checkbox"/>
Appareil photo	<input type="checkbox"/>
Liste des sites d'échantillonnage	<input type="checkbox"/>
Système de localisation GPS	<input type="checkbox"/>

⁶ Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

⁷ Vêtement de flottaison individuel

2. AGENT DE CONSERVATION

Les agents de conservation sont requis afin d'arrêter la division cellulaire des diatomées et la décomposition de la matière organique. Le biofilm sera ensuite traité en laboratoire (digestion au peroxyde d'hydrogène) afin de ne conserver que la coquille siliceuse des diatomées⁸. Il n'est pas nécessaire d'ajouter un agent de conservation sur le terrain lorsque les échantillons sont traités au laboratoire dans un délai de 24 heures après le prélèvement, et si pendant ce délai, ils sont constamment conservés au frais et à l'obscurité. Si l'ajout d'un agent de conservation est nécessaire, il convient de le faire peu de temps après le prélèvement.

Il est recommandé d'utiliser du Lugol comme agent de conservation en raison de la faible quantité requise et de sa facilité d'utilisation lors de l'échantillonnage. Toutefois, le Lugol ne convient pas pour la conservation à long terme (plus d'un an) du fait des problèmes induits par sa dégradation. Par conséquent, il faut s'assurer de traiter l'échantillon en laboratoire dans une période d'un an suivant l'échantillonnage. L'utilisation d'une solution d'éthanol (C₂H₅OH)⁹ ou de formaldéhyde (CH₂O) tamponnée¹⁰ (formol) est recommandée pour la conservation des échantillons à long terme. Toutefois, l'usage du formol est déconseillé compte tenu des risques qu'il engendre pour la santé humaine. Sa préparation ne sera donc pas décrite.

NOTE : Il est important de s'assurer que l'agent de conservation utilisé est reconnu et accepté par le laboratoire d'analyse en charge du traitement et de l'identification taxonomique des échantillons.

Lugol

Se procurer une solution de Lugol (iodure de potassium iodée) concentrée à au moins 2 % ou dissoudre 2 g d'iodure de potassium et 1 g de cristaux d'iode dans 300 ml d'eau distillée ou déminéralisée. La solution doit être conservée dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière afin de minimiser sa dégradation (p. ex., bouteille de couleur ambrée conservée dans une glacière). À l'aide d'une pipette, ajouter une à cinq gouttes de Lugol par 100 ml d'échantillon d'eau, dans lequel est déposé le biofilm récolté, pour donner une couleur « thé » à l'eau. Il est nécessaire d'en ajouter davantage si les échantillons sont riches en matières organiques (grande biomasse de biofilm).

NOTE : Certaines formulations pour produire du liquide de Lugol, utilisées notamment pour la fixation du phytoplancton, incluent de l'acide acétique ou du glutaraldéhyde pour éviter la perte des flagelles. Il est recommandé de ne pas ajouter ces réactifs lorsque la solution doit être utilisée pour les diatomées, car ils peuvent entraîner la dissolution de la silice.

Éthanol

Se procurer une solution d'éthanol concentrée à 90 % (v/v) environ. L'éthanol provenant du commerce de détail convient. Contrairement à l'utilisation du Lugol où des gouttes sont ajoutées à l'échantillon d'eau, l'utilisation de l'éthanol requiert d'introduire directement le biofilm dans le liquide de conservation (au moins 50 ml) et d'introduire le minimum d'eau dans l'échantillon au moment du prélèvement afin d'en assurer une conservation adéquate. L'éthanol étant volatil, il est important de s'assurer de l'étanchéité du récipient d'échantillonnage utilisé.

⁸ Le squelette des diatomées se compose de deux frustules (coquilles) composés de silice. C'est l'ornementation particulière des frustules qui permet l'identification de chaque taxon de diatomées.

⁹ L'éthanol altère les chloroplastes des diatomées, ce qui est problématique si l'on souhaite observer les cellules vivantes de diatomées.

¹⁰ En chimie, est tamponné ce qui maintient constant le pH. Par extension, une solution tamponnée ne subit que de faibles variations de sa composition chimique.

3. ÉCHANTILLONNAGE : PROCÉDURE ABRÉGÉE

Le prélèvement du biofilm, pour la récolte de diatomées benthiques, peut être réalisé dans tous les types de cours d'eau, à condition de suivre les recommandations énumérées ci-dessous. Les recommandations détaillées apparaissent à la section 4. Celles-ci permettent, entre autres, d'effectuer les bons choix en ce qui concerne le substrat échantillonné et les conditions hydromorphologiques sélectionnées lorsque les conditions d'échantillonnage ne sont pas optimales. Les conditions d'échantillonnage optimales recherchées sont : prélever un échantillon composite de biofilm sur au moins cinq pierres submergées (exemptes de sédiments, de végétaux et de débris) disposées uniformément dans un tronçon longitudinal de 50 m, en milieu lotique et ouvert. Il est recommandé de modifier la localisation de la station d'échantillonnage afin d'effectuer les prélèvements dans des conditions optimales, si cela ne contrevient pas aux objectifs du projet. Lorsqu'elles ne sont pas présentes, indiquer les éléments qui en diffèrent sur la fiche de caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques.

Les recommandations sont les suivantes :

- Effectuer la campagne d'échantillonnage en période d'étiage (idéalement vers la fin août et le début septembre). Si le calcul de l'IDEC est prévu, l'échantillonnage doit avoir lieu entre le 1^{er} juillet et le 1^{er} octobre, soit la période correspondant à celle où l'indice a été développé.
- Faire une prévisite des sites d'échantillonnage pour vérifier la présence de substrats d'échantillonnage adéquats et introduire des substrats au besoin (voir la section 4.2.1). Les substrats doivent être introduits au moins quatre semaines avant l'échantillonnage, afin de permettre leur colonisation.
- Éviter les jours qui suivent des précipitations abondantes entraînant une crue.
- Échantillonner en amont d'un pont et à plus de 100 m en aval de l'embouchure d'un lac, d'un étang ou d'un barrage.
- Éviter la proximité de rejets ponctuels qui peuvent modifier les conditions locales (drains agricoles, émissaires pluviaux, etc.), sauf si l'objectif de l'étude est de mesurer leurs effets (amont-aval).
- Sélectionner un tronçon longitudinal d'une longueur d'environ 50 m (station d'échantillonnage). À l'intérieur de celui-ci, échantillonner de préférence les secteurs d'eau vive, ensoleillés et au centre du cours d'eau. Toutefois, faire primer la sélection d'un substrat adéquat (voir la section 4.2.1).
- Réaliser un échantillon composite (plusieurs substrats) par station d'échantillonnage. Choisir au moins cinq substrats rocheux, des pierres (ou blocs, > 26,5 cm de diamètre) de préférence ou des galets/cailloux (10 cm de diamètre et plus). En l'absence de pierre, échantillonner plus de cinq cailloux/galets ou la roche-mère. En l'absence de substrat rocheux, échantillonner d'autres types de substrats durs inertes, tels que des blocs de béton.
- S'assurer que le substrat n'a pas été exondé au cours d'une période d'étiage, dans les semaines précédant l'échantillonnage.
- Éviter les substrats ayant une couche de sédiments en surface (quelques millimètres peuvent être acceptables), des algues filamenteuses abondantes ou des bryophytes. Si aucun autre substrat n'est disponible, échantillonner les zones sur le substrat où il n'y a pas de végétaux ni de sédiments. S'il y a une fine couche de sédiments, brosser délicatement la surface de ceux-ci.

- Si le nombre de substrats disponibles dans un tronçon longitudinal de 50 m est insuffisant, il est préférable de choisir moins de substrats, mais de la bonne taille (poids suffisant pour ne pas avoir été transportés de l'amont) et non envasés.
- Sélectionner, de préférence, une profondeur d'échantillonnage entre 20 et 60 cm, selon la transparence et le niveau de l'eau (tableau 1).

Tableau 1 Choix de la profondeur d'échantillonnage en fonction du niveau et de la transparence de l'eau

Niveau de l'eau	Transparence élevée	Transparence faible
Faible	30 cm	20 cm
Élevée	60 cm	40 cm

Les recommandations sont les suivantes :

- Inscrire le numéro d'identification du site et la date d'échantillonnage sur le récipient.
- Rincer puis remplir le récipient d'eau provenant du cours d'eau (environ 30 ml).
- Retirer délicatement les substrats de l'eau (si possible) afin d'éviter la perte de biofilm.
- Brosser, à l'aide d'une brosse à dents, la surface supérieure du substrat pour prélever le biofilm, puis nettoyer la brosse à dents dans le récipient d'échantillonnage. Répéter aussi souvent que nécessaire. La surface totale échantillonnée sur le substrat devrait être d'environ 100 cm² ou plus. Appliquer cette méthode à chaque substrat échantillonné. Indiquer le(s) type(s) et le nombre de substrats échantillonnés sur la fiche de caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques.
- Après le prélèvement sur les cinq substrats, nettoyer la brosse à dents (p. ex., avec les doigts) avec de l'eau du cours d'eau, puis de l'eau propre pour minimiser la contamination (transfert de diatomées) dans les échantillons subséquents.
- Ajouter quelques gouttes de Lugol dans le récipient jusqu'à l'obtention d'une couleur « thé » et garder au frais (dans une glacière, puis dans un réfrigérateur) et à l'obscurité jusqu'au moment du traitement de l'échantillon en laboratoire.
- Prendre la position géographique du site à l'aide d'un GPS.
- Prendre les mesures physicochimiques *in situ* (p. ex., pH et conductivité spécifique), le cas échéant, en amont du site de prélèvement du biofilm afin d'éviter les effets du piétinement dans le cours d'eau sur la physicochimie de l'eau. Pour cette même raison, la prise de mesures physicochimiques peut être effectuée avant l'échantillonnage du biofilm.
- Remplir la fiche de caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques afin de caractériser le littoral et les rives du tronçon échantillonné. Elle permet notamment de relever les éléments pouvant expliquer des particularités dans les communautés de diatomées échantillonnées.
- Prendre des photographies de l'amont, de l'aval et des substrats échantillonnés. Il est préférable de prendre les photographies exactement au site échantillonné. Ces photographies permettront d'établir le portrait global du site, de l'état du cours d'eau et des substrats (niveau d'eau, turbidité, ensablement, etc.) au moment de l'échantillonnage.

NOTE : Les diatomées donnent habituellement une couleur brunâtre au substrat qu'elles colonisent. Il est toutefois possible qu'elles ne soient pas visibles, ce qui ne signifie pas qu'elles sont absentes.

4. ÉCHANTILLONNAGE : PROCÉDURE DÉTAILLÉE

Les indices diatomiques, tels que l'IDEC, ont pour objectif de refléter la façon dont la composante algale, à la base de la chaîne alimentaire, répond à la qualité écologique globale d'un cours d'eau. La composition taxonomique des communautés de diatomées est principalement déterminée par les caractéristiques chimiques de l'eau, soit principalement la salinité, la conductivité, le pH, ainsi que les concentrations en nutriments (phosphore et azote) et en matières organiques du cours d'eau. Dans le cadre d'un biosuivi de l'intégrité biotique des cours d'eau, le choix de la période d'échantillonnage, ainsi que la localisation des stations d'échantillonnage et des points de prélèvement, doivent être effectués de façon à réduire l'influence des facteurs physiques naturels sur les communautés de diatomées. Les facteurs physiques devant être uniformisés sont, par ordre d'importance : la saison (indirectement la température de l'eau), la nature du substrat et les caractéristiques hydromorphologiques présentes (vitesse de courant et lumière). L'uniformisation des facteurs physiques permet de s'assurer que toute modification dans la composition taxonomique des communautés de diatomées est attribuable à un changement dans la chimie de l'eau. Pour plus de détails sur l'influence des facteurs physicochimiques sur la composition taxonomique des communautés de diatomées benthiques, consulter le *Guide d'identification des diatomées des rivières de l'Est du Canada* (Lavoie et coll., 2008).

4.1 Période d'échantillonnage

Les conditions hivernales québécoises ont pour effet de provoquer un phénomène de recolonisation graduelle des substrats du printemps jusqu'à l'automne, ce qui occasionne des différences taxonomiques entre les communautés de diatomées printanières et estivales. En ce sens, l'IDEC a été développé afin de caractériser principalement la période d'étiage estival. Le calcul de l'IDEC nécessite donc que l'échantillonnage soit réalisé du 1^{er} juillet au 1^{er} octobre (Lavoie et coll., 2006, 2010 et 2014). Au-delà de cette période, la validité des résultats pourrait être affectée.

À l'intérieur d'une même saison, la période sélectionnée pour une campagne d'échantillonnage doit tenir compte des éléments suivants :

- Les diatomées intègrent les caractéristiques physicochimiques de l'eau pendant environ quatre à cinq semaines précédant l'échantillonnage. Les dates d'échantillonnage doivent donc être déterminées en fonction de la période à l'étude.
- Il est important de s'assurer que les substrats à échantillonner ont été submergés de façon continue, afin que le peuplement diatomifère soit représentatif des conditions physicochimiques de l'eau de l'ensemble de la période à l'étude. Les périodes d'étiage sévère et de sécheresse pouvant précéder l'échantillonnage sont donc à surveiller.
- L'intensité des événements hydrologiques antérieurs au prélèvement doit également être prise en compte :
 - Après des événements hydrologiques de faible intensité (crues de faible intensité ou inondations de quelques jours), il est recommandé d'attendre quelques jours avant de faire des prélèvements, afin que les substrats échantillonnés soient représentatifs du lit mineur du cours d'eau;
 - Après des événements hydrologiques de forte intensité (crues entraînant un remaniement des substrats), il est recommandé d'attendre au moins deux semaines avant d'effectuer les prélèvements.

4.2 Localisation des stations d'échantillonnage et des points de prélèvement

La localisation des stations d'échantillonnage est établie à l'échelle du bassin versant en fonction des perturbations d'intérêt pour l'étude, en déterminant les tronçons de cours d'eau à échantillonner. Une station d'échantillonnage s'étend sur un tronçon longitudinal d'une longueur d'environ 50 m. La localisation des stations d'échantillonnage doit être cohérente avec les objectifs de l'étude (portrait du réseau hydrographique, impact d'un rejet ponctuel, etc.).

À l'intérieur d'une station d'échantillonnage, le positionnement des points de prélèvement doit être déterminé en limitant la variabilité dans les facteurs physiques qui ont une influence sur les communautés de diatomées. Comme mentionné précédemment, les facteurs physiques devant être uniformisés le plus possible sont, par ordre d'importance, la nature du substrat et les caractéristiques hydromorphologiques présentes (vitesse de courant et lumière). Ainsi, le positionnement des points de prélèvement est conditionné :

- (1) par la disponibilité du substrat d'échantillonnage (voir le détail à la section 4.2.1);
- (2) par les conditions hydromorphologiques de la station d'échantillonnage (voir le détail à la section 4.2.2).

Aucun rejet ponctuel et aucun affluent ne doit déverser ses eaux à l'intérieur de la limite de la station d'échantillonnage. Si tel est le cas, repositionner la station d'échantillonnage si cela ne contrevient pas aux objectifs du projet. S'il n'est pas possible de repositionner la station d'échantillonnage, positionner les points de prélèvement de façon à limiter l'influence du rejet sur le biofilm.

Il est préférable d'échantillonner en amont d'un pont afin d'éviter de mesurer l'effet de perturbations ponctuelles occasionnées par la route (p. ex., matières en suspension, hydrocarbures, etc.), sauf si l'objectif de l'étude est d'en mesurer les effets (amont-aval).

4.2.1 Nature du substrat à échantillonner

Les diatomées benthiques étant sessiles, leur échantillonnage sur un substrat de croissance permet de caractériser la qualité chimique de l'eau à un point précis. Le substrat échantillonné doit être originaire de cet endroit et ne pas avoir été transporté de l'amont. Par conséquent, le poids ou l'ancrage du substrat doit être suffisant pour permettre une inertie adéquate (des substrats trop petits peuvent avoir été transportés de l'amont).

Les prélèvements de biofilms doivent être effectués sur des substrats durs et inertes (non végétaux) suivant cet ordre de priorité :

1. Substrats présents *in situ* :
 - naturels (amovibles de préférence)
 - pierre (bloc) de plus de 25,6 cm de diamètre – ce type de substrat allie stabilité (en permettant au biofilm de se développer) et manœuvrabilité;
 - caillou (anguleux) ou galet (arrondi) de 6,4 cm à 25,6 cm de diamètre – éviter si possible les diamètres inférieurs à 10 cm en raison de possibilité de déplacement de ceux-ci dans le cours d'eau;
 - affleurement rocheux (roche-mère).
 - artificiels (amovibles de préférence)

- bloc de béton, bloc d'agrégat, brique, etc.;
- pilier de pont en béton.

La distinction entre les types de substrat¹¹ est basée sur une approximation visuelle sur le terrain et ne nécessite pas une mesure rigoureuse des substrats. En l'absence de pierre, il faut échantillonner plus de cinq cailloux ou galets. L'effort d'échantillonnage pour les substrats artificiels doit être effectué en fonction de leur taille.

Si des substrats naturels sont présents à l'intérieur de la station d'échantillonnage, mais pas dans les conditions hydromorphologiques recommandées (voir le détail à la section 4.2.1), il est préférable de les déplacer, lors d'une prévisite, dans des secteurs de la station d'échantillonnage répondant à ces conditions (p. ex., déplacer des pierres présentes près de la rive davantage vers le centre du cours d'eau).

2. Substrats introduits dans la zone euphotique¹² :

En l'absence *in situ* de substrats durs et inertes (naturels ou non), les prélèvements peuvent être effectués sur des substrats introduits préalablement à l'échantillonnage, suivant cet ordre de priorité :

- Naturels
 - pierre;
 - caillou ou galet.

Pour éviter le transfert de biofilm d'un cours d'eau à un autre, il est préférable d'utiliser des substrats ne provenant pas de cours d'eau. Si cela n'est pas possible, il faut utiliser des substrats provenant du même cours d'eau et du même secteur.

- artificiels (blocs de béton, tuiles rugueuses, briques, etc.)

Ceux-ci ne doivent pas être composés de surfaces lisses (plaques de verre, etc.), car ces dernières limitent l'attachement du biofilm. Il ne faut pas utiliser des substrats ayant été en contact avec des produits chimiques, car ceux-ci pourraient affecter les organismes du biofilm.

Dans tous les cas, il est important de s'assurer que les substrats introduits ont été lavés à l'eau propre (pas d'eau de cours d'eau) avant leur introduction dans le cours d'eau.

Les substrats introduits doivent être installés :

- au moins quatre semaines avant l'échantillonnage, afin que le biofilm soit représentatif des conditions environnementales. Toutefois, des périodes d'exposition prolongées peuvent être nécessaires dans certaines circonstances, telles des conditions très oligotrophes, de basses températures et dans des zones très ombragées;
- à la même date, car la durée d'exposition des substrats aux conditions écologiques du cours d'eau doit être la même pour tous;
- dans des conditions hydromorphologiques similaires, surtout dans le cas d'études comparatives sur le même cours d'eau ou d'études d'impacts (amont-aval d'une source de perturbation);

¹¹ Échelles et classification granulométrique du Système canadien de classification des sols (1987).

¹² Couche superficielle des eaux pénétrées par la lumière et où ont lieu les processus de photosynthèse.

- de façon à ne pas interférer avec les activités des utilisateurs du cours d'eau, afin de minimiser les risques qu'ils soient retirés par des citoyens (surtout pour les substrats artificiels);
- en nombre suffisant afin de tenir compte des risques de pertes occasionnées par les crues ou par des interventions des citoyens (surtout pour les substrats artificiels).

L'échantillonnage ne doit pas être effectué sur les sédiments (vase, sable etc.), ni sur du bois ou des végétaux.

L'échantillonnage ne doit pas être effectué sur des substrats colmatés par plusieurs millimètres de sédiments, des débris organiques, des algues filamenteuses, des bryophytes, etc. Si aucun autre substrat n'est disponible et qu'il n'est pas possible d'introduire des substrats lors d'une prévisite, échantillonner les zones sur le substrat où il n'y a pas de végétaux ni de sédiments. S'il y a une fine couche de sédiments, brosser délicatement la surface de ceux-ci.

L'introduction de substrats durs et inertes, lors d'une prévisite, est préférable à un échantillonnage sur des substrats naturels colmatés.

Les substrats présents *in situ* offrent l'assurance que la communauté de diatomées présente est représentative des conditions environnementales à long terme.

Le substrat naturel fournit l'assurance que la communauté de diatomées présente n'est pas influencée par la composition chimique du substrat artificiel. En ce sens, l'échantillonnage ne doit pas être effectué sur des ponceaux ou des palplanches métalliques.

L'avantage des substrats amovibles est qu'il est possible de les retirer de l'eau pour effectuer le prélèvement, ce qui permet de limiter la perte de biofilm occasionnée par l'écoulement de l'eau.

Pour les substrats difficiles à atteindre (p. ex., présence d'un obstacle ne permettant pas d'atteindre le substrat), il est possible de prélever le biofilm de la façon suivante :

- en grattant la surface avec une brosse sur un manche télescopique pour détacher le biofilm du substrat. Dans ce cas, il faut gratter une surface d'au moins 100 cm²;
- en répétant ce mode opératoire au moins trois fois et en rassemblant les réplicats (échantillons composites).

4.2.2 Caractéristiques hydromorphologiques à l'intérieur de la station d'échantillonnage

À l'intérieur d'une même période d'échantillonnage et d'une même station d'échantillonnage, le positionnement des points de prélèvement doit être établi en limitant l'influence des facteurs hydromorphologiques sur les communautés de diatomées benthiques. Outre la nature du substrat, la vitesse de courant et la luminosité ont également une influence sur la composition des communautés de diatomées benthiques.

- En ce qui concerne la vitesse de courant, les prélèvements doivent être effectués :
 - à plus de 100 m en aval de lacs, d'étangs ou de réservoirs formés en amont de barrage (ou autre retenue d'eau) afin d'éviter d'échantillonner des diatomées planctoniques ou benthiques provenant de cette masse d'eau;
 - de préférence dans un secteur d'eau vive (milieu lotique) afin d'éviter de prélever une grande quantité de matériel sédimenté (sédiments et autres débris), de diatomées mortes et de diatomées planctoniques. Un milieu lentique est tout de même acceptable, mais il est

recommandé d'éviter les zones à faible courant (débit < 0,2 m/s environ). La vitesse est estimée visuellement à partir de la vitesse de surface, sans qu'il soit nécessaire de la déterminer précisément;

- de préférence dans les seuils, lorsqu'ils sont présents et que leur localisation est cohérente avec l'objectif de l'étude, même si la présence du seuil n'est pas représentative du cours d'eau. Les seuils sont le plus souvent des sections d'eaux vives et se caractérisent généralement par la présence d'une grande quantité de substrats durs naturels.
- En ce qui concerne la luminosité, les prélèvements doivent être effectués :
 - en évitant les zones très ombragées. Par conséquent, le centre du cours d'eau est privilégié. Dans le cas où un ombrage important ne peut être évité, il faut le mentionner dans le rapport de terrain;
 - en zone euphotique. La pénétration de la lumière dans la colonne d'eau est notamment influencée par la turbidité et la couleur de l'eau. Le tableau 1 (section 3), suggère des profondeurs d'échantillonnage en fonction de la transparence de l'eau.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION (AFNOR), 2016. *Qualité de l'eau – Échantillonnage, traitement et analyse de diatomées benthiques en cours d'eau et canaux* (NF T90-354).
- CAMPEAU, S., I. LAVOIE et M. GRENIER, 2013. *Le suivi de la qualité de l'eau des rivières à l'aide de l'indice IDEC – Guide d'utilisation de l'Indice Diatomées de l'Est du Canada (version 3)*. Département des sciences de l'environnement, Université du Québec à Trois-Rivières, 25 p.
- COMITÉ D'EXPERTS SUR LA PROSPECTION PÉDOLOGIQUE, 1987. *Le Système canadien de classification des sols* (2^e édition). Agriculture Canada, publication 1646, 170 p.
- CONSEIL et PARLEMENT EUROPÉEN, 2000. « Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau ». *Journal officiel des Communautés européennes*, n° L 327, 22/12/2000, p. 1-73.
- GRENIER, M., S. CAMPEAU, I. LAVOIE, Y.-S. PARK et S. LEK, 2006. « Diatom reference communities in Québec (Canada) streams based on Kohonen self-organizing maps and multivariate analyses ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 63, n° 9, p. 2087-2106.
- GRENIER, M., I. LAVOIE, A. N. ROUSSEAU et S. CAMPEAU, 2010a. « Defining ecological thresholds to determine class boundaries in a bioassessment tool: the case of the Eastern Canadian Diatom Index (IDEC) ». *Ecological Indicators*, vol. 10, n° 5, p. 980-989.
- GRENIER, M., S. LEK, M. A. RODRIGUEZ, A. N. ROUSSEAU et S. CAMPEAU, 2010b. « Algae-based Biomonitoring : Predicting Diatom Reference Communities in Unpolluted Streams using Classification Trees, Random Forests, and Artificial Neural Networks ». *Water Quality Research Journal of Canada*, vol. 45, n° 4, p. 413-425.
- LAVOIE, I., S. CAMPEAU, M. GRENIER et P. J. DILLON, 2006. « A diatom-based index for the biological assessment of Eastern Canadian rivers: an application of correspondence analysis ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 63, n° 8, p. 1793-1811.
- LAVOIE, I., S. CAMPEAU, N. ZUGIC-DRAKULIC, J. G. WINTER et C. FORTIN, 2014. « Using diatoms to monitor stream biological integrity in Eastern Canada: an overview of 10 years of index development and ongoing challenges ». *Science of The Total Environment*, vol. 475, p. 187-200.
- LAVOIE, I., M. GRENIER, S. CAMPEAU, et P. J. DILLON, 2010. « The Eastern Canadian Diatom Index (IDEC) version 2.0: Including meaningful ecological classes and an expanded coverage area that encompasses additional geological characteristics ». *Water Quality Research Journal of Canada*, vol. 45, n° 4, p. 463-477.
- LAVOIE, I., P. B. HAMILTON, S. CAMPEAU, M. GRENIER et P. J. DILLON, 2008. *Guide d'identification des diatomées des rivières de l'Est du Canada*. Presses de l'Université du Québec, 230 p.

Annexe 1 Fiche terrain : caractérisation de l'habitat des diatomées benthiques

Attention : Il faut effectuer les mesures et prendre les échantillons en **amont des ponts** et des effluents locaux (fossés, drains, etc.).

N° de station : _____ Rivière : _____

Municipalité : _____

Date : _____ Analyste : _____ GPS (WGS84) : _____

Multisonde (l'appareil doit être calibré avant chaque sortie)				Échantillons (<input type="checkbox"/> À gué <input type="checkbox"/> Perche <input type="checkbox"/> Pont)	
Paramètres	Valeur	Critère*	Variation**	Paramètres	N° d'échantillon
Température (°C)		Selon biote	-	MES et turbidité	
pH		6,5 - 9	6,3 à 8,3	Nutriments	
Conductivité spécifique (µS/cm)		-	20 à 339	Coliformes fécaux	
O ₂ dissous (mg/l) Heure : _____		> 4 - 5 (25 °C)	-	Carbone org. dissous	
O ₂ dissous (% saturation)		-	-	Autre :	

* Critères de qualité de l'eau du MDDELCC ** Plage de variation au Québec (5^e et 95^e centiles)

Observations					
Niveau de l'eau	Courant	Transparence	Accumulation de sédiments fins	Biomasse du périphyton	Lumière
<input type="checkbox"/> À sec	<input type="checkbox"/> Stagnant	<input type="checkbox"/> Eau claire	<input type="checkbox"/> Faible	<input type="checkbox"/> Faible	<input type="checkbox"/> Ombragé
<input type="checkbox"/> Étiage	<input type="checkbox"/> Lent-laminaire	<input type="checkbox"/> Eau trouble	<input type="checkbox"/> Moyenne	<input type="checkbox"/> Moyenne	<input type="checkbox"/> Semi-ombragé
<input type="checkbox"/> Moyen	<input type="checkbox"/> Rapide-turbulent	<input type="checkbox"/> Eau opaque	<input type="checkbox"/> Abondante	<input type="checkbox"/> Abondante	<input type="checkbox"/> Exposé
<input type="checkbox"/> Crue		<input type="checkbox"/> Eau colorée			

Diatomées – Échantillon composite de cinq roches sur une distance de 50 m		
Substrats (en ordre de priorité)	Observations	N° d'échantillon :
<input type="checkbox"/> Pierres-blocs	<input type="checkbox"/> Mousses (bryophytes) (<input type="checkbox"/> absentes <input type="checkbox"/> présentes <input type="checkbox"/> abondantes)	
<input type="checkbox"/> Cailloux	<input type="checkbox"/> Algues filamenteuses (<input type="checkbox"/> absentes <input type="checkbox"/> présentes <input type="checkbox"/> abondantes)	
<input type="checkbox"/> Béton	<input type="checkbox"/> Plantes aquatiques – macrophytes (<input type="checkbox"/> absentes <input type="checkbox"/> présentes <input type="checkbox"/> abondantes)	
<input type="checkbox"/> Substrats ajoutés	<input type="checkbox"/> Floraison de cyanobactéries	
<input type="checkbox"/> Sédiments (non recommandés)	<input type="checkbox"/> Odeur de purin <input type="checkbox"/> Hydrocarbures <input type="checkbox"/> Poissons morts	

Photos		
	N° de photo	Commentaires
<input type="checkbox"/> Vers l'amont		
<input type="checkbox"/> Vers l'aval		
<input type="checkbox"/> Substrat		

Commentaires

Annexe 2 Illustrations des procédures d'échantillonnage



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Matériel d'échantillonnage



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

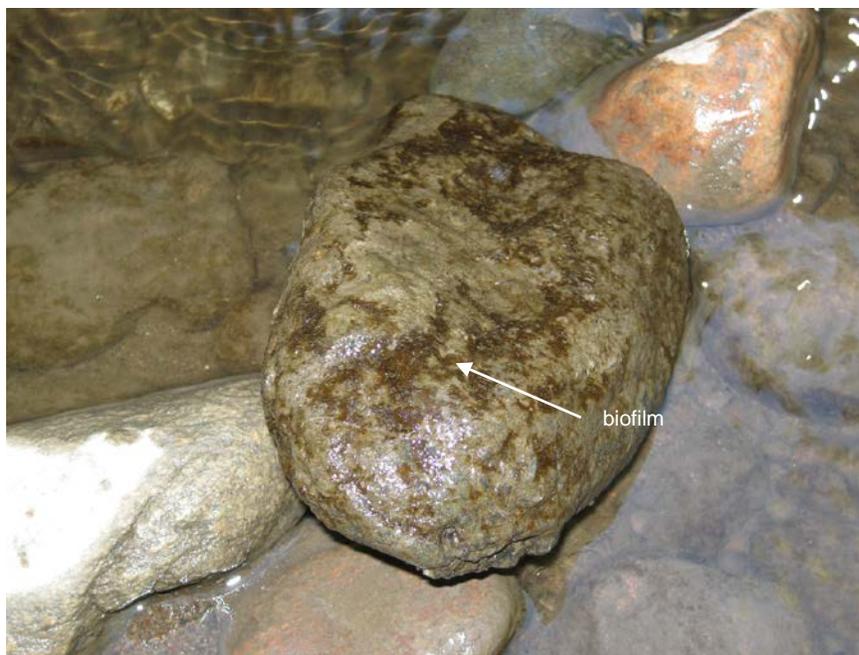
Conditions d'échantillonnage optimales : Seuil en milieu lotique et ouvert

Annexe 2 Illustrations des procédures d'échantillonnage (suite)



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Substrat d'échantillonnage optimal : pierre (bloc)



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Biofilm (contenant des diatomées benthiques) présent sur une pierre

Annexe 2 Illustrations des procédures d'échantillonnage (suite)



Sédiments et biofilm (contenant des diatomées benthiques) présents sur une pierre. Éviter d'échantillonner les substrats envasés. Si un seul substrat est présent, brosser les portions du substrat où les sédiments sont moins présents ou brosser délicatement la surface des sédiments.



Échantillonnage du biofilm

Annexe 2 Illustrations des procédures d'échantillonnage (suite)



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Échantillonnage du biofilm



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Libération du biofilm dans le récipient d'échantillonnage
(eau du cours d'eau à l'intérieur)

Annexe 2 Illustrations des procédures d'échantillonnage (suite)



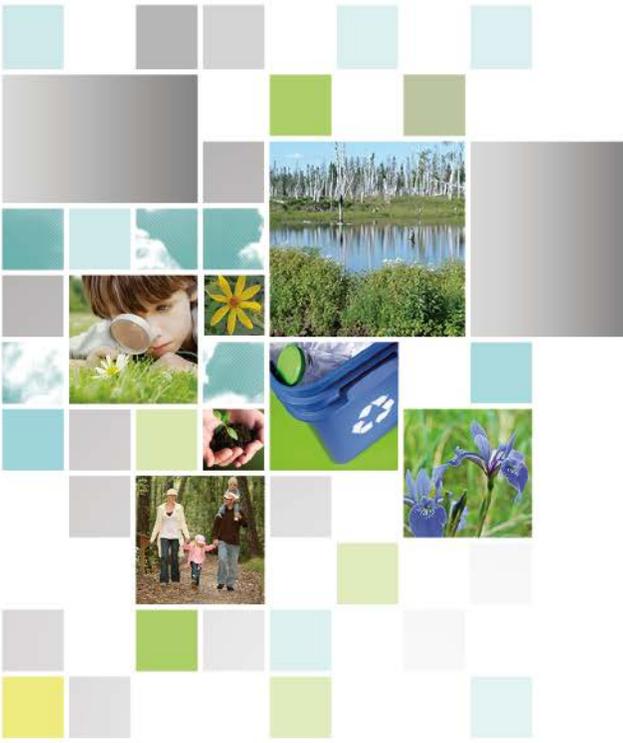
Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Biofilm dans le contenant d'échantillonnage



Source : Martine Grenier (MDDELCC)

Dépôt des gouttes de Lugol (agent de conservation) dans le récipient d'échantillonnage jusqu'à l'obtention d'un liquide couleur « thé »



***Développement durable,
Environnement et Lutte
contre les changements
climatiques***

Québec 