

Action C3 Contrôle de la qualité du milieu Protocole d'échantillonnage

mars 2013



Sommaire

1. Introduction à l'écologie de la mulette perlière.....	3
2. Le contrôle de la qualité du milieu proposé dans le cadre du LIFE.....	8
3. Mises en garde.....	8
4. Recommandations générales pour les mesures de terrain.....	9
5. Qualité de l'eau.....	10
5.1. Matériel et méthodes.....	10
5.2. Procédures d'enregistrement.....	10
6. Qualité du substrat.....	13
6.1. Matériel et méthodes.....	13
6.2. Procédures d'enregistrement.....	14
7. Qualité de l'environnement.....	17
7.1. Matériel et méthodes.....	17
7.2. Procédures d'enregistrement.....	17
8. Synthèse.....	19
9. Bibliographie.....	21
9. Annexes.....	23

1. Introduction à l'écologie de la moule perlière

La moule perlière *Margaritifera margaritifera* est très sensible à la qualité de son milieu à toutes les étapes de sa vie. Son habitat fonctionnel doit donc pouvoir convenir aux trois stades du cycle biologique du mollusque bivalve : glochidie (phase libre, puis fixée dans les branchies d'un salmonidé), juvéniles (phase enfouie), adultes (phase semi-enfouie). Les adultes sont cependant plus tolérants à de légères variations de ces conditions que ne le sont les juvéniles [1]. L'état de son habitat dépend de divers paramètres dont certains sont brièvement décrits ci-dessous.

1.1. Qualité de l'eau

La qualité de l'eau est très importante pour un animal filtreur comme la moule perlière. Quelques auteurs proposant des valeurs « guides » pour les rivières dans lesquelles vit l'espèce sont listés dans le tableau 1.

Tableau 1. Valeurs « guides » de paramètres physico-chimique pour la moule perlière d'eau douce

Paramètres/Auteurs	Bauer (1988) Europe centrale	Oliver (2000) Écosse	Moorkens (2000) Irlande	Degerman <i>et al.</i> (2009) Suède	Varandas <i>et al.</i> (2013) Portugal
Nitrates N-NO ₃ (mg/L) *	<0,5	<1	< 1,7	<0,1	< 2
Ammonium N-NH ₃ (mg/L)			< 0,1		< 0,1
Orthophosphates P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	< 0,03	<0,03	< 0,06	<0,0015	< 0,1
Conductivité (µS/cm)	<70 (température de référence inconnue)	<70 (température de référence inconnue)	< 200 (à 25°C)		< 40 (à 25°C)
O ₂ dissous (% sat ou mg/L)		90-110 %	> 9 mg/L		> 9 mg/L
pH	< 7,5	6,5 – 7,2	6,3 – 8	Min 6,2	< 7
DBO5 (mg/L)	~ 1,4	<1,3	< 3		< 1,5
Carbonate de calcium CaCO ₃ (mg/L)	~ 2	< 10	pauvre en Calcium		
Température (°C)			Pas de changements artificiels	<25	<23

* Δ Les publications traitent de teneurs en N-NO₃ alors que les résultats d'analyses de laboratoire nous fournissent en général des Nitrates NO₃. Afin d'effectuer la conversion de l'un à l'autre le coefficient de 4,43 doit être appliqué. Ainsi, la valeur-guide de N-NO₃ (1,7 mg/L) proposée en Irlande [16] correspond en à environ 7,53 mg/L de Nitrates NO₃.

La moule perlière et son poisson-hôte préfèrent les eaux fraîches, ne survivant que quelques dizaines de minutes dans une eau à 28°C [2]. Concernant les poissons-hôtes, pour certains auteurs [3] la température optimale pour les truites fario se situe entre 7 et 19°C ou pour d'autres [4] entre 7 et 17°C. La truite arrête de s'alimenter dans une eau à 19°C, et subit un stress entre 20 et 25°C (perte de poids très critique pour les truitelles) [5]. La température létale est de 25°C [6] et en dessous d'un pH de 4,5 les alevins meurent [7].

Un taux de MES supérieur ou égal à 30 mg/L ne serait pas critique pour les populations de moules perlières si leur apparition est brève (durant les épisodes de crues par exemple) [8]. Sur le long terme, un taux de MES qui dépasserait régulièrement les 10 mg/L pourrait en revanche être problématique [9]. Hastie *et al.* (2000) expliquent que le colmatage du substrat est un problème important qui peut être causé par une augmentation du transport de sédiments et par la production de résidus dus à l'eutrophisation. L'érosion des berges, les inondations et le drainage des terres peuvent tous avoir un impact sur le transport des sédiments et menacer l'habitat des moules perlières. Même de petits apports de sédiments peuvent altérer la qualité de l'environnement interstitiel où vivent les jeunes moules : si les interstices sont

- [1] Hastie *et al.* (2000)
- [2] Araujo & Ramos (2001)
- [3] Frost & Brown (1967)
- [4] Mills (1971)
- [5] Elliott (1975)
- [6] Charlon (1969)
- [7] Crisp (1989)
- [8] Valovirta (1998)
- [9] Skinner *et al.* (2003)

colmatés, les jeunes s'asphyxient.

Une étude en Suède s'est particulièrement penchée sur la relation entre la mulette perlière et la turbidité. Des valeurs de 1,0-1,9 UTN ont été mises en évidence comme valeurs guides pour la survie des jeunes mulettes ^[10].

Qualité de l'eau destinée à la consommation humaine

Certaines rivières, en plus d'abriter des populations de mulettes perlières, sont utilisées pour la distribution d'eau potable.

La directive 98/83/CE du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine constitue le cadre réglementaire européen en matière d'eau potable. Cette directive s'applique à l'ensemble des eaux destinées à la consommation humaine, à l'exception des eaux minérales naturelles et des eaux médicinales. Elle concerne notamment les eaux fournies par un réseau de distribution public ou privé et les eaux conditionnées.

Ainsi, l'eau potable aux robinets des consommateurs doit respecter, dans chaque État membre de l'Union européenne, au minimum, les exigences de qualité fixées par la directive.

Cette directive a été transposée en droit français, au niveau législatif et au niveau réglementaire. L'arrêté du 11 janvier 2007 fixe les modalités du programme d'analyses du contrôle sanitaire, ainsi que les limites et références de qualité de l'eau distribuée : <http://www.car-analyse.com/hydro/a060207.pdf>

Pour extrait, la concentration maximale autorisée par pesticide est de 0,1 µg/L et celle autorisée pour le total des pesticides cumulés est de 0,5 µg/L. Pour les nitrates (NO₃⁻), la limite est fixée à 50 mg/L.

[10] Österling et al. (2010)

1.2. Qualité du substrat

La nature du substrat et du sous-écoulement revêt une grande importance pour la santé des populations et la possibilité du recrutement en juvéniles. C'est le meilleur paramètre physique pour décrire l'habitat de la moule perlière [11]. Si les adultes peuvent tolérer la présence ponctuelle de vase ou de boue, les juvéniles ne se rencontrent que dans des milieux de galets, rochers stabilisés avec assez de sable pour s'enfoncer [12].

La phase où les juvéniles s'enfouissent dans le sédiment est la phase la plus critique du cycle de vie de la moule perlière [1]. Il est donc important que le sédiment soit peu chargé en matière organique [13] et permette les échanges entre l'eau libre et l'eau interstitielle. Les juvéniles doivent pouvoir retrouver dans le sous-écoulement, la même qualité d'eau que celle de la rivière, au moins dans les 5 à 10 premiers centimètres [14].

Selon Geist & Auerswald (2007), quelques mesures peuvent être effectuées pour caractériser les zones de vie des moules et rechercher de potentielles zones de renforcement (tableau 2, figures 1 à 4)

Tableau 2. Différentes valeurs « guides » selon la fonctionnalité d'un site à moule perlière

	Sites fonctionnels	Sites non fonctionnels
Pénétrabilité	Homogénéité des valeurs 0,04-0,39 kg/cm ² (moy = 0,16 kg/cm ²)	Hétérogénéité des valeurs 0,001-4,00 kg/cm ² (moy = 0,18 kg/cm ²)
Potentiel red-ox	> 300 mV	< 300 mV
Gradient en conductivité	< 20 %	> 20 %
Gradient en pH	< 20 %	> 20 %
Gradient en potentiel red-ox	< 20 %	> 20 %

Un gradient prononcé en potentiel red-ox, une divergence dans la conductivité électrique entre l'eau de surface et interstitielle, ainsi qu'une pénétrabilité trop élevée (ou trop faible) suggèrent un cloisonnement entre la surface et l'eau interstitielle et caractérisent un site non-fonctionnel.

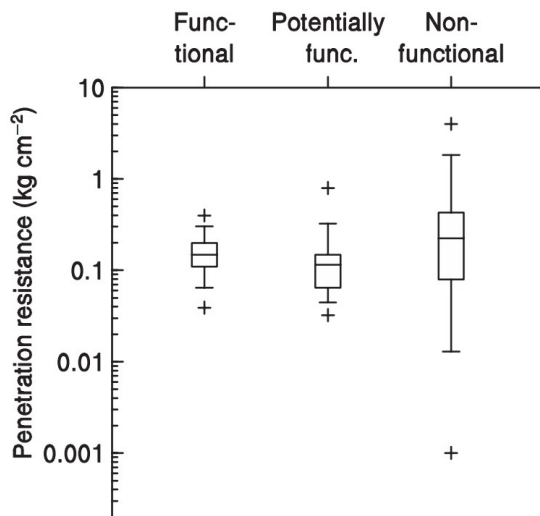


Figure 1. Boîtes à moustaches (croix : minimum, maximum ; moustaches : 0,05 et 0,95 centiles ; boîte : 0,25 quartile, médiane et 0,75 quartile) pour la pénétrabilité sur des sites fonctionnels ($n=182$), potentiellement fonctionnels ($n=160$) et non-fonctionnels ($n=659$)

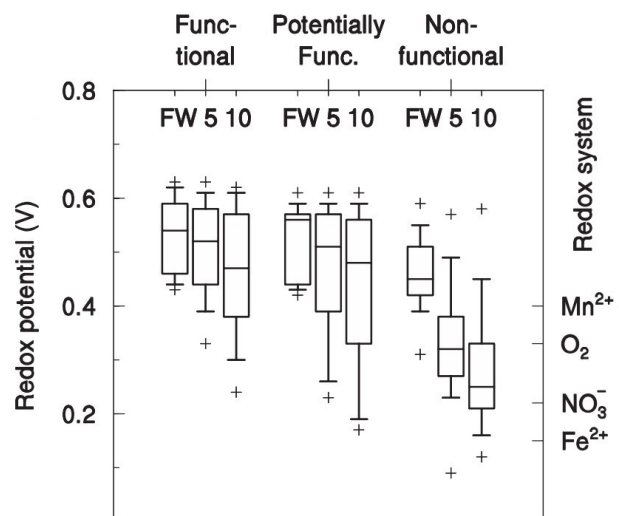


Figure 2. Boîtes à moustaches (croix : minimum, maximum ; moustaches : 0,05 et 0,95 centiles ; boîte : 0,25 quartile, médiane et 0,75 quartile) pour le profil de red-ox selon la profondeur (0, 5 et 10 cm) sur des sites fonctionnels ($n=109$), potentiellement fonctionnels ($n=57$) et non-fonctionnels ($n=254$). L'axe de droite indique les valeurs de Eh expérimentalement déterminées à pH 7 où Mn^{2+} et Fe^{2+} se forment et sous lesquelles O_2 et NO_3^- ne sont plus détectés

[11] Geist & Auerswald (2007)
 [12] Wahlström (2006)
 [13] Bauer *et al.* (1980)
 [14] Prié & Cochet (2011)

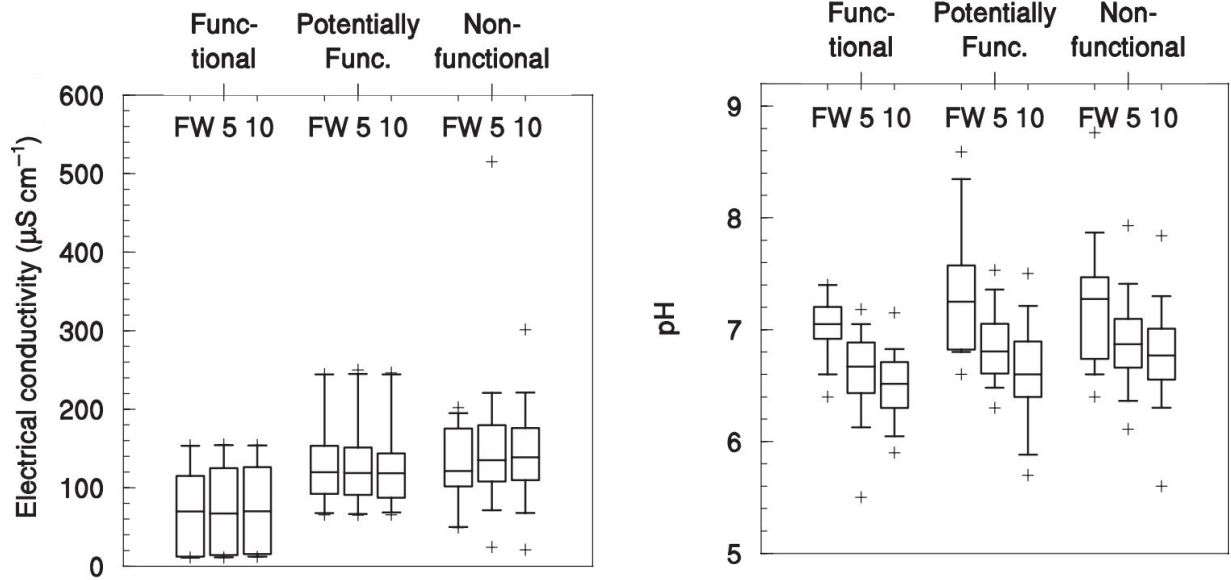


Figure 3. Boîtes à moustaches (croix : minimum, maximum ; moustaches : 0,05 et 0,95 centiles ; boîte : 0,25 quartile, médiane et 0,75 quartile) pour le profil de conductivité et de pH selon la profondeur (0, 5 et 10 cm) sur des sites fonctionnels (respectivement $n=44$, 44), potentiellement fonctionnels (respectivement $n=42$, 42) et non-fonctionnels (respectivement $n=244$, 210)

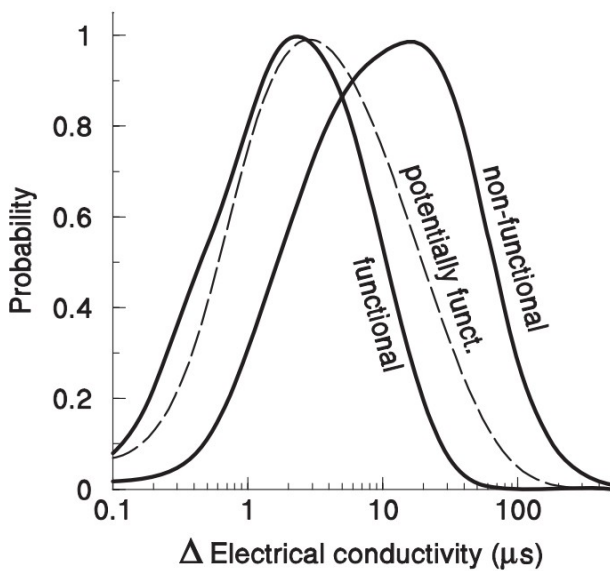


Figure 4. Fréquence des différences absolues en conductivité électrique entre l'eau courante (0 cm) et l'eau interstitielle (5 ou 10 cm de profondeur) pour des sites fonctionnels ($n=92$), potentiellement fonctionnels ($n=84$) et non fonctionnels ($n=480$)

1.3. Qualité de l'environnement

La moule affectionne généralement les cours d'eau sur terrain siliceux, avec une faible profondeur, du courant et une eau oligotrophe limpide. Cependant, la variété des habitats est grande et seule la présence de sédiments meubles et oxygénés garantit son enfouissement.

Le courant en période d'étiage doit rester suffisamment important afin d'assurer l'oxygénation de l'eau, éviter le colmatage par la sédimentation des particules ou la formation d'un film algal et éviter l'augmentation de la température, néfaste pour les moules. En revanche, un courant trop fort peut déloger les moules de leur emplacement et peut empêcher la rencontre des glochidies avec les branchies d'un poisson-hôte ^[1]. Ainsi, avec une vitesse de 0,7 m/s et une profondeur de 1 m, une glochidie pourrait parcourir 2 km avant d'atteindre le fond de la rivière ^[15]. Avec un courant de 0,4 m/s, les poissons-hôtes ne doivent pas être séparés de plus de quelques centaines de mètres du lieu d'émission des glochidies pour être infestés ^[16] (tableau 3).

Tableau 3. Valeurs-guides de paramètres hydrologiques pour la moule perlière d'eau douce

Paramètres/Auteurs	Vannote & Minshall (1982)	Hastie <i>et al.</i> (2000)	Boycott (1936)	Hendelberg (1961) Bjork (1962)
Profondeur	0,1-2 m	0,3-0,4 m (optimum)	1-1,4 m (max)	0,1-2 m
Vitesse du courant	0,1-2 m/s	0,25-0,75 m/s (optimum)		

Toutes activités et tous travaux sur un cours d'eau susceptibles de modifier le courant, le débit, la température, le transport sédimentaire, les teneurs en matières fines, etc. doivent être suivis afin d'en évaluer l'impact environnemental. Les rivières régulées artificiellement (barrage artificiel par exemple)^[17] ou possédant des captages sont par exemple particulièrement concernées.

La santé de l'habitat dans une rivière à moule perlière peut également être mesurée par la composition de la communauté de macro-invertébrés benthiques. Chaque pays a son propre système de mesure de la qualité du peuplement en macro invertébrés. En France, l'IBGN (Indice biologique global normalisé) est une méthode normalisée qui permet de caractériser la qualité générale du milieu résumée par une note chiffrée de 1 à 20 (tableau 4). On lui associe très souvent le coefficient d'aptitude biogène (Cb2), qui permet d'apporter des informations plus pertinentes et détaillées, prenant en compte la capacité biogène et la qualité de l'eau de la station (voir détails au sein du chapitre 7).

Tableau 4. Qualification d'une communauté de macro-invertébrés en fonction de la note IBGN obtenue

Qualité	Excellente	Bonne	Moyenne	Faible	Mauvaise
Note IBGN (sur 20)	≥ 17	13	8	5	<5

[15] Morales *et al.* (2006)

[16] Jansen *et al.* (1998)

[17] Skinner *et al.* (2003)

2. Le contrôle de la qualité du milieu proposé dans le cadre du LIFE

Dans le cadre du programme LIFE « mulette » (2010-2016), l'action de contrôle de la qualité du milieu (action C3) a pour objectifs :

1. d'obtenir une évaluation globale de la qualité du milieu et son évolution dans le temps ;
2. de rechercher des zones favorables au renforcement des jeunes moules perlières ;
3. d'identifier de nouvelles sources de pollution ou de nouveaux points à résoudre.

Pour pouvoir décider de renforcer les populations de mulettes, il est pris en compte des valeurs-guides tirées des différentes études de qualité de milieu des populations fonctionnelles de mulettes perlières (tableaux 5 et 6).

Les actions doivent être conduites en zone Natura 2000 et pourront éventuellement s'étendre au delà dans la perspective de recherche de zones favorables de renforcement et d'extension de site Natura.

Tableau 5. Valeurs « guides » de la colonne d'eau

paramètres de la colonne d'eau	valeurs
pH	6,3-8
Nitrates N-NO ₃ (mg/L)	<2
Orthophosphates P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	<0,15
Conductivité (µS/cm)	< 150 µS/cm à 25°C < 135 µS/cm à 20°C
Oxygène dissous (mg/L)	>9
Température (°C)	<19

Tableau 6. Valeurs « guides » du substrat

paramètres du substrat	valeurs
pH	6,3-8
Conductivité (µS/cm)	< 150 µS/cm à 25°C < 135 µS/cm à 20°C
Potentiel red-ox corrigé (mV)	~ 300
Gradient en potentiel red-ox	< 20 %
Température (°C)	<19

3. Mises en garde

Il est important de souligner le caractère imparfait de ces mesures pour caractériser un environnement « de bonne qualité » pour l'espèce et finalement la difficulté d'y parvenir quels que soient les moyens que nous aurions à disposition.

En effet, ces valeurs guides dépendent des circonstances à un instant « t » mais ne garantissent pas forcément le bon fonctionnement continu de l'écosystème et des populations. Les différentes mesures, quelles qu'elles soient, ne révèlent qu'une petite partie du fonctionnement de l'écosystème et probablement une infime partie des paramètres requis par la moule perlière d'eau douce.

Un dépassement ponctuel des valeurs guides ne rend pas le paramètre limitant à lui seul pour les populations de mulettes. En revanche, un dépassement récurrent des valeurs guides et le cumul de paramètres limitants est plus inquiétant pour l'espèce. Il ne faut en aucun cas considérer les valeurs guides comme étant la condition *sine qua non* du retour de l'espèce.

4. Recommandations générales pour les mesures de terrain

Les données suivantes ont été en grande partie extraites de documents de l'Agence de l'eau Loire-Bretagne ^[18].

Pour sa sécurité, le préleveur doit, si possible, éviter les prélèvements dans les zones dangereuses telles que les berges instables, les lits irréguliers et profonds... Si cela est impossible, l'opération doit être menée de préférence par une équipe de deux personnes qui prendra les précautions appropriées, plutôt que par une personne seule.

Il est recommandé de se laver les mains avec des savons bactéricides après chaque prélèvement. Les vaccinations contre le tétanos, la poliomyélite et la leptospirose peuvent être envisagées (à voir avec l'employeur et la médecine du travail).

L'accès à une rivière dont on ne voit pas le fond pour cause de forte turbidité des eaux est à déconseiller. Une perche pourra servir à localiser les endroits peu sûrs ou trop profonds et à apprécier la vitesse du courant. Le préleveur pourra être muni d'une corde reliée à la rive et d'un gilet de sauvetage.

Tout barrage situé en amont peut être dangereux en provoquant des augmentations brutales ou non du débit du cours d'eau. Le préleveur surveillera le niveau d'eau en mettant des marques constituées par exemple de brindilles plantées à la limite de l'eau.

Il est conseillé de vérifier si l'accès à la station de mesure est réglementé ou bien s'il nécessite une autorisation.

Le stationnement du véhicule ne devra pas induire de danger ni de gêne à la circulation. Le prélèvement est un acte qui conditionne la validité et la représentativité de toutes les analyses qui seront effectuées ultérieurement sur l'échantillon. Dans la chaîne de mesure de la qualité des eaux de surface, l'étape de l'échantillonnage est celle qui introduit l'erreur la plus importante. Il est donc primordial d'opérer avec le plus grand soin.

Le matériel utilisé pour les mesures devra être en bon état de fonctionnement et devra faire l'objet d'un entretien et d'un étalonnage régulier.

Il est important pour l'interprétation ultérieure des résultats d'analyses et pour assurer la validité du prélèvement que la traçabilité des opérations soit complète.

La rivière est un milieu éminemment changeant sous l'effet de facteurs naturels ou anthropiques. Les conditions qui caractérisent le cours d'eau et son environnement le jour de l'échantillonnage peuvent influencer de façon notable les résultats d'analyse. Les caractéristiques climatologiques et hydrologiques, certaines activités perturbantes inhabituelles en amont proche (travaux dans le cours d'eau, rejet accidentel...), la présence de végétaux en quantité excessive..., peuvent expliquer certaines « anomalies » dans les données et aider à leur interprétation. Il convient donc de ne pas hésiter à consigner dans une fiche toutes les observations, même si elles semblent à première vue banales.

[18] Agence de l'Eau Loire-Bretagne (2006)

5. Qualité de l'eau

5.1. Matériel et méthodes

5.1.1. Paramètres mesurés

Plusieurs paramètres physico-chimiques seront suivis au cours du projet. Ils sont choisis pour leur représentativité d'une qualité générale, de leur importance dans l'écologie de la moule perlière d'eau douce et de leur signification vis-à-vis des perturbations pressenties.

Les paramètres retenus sont les suivants : la température, le pH, l'oxygène dissous, la conductivité à 25°C, les nitrates (en $N-NO_3^-$), les ortho-phosphates (en $P-PO_4^{3-}$) et les pesticides.

5.1.2. Lieu de mesure

Pour chaque site d'étude, le lieu de mesure et de prélèvement est défini pour l'ensemble du projet, il est situé en amont de la station de mulette (ou de la zone avec la plus forte densité). On choisira le site d'étude, après reconnaissance et repérages sur le terrain. De préférence, il ne sera pas placé à proximité d'un seuil. Le site d'étude sera retenu en se basant sur la représentativité de la station par rapport aux conditions de la station de mulette et sur des aspects pratiques tels que les facilités d'accès et d'échantillonnage.

Une fiche descriptive de chaque site d'étude est à réaliser ; elle comprendra notamment un extrait de carte IGN au 1/25 000^e, un schéma de situation et une photographie générale des lieux.

5.1.3. Matériel

- Multiparamètre HI 9828 de chez Hanna Instruments (sondes T°C, oxygène dissous, conductivité et pH)
- Enregistreur de température HOB00167
- Flacons et glacière (pour transport au laboratoire)

5.1.4. Fréquence et périodes

- Une fois par mois (entre le 15 et le 20 de chaque mois) :
 - multiparamètre : T°C, oxygène dissous, conductivité et pH
 - laboratoire : nitrates $N-NO_3^-$, ortho-phosphates $P-PO_4^{3-}$
- Toutes les heures :
 - enregistreur de température HOB00167
- Mars, avril, mai, juin et novembre en 2011 et 2015 :
 - pesticides

5.2. Procédures d'enregistrement

5.2.1. Procédure pour mesures au multiparamètre

Comme tout matériel, il faut en prendre extrêmement soin. Des consignes d'entretien et de mise en route sont fournies avec cet appareil. Il faut donc scrupuleusement s'y référer.

Tous les paramètres de l'eau sont mesurés au même niveau que le prélèvement de l'échantillon d'eau.

Température (°C)	L'immersion dans le milieu à étudier devra être d'une durée suffisante pour que la valeur affichée soit stabilisée.
Oxygène dissous (mg/L)	La teneur d'une eau en oxygène dissous dépend de sa température. La mesure de l'oxygène dissous ne doit être réalisée qu'après stabilisation de la température.
Conductivité à 25°C (µS/cm)	La température de référence utilisée pour la mesure de conductivité sera de 25°C. La sonde est agitée dans l'échantillon d'eau brute jusqu'à stabilisation de la conductivité. Il faut veiller à ce qu'il n'y ait pas de bulles de gaz emprisonnées dans la sonde, notamment en contact avec les électrodes.
pH	La lecture est effectuée après stabilisation du pH-mètre ce qui peut prendre plusieurs minutes. Veiller à ce que la température de l'échantillon ne varie pas pendant la mesure.

5.2.2. Procédure pour l'enregistrement continu de la température

L'enregistreur de température doit être placé dans un endroit à l'ombre et solidement attaché à un support fixe sur la berge. Pour une durée de vie plus longue, l'enregistreur peut être protégé à l'intérieur d'une coque plastique laissant passer l'eau.

5.2.3. Procédure pour mesures en laboratoire

Les échantillons prélevés doivent être homogènes et aussi représentatifs que possible du milieu qui doit être caractérisé. Toutes les précautions doivent être prises pour que l'eau prélevée subisse le minimum de modification entre l'instant du prélèvement et celui de l'analyse. Il faut donc prendre soin d'éliminer ou de minimiser toute variation des paramètres à déterminer qui peut être induite par la technique d'échantillonnage.

En principe, le prélèvement de l'échantillon doit être effectué à une profondeur d'environ 30 cm sous la surface et à environ 50 cm au-dessus du fond, sinon à mi-profondeur. On privilégiera l'échantillonnage dans le cours d'eau ou depuis la rive à l'aide des flacons d'échantillonnage.

Technique de prélèvement

1. rincer trois fois (de façon énergique) la bouteille et son bouchon. L'eau de rinçage doit être prélevée sans soin particulier, mais jamais en surface. Lors de l'écoulement de l'eau dans la bouteille, un tour de main particulier fait que l'eau s'écoule en tourbillonnant le long des parois,
2. égoutter la bouteille en la secouant le col vers le bas,
3. plonger la bouteille dans l'eau avec le col vers le bas,
4. retourner la bouteille en la laissant inclinée selon un angle de l'ordre de 45°, goulot en position supérieure, face au courant,
5. remplir la bouteille lentement sans barbotage,
6. en fin d'opération, lorsque la bouteille est pleine, il faut la remonter et la « sonner » en l'inclinant en tout sens (sans créer d'émulsion) et en s'arrêtant de temps à autre de façon à chasser toutes les bulles d'air se trouvant au contact des parois,
7. rincer le bouchon par agitation dans l'eau de la rivière,
8. boucher la bouteille avec précaution, mais vivement de façon à ne pas emprisonner de bulles d'air. Le flacon est donc rempli complètement.

Étiquetage/marquage

L'étiquetage ou le marquage de chaque échantillon est indispensable afin de permettre leur identification sans ambiguïté au laboratoire (lieu et date de collecte au moins)

Conservation/transport

Les prélèvements devront être conservés à +4°C (+/- 2°C) et transmis dans les 24 h au laboratoire en charge des analyses. Ils pourront être congelés si ce délai ne peut pas être respecté (hormis pour les pesticides).

Mesures

Les paramètres analysés au laboratoire seront les nitrates NO³⁻ (norme NF EN ISO 13395) et les ortho-phosphates PO₄³⁻ (norme NF EN ISO 15681-1).

5.2.4. Procédure pour mesures en laboratoire - pesticides

Les pesticides sont entraînés dans les cours d'eau par ruissellement. Il est donc indispensable d'effectuer les prélèvements en fonction de la pluviométrie. Il est ainsi recommandé de faire ces prélèvements quand les précipitations ont dépassé 10 mm en 24 h. Sur le terrain, la couleur de l'eau plus soutenue peut être un indice de flux de matière déclenchant le prélèvement.

Deux campagnes de prélèvement seront organisées par site, une en **2011** et l'autre en **2015** idéalement pendant les mois de **mars, avril, mai, juin** et **novembre**. Ces mois correspondent à la période où le travail du sol et les traitements sont les plus intenses.

Les 20 molécules recherchées lors de l'analyse seront celles qui sont les plus fréquemment retrouvées lors des analyses réalisées en Bretagne en 2009 ^[19]. Elle comporte la recherche de

[19] CORPEP Bretagne (2010)

molécules issues des activités agricoles et non agricoles (espaces publics, jardins privés...), ainsi que certains de leurs résidus (tableau 7).

Tableau 7. Liste et usage des molécules recherchées

Molécule	Usage	Molécule	Usage
Glyphosate	désherbant	Oxadiazon	désherbant
AMPA	molécule de dégradation du Glyphosate	2,4-MCPA	désherbant
Aminotriazole	désherbant	Mécoprop	désherbant
Diuron	désherbant, biocide	Acétochlore	désherbant
Isoproturon	désherbant	Alachlore	désherbant
Triclopyr	désherbant	Carbofuran	insecticide
Imazaméthabenz-Methyl	désherbant	Cyprodinil	fongicide
2,4-D	désherbant	Dichlorprop	désherbant
Diflufénicanil	désherbant	Diméthénamide	désherbant
Bentazone	désherbant	Métazachlore	désherbant

6. Qualité du substrat

6.1. Matériel et méthodes

6.1.1. Paramètres mesurés

Les caractéristiques de la colonne d'eau ne suffisent pas pour déterminer l'habitat favorable aux mulettes perlières. La qualité du sédiment est en effet déterminante pour la survie des juvéniles. D'une façon générale, l'eau interstitielle et l'eau courante doivent être de bonne qualité avec des valeurs très proches.

Les paramètres retenus sont les suivants : la pénétrabilité, le potentiel d'oxydo-réduction et son gradient la conductivité et son gradient, le pH et son gradient. Les sticks hypoxie seront également utilisés pour évaluer la profondeur d'oxygénation des sédiments.

En complément, le rH₂ est calculé. Le rH₂ (hydrogène relatif, ou potentiel électronique) est calculé à partir du pH et du potentiel d'oxydo-réduction et caractérise l'oxygénation du sédiment.

6.1.2. Lieux de mesure

Mesures de suivi au sein de la population

Pour caractériser le milieu de vie où se trouve la population de mulette, **5 transects permanents** sont définis au sein de la zone de présence. Chaque transect est lui-même constitué d'une mesure en rive gauche de la rivière, une autre au centre et une autre en rive droite. Il convient de bien s'assurer que les points de mesure sont immergés toute l'année. Ce lieu de mesure et de prélèvement est défini pour l'ensemble du projet.

Une fiche descriptive peut être constituée : extrait de carte IGN au 1/25 000^e, schéma de situation et photographie générale des lieux.

Mesures pour la recherche de zones favorables pour le renforcement

Pour la recherche de zones favorables pour le renforcement des populations, les mesures seront effectuées, en aval, au sein ou en amont de la station de mulette ou sur d'autres secteurs. Les points de mesure pourront être ponctuels et ne nécessiteront **pas la mise en place de transects**. La localisation des points de mesure devra aussi être scrupuleusement consignée (photos, carte et/ou éventuellement relevés GPS). Ces points de mesure seront effectués sur des zones jugées intéressantes (et en eau toute l'année).

6.1.3. Matériel

- Pénétromètre de poche (0-500 kN/m²) et 4 disques associés (Ø 15, 18, 20 et 25 mm)
- Multiparamètre HI 9828 de chez Hanna Instruments (sondes conductivité et pH)
- Seringue, tuyau et tube plastique pour le prélèvement de l'eau interstitielle
- pH-mètre WTW 3110 associé à une sonde de référence Ag/AgCl
- Électrode platine de chez Paleoterra
- Morceaux de bois de pin (*Pinus pinaster*) ou « stick hypoxie » non traité de 1 x 1 x 30 cm (10 morceaux par point de mesure maximum, selon les possibilités de terrain)
- Barre à mine et masse

6.1.4. Fréquence et périodes

Mesures de suivi au sein de la population

Les mesures sont effectuées durant les conditions les plus critiques (à l'étiage, en été), en début et en fin de projet (2010-2011 et 2015-2016) au niveau de la station de mulette (5 transects permanents) :

- pénétrabilité (3 répliques par point de mesure)
- mesure du gradient de conductivité et de pH (3 répliques par point)
- mesure du gradient de potentiel red-ox (3 répliques par point)
- sticks hypoxie (restent posés 3 semaines)

Mesures pour la recherche de zones favorables pour le renforcement

Les mesures sont effectuées chaque année durant les conditions les plus critiques (à l'étiage, en été par exemple). Les mêmes mesures que précédemment seront effectuées.

6.2. Procédures d'enregistrement

6.2.1. Procédure pour mesures de pénétrabilité

Cet appareil mesure la résistance du substrat entre sa surface et la zone interstitielle, soit la capacité d'enfouissement des jeunes mulettes. En fonction du sédiment, l'ajout d'un disque de diamètre 15, 18, 20 ou 25 mm est nécessaire pour permettre de lire la mesure. Lorsque l'instrument est enfoncé dans le sédiment à une profondeur de 6 mm (c'est à dire l'épaisseur d'un disque), la tige de mesure est opposée à la résistance de pénétration du sédiment. Le ressort est comprimé par cette force. L'anneau se déplace indiquant alors sur l'échelle graduée la force maximale rencontrée. Des corrections de mesure sont à apporter en fonction de la surface des disques lorsqu'ils sont utilisés afin de ramener les valeurs au kg/cm² (tableau 8).

Tableau 8. Corrections à apporter aux mesures en fonction de l'utilisation des disques

Diamètre du disque (mm)	Aucun disque	15	18	20	25
Surface (cm ²)	1	1,77	2,54	3,14	4,91
Correction à appliquer	n/a	valeur lue ÷ 1,77	valeur lue ÷ 2,54	valeur lue ÷ 3,14	valeur lue ÷ 4,91

6.2.2. Procédure pour mesures de conductivité et pH

Les différences en conductivité et pH entre l'eau libre et l'eau interstitielle indiquent le niveau des échanges entre la colonne d'eau et les sédiments. La conductivité (corrigée pour 25°C) et le pH sont mesurés en utilisant le multi-paramètre HI 9828 de chez Hanna Instruments. Le pH sera par la suite utilisé pour le calcul du rH₂. Comme tout matériel, il faut en prendre extrêmement soin. Des consignes d'entretien et de mise en route sont fournies avec cet appareil. Il faut donc scrupuleusement s'y référer.

Les mesures sont effectuées dans la colonne d'eau et sur des prélèvements d'eau interstitielle à 5 et 10 cm. Les prélèvements de l'eau interstitielle se font grâce à un long tube de PVC de 30 cm (diamètre extérieur 5 mm, diamètre intérieur 3,5 mm), rattaché à un flexible plastique de 1 m, lui-même connecté à une seringue de 50 mL. Le tube de PVC est marqué avec des lignes colorées afin de mettre en évidence la profondeur du prélèvement (5 et 10 cm). Pour chaque prélèvement, 15 mL d'eau sont extraits à chaque profondeur ainsi que dans l'eau courante. Il faut d'abord effectuer 1 à 2 prélèvements dont on se débarrassera. Cette action servira à extraire l'eau qui s'est infiltrée au moment de l'insertion du matériel dans les sédiments et qui risque de biaiser la mesure. Au 3^e prélèvement, l'eau est transférée dans des flacons de 50 mL pour effectuer les mesures (figure 5).



Figure 5. Mesure de la qualité de l'eau interstitielle (J. Geist)

6.2.3. Procédure pour mesures de potentiel red-ox

Le potentiel red-ox (Eh) donne la différence de tension électrique entre une pointe de platine et une électrode de référence composée d'argent et de chlorure d'argent. Ces mesures répétées dans le temps permettent d'obtenir une évaluation de l'oxygénation à long terme d'un sédiment.

Les deux électrodes sont calibrées avec une solution tampon standard (Eh=220 mV et pH=7). La température de l'eau est mesurée. Chaque mesure (Em) est réalisée à trois profondeurs différentes : 0, 5 et 10 cm (figure 6). De retour au bureau, les mesures obtenues sont corrigées avec un potentiel de référence dépendant de la température (tableau 9).

$$\text{Potentiel red-ox (Eh)} = \text{Potentiel mesuré (Em)} + \text{Correction à appliquer (Eref)}$$

Tableau 9. Tableau des corrections à apporter. Par exemple, une mesure (Em) de 220 mV à 12°C correspond à une correction (Eref) de 217 mV. La mesure de potentiel red-ox au niveau de l'électrode est de 437 mV.

Température en °C	Eref en mV
0-5	+224
5-10	+221
10-15	+217
15-20	+214
20-25	+210
25-30	+207
30-35	+203



Figure 6. Mesure du potentiel red-ox à différentes profondeurs. Utilisation d'un pH-mètre WTW. (J. Geist)

Le calcul du rH2

Le rH2, ou potentiel électronique, est un calcul (équation de Nernst) qui indique, pour un pH donné, l'état d'oxydation ou de réduction d'une solution. Dans le but de caractériser l'oxygénation du sédiment, le calcul du rH2 est réalisé selon l'équation suivante (avec Eh, potentiel d'oxydo-réduction corrigé et exprimé en Volt) : $rH2 = 2 \times pH + 33,8 Eh$

Les valeurs de rH2 sont comprises dans un intervalle de valeurs allant de 0 à 42.

- ♦ Pour un rH2 compris entre 28 et 42, le milieu se trouve dans des conditions oxydantes.
- ♦ Pour un rH2 compris entre 0 et 28, le milieu se trouve dans des conditions réductrices.

6.2.4. Procédure pour méthode du « stick hypoxie »

La présence d'oxygène dans le substrat des ruisseaux est primordiale pour assurer son bon fonctionnement écologique. L'Unité expérimentale d'écologie et d'écotoxicologie aquatique de l'INRA de Rennes a élaboré une méthode appelée « stick hypoxie »^[20] pour mesurer le taux d'oxygénation des sédiments en profondeur. Ce paramètre se mesure avec une méthode simple qui consiste à enfoncer dans le sédiment une baguette en bois de 30 cm de long (figures 7 et 8).

[20] Marmonier *et al.* (2004)

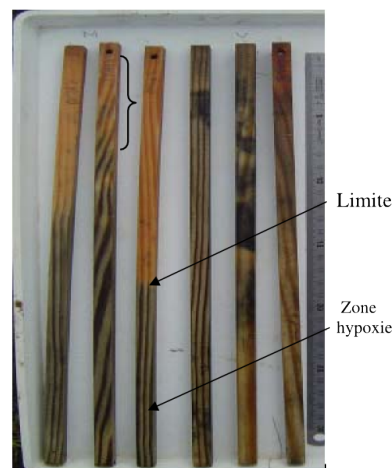
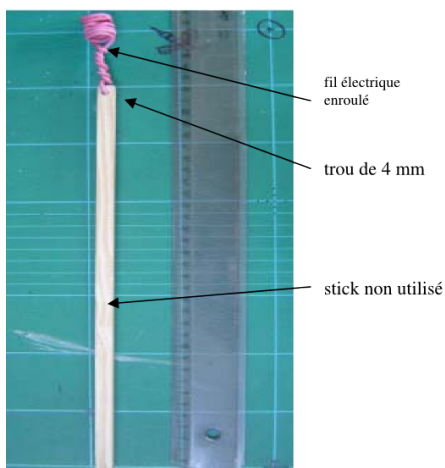


Figure 7. A gauche, stick hypoxie avant utilisation, à droite : a : barre à mine nue, b : tube guide, c : barre à mine introduite dans le guide.

Figure 8. Sticks après 3 semaines d'exposition

Le stick est perforé à 2 cm d'une extrémité avec un foret de 4 mm de diamètre. Ce trou permettra d'attacher un fil de repérage de 25 cm. Ce fil sera suffisamment souple (fil électrique par exemple) pour être entortillé autour d'une tige.

Une barre à mine est préférable pour enfoncer les sticks. Une barre métallique coulissant dans un fourreau peut aussi être utilisée pour enfoncer les sticks. Une marque réalisée à 30 cm d'une extrémité servira de référence pour la profondeur d'enfoncement. La barre métallique est équipée d'une butée bloquant le tube lors de l'enfoncement.

Après 3 semaines dans les sédiments de la rivière, les sticks sont retirés. La couleur jaune pâle de la couleur naturelle du bois contraste avec des zones grises qui sont des zones où l'oxygène faisait défaut. La lecture est immédiate, mais les tâches disparaissent avec le temps ; il est donc conseillé de faire une photo ou de marquer les niveaux au crayon gris sur le terrain.

La couleur grise indique une activité bactérienne anaérobie (bactérie vivant en absence d'oxygène). La couleur du bois d'origine indique que la section était dans des conditions de bonne oxygénation (sans bactéries anaérobie)

7. Qualité de l'environnement

7.1. Matériel et méthodes

7.1.1. Paramètres mesurés

L'objectif de l'analyse est de fournir une estimation qualitative du milieu aquatique, en utilisant les macro-invertébrés benthiques en tant que compartiment intégrateur du milieu. Cette analyse est basée sur l'utilisation de l'IBGN (Indice Biologique Global Normalisé [21]), méthode normalisée en France (norme AFNOR NF T90-350 de 1992), révisée en 2004 et développée vers une compatibilité aux prescriptions de la Directive Cadre Européenne (DCE) pour devenir l'IBG-DCE. Ce protocole fait l'objet d'une normalisation à l'échelle nationale :

- échantillonnage des macro-invertébrés (XP T90-333 de septembre 2009) ;
- traitement et détermination des échantillons (XP T90-388 de juin 2010).

En complément, le Coefficient d'aptitude Biogène (Cb2) [22] est calculé. Le Cb2 juge la qualité d'une station en fonction d'un optimum écologique en s'appuyant sur la prise en compte de la densité des taxons et sur un répertoire faunistique plus important (92 taxons indicateurs) que l'IBGN. C'est pour cette raison que les deux indices sont complémentaires.

7.1.2. Lieux de mesure

Pour être représentative d'un tronçon de cours d'eau, la station IBGN doit être située préférentiellement sur des séquences de faciès radier/mouille. En première approximation, la largeur de plein bord (Lpb) peut être estimée rapidement sur le terrain à partir de la zone non végétalisée du lit, mesurée entre le haut des deux berges (hauteur juste avant débordement). La hauteur d'une séquence radier/mouille représente en moyenne 6 fois la largeur du lit à plein bord :

- pour les petits et moyens cours d'eau, 2 séquences radier/mouille seront considérées, soit 12xLpb (cas des différents cours d'eau du programme LIFE) ;
- pour les très petits cours d'eau, souvent plus hétérogènes, il est préférable de prendre en compte 3 séquences, soit 18xLpb ;
- pour les grands cours d'eau, le choix de 2 séquences reste préférable mais, pour des raisons pratiques, une séquence peut suffire.

Quelle que soit la taille du cours d'eau, la station devra être aussi représentative que possible de la morphologie du tronçon, dont des éventuelles altérations hydromorphologiques.

7.1.3. Matériel

- Filet de type « surber », muni d'un cadre de 1/20 m² et d'un vide de maille de 500 µm
- 8 bocaux de prélèvement
- Tamis de 500 µm
- Pince, loupe binoculaire (x45 et x80)

7.1.4. Fréquence

La qualité biologique des cours d'eau sera appréciée deux fois au cours du projet, en 2011 et 2014, pour chacune des stations de mulettes. Les prélèvements s'effectueront entre le 15 avril et 15 juin.

7.2. Procédures d'enregistrement

7.2.1. Procédure pour l'IBGN

Chaque station sera précisément identifiée par les informations présentes sur la fiche terrain : nom du cours d'eau, commune, date, largeur moyenne du lit mouillé, profondeur moyenne, longueur de la station, météorologie du jour, coordonnées GPS ...

Les prélèvements sont à réaliser plutôt en période de basses eaux. Ils ne doivent en aucun cas

[21] IBGN : norme AFNOR : NF T90-350 de mars 2004

[22] Verneaux (1982)

être mis en œuvre le jour où la turbidité du cours d'eau est importante et/ou après un épisode de forte crue (car un délai de recolonisation des lieux par la faune benthique est recommandé).

Les prélèvements doivent être réalisés dans le sens du courant, à l'aide d'un filet de type « surber », muni d'un cadre de 1/20 m² (correspondant à la surface de chaque prélèvement) et d'un vide de maille de 500 µm.

Pour être pris en compte dans la description de la station et inclus dans l'échantillonnage, un substrat doit représenter une surface minimale au moins égale à 1% de la surface de la station. Cette surface est estimée visuellement. Les différents types de substrats sont classés selon un ordre de priorité d'échantillonnage correspondant à une habitabilité décroissante.

Dans le cadre de ce suivi, il a été choisi de se limiter à 8 prélèvements (soit le nombre utilisé habituellement pour le protocole IBGN : 4 habitats dominants, 4 habitats marginaux). De même, l'option a été prise de distinguer chacun de ces 8 prélèvements dans un contenant différent afin de disposer de précieuses informations sur le préférendum écologique des taxons capturés.

La détermination des invertébrés récoltés a, par contre, bien été poussée aux rangs taxonomiques prescrits par la norme XP T90-388 (genre dans la majorité des cas), afin d'exploiter au mieux les résultats et les comparer plus facilement avec ceux des réseaux de suivi ayant cours sur le territoire du Massif armoricain.

7.2.2. Procédure de calcul du Cb2

Le Cb2 a également été calculé. Il permet d'apprécier l'aptitude biogène d'un site d'eau courante à partir de l'analyse de la macrofaune benthique, selon un protocole standard comme l'IBGN. Le Cb2 est une note sur 20 qui résulte de la somme de deux indices Iv (indice de variété taxonomique) et In (indice nature de la faune). Iv évalue la part du peuplement macrobenthique influencée par la qualité de l'habitat alors qu'In évalue celle influencée par la qualité de l'eau.

- $Iv = 0,22 * N$; avec N : nombre de taxons répertoriés appartenant à la liste des taxons utilisés pour le Cb2.
- $In = 1,21 * \sum k \text{ imax}/k$; avec k : le nombre de taxons de la liste Cb2 présentant les indices i de qualité de l'eau divisé par 4.

Contrairement à l'IBGN qui livre une appréciation dépendante de la typologie du point de prélèvement, le Cb2 juge la qualité d'une station en fonction d'un optimum écologique en s'appuyant sur la prise en compte de la densité des taxons et sur un répertoire faunistique plus important (92 taxons indicateurs).

C'est pour cette raison que les deux indices sont complémentaires, notamment dans l'interprétation des résultats avec In qui est l'expression de la qualité physico-chimique de l'eau et Iv qui exprime la qualité et la diversité des microhabitats.

8. Synthèse

Tableau 10. Synthèse des paramètres mesurés sur le terrain

	Matériel	Procédure	Fréquence	Valeurs « guides »
Qualité d'eau				
Température	Enregistreur de température HOBO0167	Mesures automatiques	Toutes les heures	< 19°C
pH	Multiparamètre Hanna HI 9828 et sondes adaptées		Entre le 15 et le 20 de chaque mois	< 19°C
Oxygène dissous				6,8 – 8
Conductivité				> 9 mg/L
Nitrates	Flaconnage adapté	Analyses en laboratoire	Entre le 15 et le 20 de chaque mois	< 2 mg/L de Nitrates N-NO ₃
Orthophosphates				< 0,15 mg/L d'Orthophosphates P-PO ₄ ³⁻
Pesticides				En 2011 et en 2015 (mars, avril, mai, juin et novembre) après plus de 10 mm de pluie en 24h
Qualité du substrat				
Pénétrabilité	Pénétromètre	3 répliques par mesure	En 2011 et 2014 au niveau des stations de mulettes pour caractériser leur milieu de vie	Homogénéité des valeurs 0,04-0,39 kg/cm ² (moy = 0,16 kg/cm ²)
Potentiel red-ox (mV)	Multiparamètre WTW et électrode Platine	à 0, 5 et 10 cm 3 répliques par mesure		A l'étiage chaque année pour rechercher des zones favorables de renforcement
pH	Multiparamètre Hanna HI 9828			
Conductivité	et sondes adaptées + seringue et tuyau de prélèvement			< 150 µS/cm à 25°C < 135 µS/cm à 20°C
Température		Dans l'eau courante		< 19°C
Oxygénation des sédiments	Stick hypoxie	Selon les possibilités du terrain		Couleur originelle du bois conservée
Qualité de l'environnement				
IBGN	Matériel de prélèvement de la macrofaune benthique	norme AFNOR : NF T90-350 de mars 2004	En 2011 et 2014 entre le 15 avril et le 15 juin	> 13

Tableau 11. Synthèse des paramètres calculés au bureau

	Calcul	Valeurs « guides »
Qualité d'eau		
Nitrates	Si le laboratoire fournit un résultat en Nitrates NO ₃ : diviser la valeur par 4,43 pour avoir un résultat en N-NO ₃	< 2 mg/L de Nitrates N-NO ₃
Orthophosphates	Si le laboratoire fournit un résultat en Orthophosphates PO ₄ ³⁻ : diviser la valeur par 3,07 pour avoir un résultat en P-PO ₄ ³⁻	< 0,15 mg/L d'Orthophosphates P-PO ₄ ³⁻
Conductivité	Si la valeur a été prise en température de référence de 20°C, la ramener à 25°C en appliquant un facteur de 1,90 % par degré Conductivité à 20°C = Conductivité à 25°C x 0,905 Conductivité à 25°C = Conductivité à 20°C x 1,095	< 150 µS/cm à 25°C < 135 µS/cm à 20°C
Qualité du substrat		
Potentiel red-ox corrigé (mV) (appelé aussi « Eh »)	Potentiel red-ox (Eh) = Potentiel mesuré (Em) + Correction à appliquer (Eref) « Eref » dépend de la température mesurée sur le terrain dans l'eau libre	> 300 mV
Gradient de potentiel red-ox	A calculer en tableau Excel	< 20 % entre 0 et 5 cm
rH2	A calculer en tableau Excel	> 28
Qualité de l'environnement		
IBGN	norme AFNOR : NF T90-350 de mars 2004	> 13
Cb2	Verneau (1982)	> 15 (???????)

9. Bibliographie

- Agence de l'Eau Loire-Bretagne 2006. *Le prélèvement d'échantillons en rivière. Technique d'échantillonnage en vue d'analyses physico-chimiques. Guide technique + Annexes.* 130 p + 27 p. http://www.eau-loire-bretagne.fr/espace_documentaire/documents_en_ligne/guides_milieux_aquatiques
- Araujo R. & Ramos M.A. 2001. *Action plans for Margaritifera auricularia and Margaritifera margaritifera in Europe.* Nature and environment, Council of Europe. n°117, 64 p.
- Bauer G. 1988. Threats to the freshwater pearl mussel in Central Europe. *Biological Conservation*, 45: 239-253.
- Bauer G., Schrimppf E., Thomas W. & Herrmann R. 1980. Zusammenhänge zwischen dem Bestanddruckgang des flussperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) in Fichtelgebirge und der Gewässerbelastung. *Archiv für hydrobiologie*, 88: 505-513.
- Björk S. 1962. Investigation on *Margaritifera margaritifera* and *Unio crassus*. Limnologic studies in rivers in South Sweden. *Acta Limnologica*, 4 : 5-109.
- Boycott A.E. 1936. The habitats of freshwater Mollusca in Britain. *Journal of Animal Ecology*, 5: 116-186.
- Charlon N. 1969. Relation entre métabolisme respiratoire chez les poissons, teneur en oxygène et température. *Extrait du Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 105 (1-2) : 136-156.
- CORPEP Bretagne 2010. *Les pesticides dans les eaux superficielles bretonnes. Bilan 2009.* DREAL Bretagne, Agence de l'Eau Loire Bretagne. 24 p.
- Crisp D.T. 1989. Some impact of human activities on trout, *Salmo trutta*, populations. *Freshwater Biology*, 21 : 21-33.
- Degerman E., Alexanderson S., Bergengren J., Henrikson L., Johansson B.-E., Larsen B.M. & Söderberg H. 2009. *Restoration of freshwater pearl mussel streams.* WWF Sweden, Solna. 62 p.
- Elliott J.M. 1975. Number of meals in a day, maximum weight of food consumed in a day and maximum rate of feeding for brown trout, *Salmo trutta* L. *Freshwater Biology*, 5 (3) : 287-303.
- Frost W.E. & Brown M.E. 1967. *The trout.* Collins Ed. (London), 286 p.
- Geist J. & Auerswald K. 2007. Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biology*, 52: 2299-2316.
- Geist J. 2005. *Conservation Genetics and Ecology of European Freshwater Pearl Mussels (Margaritifera margaritifera L.).* Salzburg, Universität München, 132 p.
- Hastie L.C., Boon P.J. & Young M.R. 2000. Physical microhabitat requirements of freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.). *Hydrobiologia*, 459: 59-71
- Hendelberg J. 1961. *The freshwater pearl mussel Margaritifera margaritifera (L.).* Report of the Institute of Freshwater Research n° 41, pp. 149-171.
- Jansen W., Bauer G. & Zahner-Meike E. 1998. Glochidial mortality in Freshwater mussels. In Bauer G. and Wächtler K. (2000). *Ecological Studies Vol 145. Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoidae.* Springer-Verlag, Berlin. pp. 143-162.
- Marmonier P., Delettre Y., Lefebvre S., Guyon J., Boulton A.J. 2004. A simple technique using wooden stakes to estimate vertical patterns of interstitial oxygenation in the beds of rivers. *Archiv für Hydrobiologie*, 160 (1) : 133-143.
- Mills D.H. 1971. *Salmon and trout resource, its ecology, conservation and management.* Oliver and Boyd Ed. (Edinburgh), 351 p.
- Moorkens E. 2000. Conservation management of the Freshwater Pearl Mussel *Margaritifera margaritifera*. Part 2 : Water quality requirements. *Irish wildlife manuals*, N°9.
- Morales Y., Weber L.J., Mynett A.E. & Newton T.J. 2006. Effects of substrate and hydrodynamic conditions on the formation of mussels beds in large river. *Journal of the North American*

Benthological Society: Vol. 25, n°3, pp 664-676.

Oliver P.G. 2000. *Conservation objectives for the freshwater pearl mussel* (*Margaritifera margaritifera*). Report to English Nature, Peterborough.

Österling M.E., Arvidsson B.L. & Greenberg L.A. 2010. Habitat degradation and the decline of the threatened mussel *Margaritifera margaritifera*: influence of turbidity and sedimentation on the mussel and its host. *Journal of Applied Ecology*, 47: 759-768

Prié V. & Cochet G. 2011. *Plan national d'actions en faveur de la Mulette perlière* *Margaritifera margaritifera* 2012-2017. MEDDTL, 80 p.

Skinner A., Young M. & Hastie L. 2003. *Ecology of the Freshwater Pearl Mussel*. Conserving Natura 2000 Rivers Ecology Series. No. 2 English Nature, Peterborough, 15 p.

Valovirta I. 1998. Conservation of *Margaritifera margaritifera* in Finland. Coll. On the Bern Convention. *Environnemental encounters*, 109: 59-63.

Vannote R.L. & Minshall G.W. 1982. Fluvial processes and local lithology controlling abundance, structure and composition of mussel beds. *Proceedings of the National Academy of Science*, 79: 4103-4107.

Varandas S., Lopes-Lima Manuel, Teixeira A., Hinzmann M., Reis J., Cortes R., Machado J. & Sousa R. 2013. Ecology of southern European mussels (*Magaritifera margaritifera*): first record of two new populations on the rivers Terva and Beça (Portugal). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, DOI: 10.1002/acq.2321.

Verneaux J. 1982. *Expression biologique, qualitative et pratique, de l'aptitude des cours d'eau au développement de la faune benthique. Un coefficient d'aptitude biogène : le Cb2. Protocole expérimental*. Travaux scientifiques de l'Université de Besançon, Biologie animale. 19p.

Wahlström K. 2006. *Sediment Requirements for Freshwater Pearl Mussel* (*Margaritifera margaritifera*) *Recruitment*. Karlstads Universitet, Sweden, 17 p.

9. Annexes

1. Fiche de collecte des données de terrain – qualité de l'eau
2. Fiche de collecte des données de terrain – qualité des sédiments

Annexe 1. Tableau Excel de saisie des données de qualité d'eau

Localisation		Date	Heure	Climatologie		Hydrologie		Conditions de prélèvement	Raison si difficile	Mesures							Analyses			
Nom de la station	Opérateur(trice)			Jour	Semaine	Jour	Semaine			Jour	Semaine	T°C air	T°C eau	O2 dissous (mg/L) valeur ?	Saturation en O2 dissous (%)	Conductivité à 25°C	pH	Pression atmosphérique (hPa)	n° d'échantillon labo	Nitrates (mg/L)
Bonne Chère_1	Pasco P.Y. & Capoulade M.	2011-01-17	10h08	3. Humide	NR	5. Lit plein ou presque	0. Inconnu			10,0	9,71	9,65	85,80	86	6,56	1002	NT 200395	16,0	0,15	
Elez_1	Pasco P.Y. & Capoulade M.	2011-01-17	13h51	3. Humide	NR	5. Lit plein ou presque	0. Inconnu			10,4	9,27	15,27	135,00	42	6,36	993	NT 200397	2,6	<0,05	
Loch_1	Pasco P.Y. & Capoulade M.	2011-01-17	11h46	3. Humide	NR	5. Lit plein ou presque	0. Inconnu			9,4	8,94	13,13	116,00	84	6,85	991	NT 200396	8,4	0,07	
Loch_1	Agence de l'eau	2011-01-24	11h30							11,0	6,4	11,4	96,3		7,5			11	0,05	
Bonne Chère_1	Pasco P.Y.	2011-02-15	9h30	4. Pluie	3. Humide	5. Lit plein ou presque	0. Inconnu	Facile			6,99	10,23	87,80	116	6,58	973	NT 201259	18,0	0,12	
Elez_1	Pasco P.Y.	2011-02-15	14h00	3. Humide	3. Humide	4. Moyennes eaux	4. Moyennes eaux	Facile			6,91	10,16	88,00	41	6,39	962	NT 201261	2,7	<0,05	
Loch_1	Pasco P.Y.	2011-02-15	11h00	4. Pluie	3. Humide	4. Moyennes eaux	4. Moyennes eaux	Facile		6,9	6,15	9,93	84,50	78	6,95	960				
Loch_2	Pasco P.Y.	2011-02-15	11h30	4. Pluie	3. Humide	4. Moyennes eaux	4. Moyennes eaux	Facile			6,36	9,89	84,60	80	6,93	960	NT 201260	9,7	0,07	
Loch_1	Agence de l'eau	2011-02-23	10h03								7,6	11,3	97		7,4			10	0,05	

Climatologie :	1. Sec ensoleillé	2. Sec couvert	3. Humide	4. Pluie	5. Orage	6. Neige	7. Gel	NR
Hydrologie :	0. Inconnu	1. Pas d'eau	2. Trous d'eau, flaques	3. Basses eaux	4. Moyennes eaux	5. Lit plein ou presque	6. Crue	
Conditions de prélèvement :	Facile							
	Difficile							

Annexe 2. Tableau Excel de saisie des données de qualité de substrat avec calculs automatiques du Eh, rH2, deltas, etc.

rivière	date	heure début	heure fin	Site	Transect	Localisation (a : rive gauche, b : centre, c : rive droite)	T°C (0 cm)	pH (0 cm)	Cond (0 cm)	Em (0 cm)	Correction (0 cm)	Eh (0 cm)	rH2 (0 cm)	T°C (5 cm)	pH (5 cm)	Cond (5 cm)	Em (5 cm)	Correction (5 cm)	Eh (5 cm)	rH2 (5 cm)
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	a	17	6,71	115	336	214	550	32,01	16,91	6,16	115	305	214	519	29,8622
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	b	16,6	6,73	120	327,5	214	541,5	31,7627	16,88	6,77	119	351	214	565	32,637
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	c	16,8	6,98	120	333	214	547	32,4486	16,8	6,38	111	326,7	214	540,7	31,03566

rivière	date	heure début	heure fin	Site	Transect	Localisation (a : rive gauche, b : centre, c : rive droite)	T°C (10 cm)	pH (10 cm)	Cond (10 cm)	Em (10 cm)	Correction (10 cm)	Eh (10 cm)	rH2 (10 cm)	Delta 5 cm	Delta 10 cm	Delta 5-10 cm	Delta 10-10 cm	Moyenne Delta	Pénétrabilité replicat 1	Pénétrabilité replicat 2	Pénétrabilité replicat 3	Diamètre disque (cm)	Surface disque (cm²)	Pénétrabilité Kg/cm² replicat 1	Pénétrabilité kg/cm² replicat 2	Pénétrabilité kg/cm² replicat 3
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,05636364	n/a	n/a	n/a	0,05636364	2,25	1,75	2	2	3,14159265	0,716197244	0,5570423	0,63661977
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	b	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,043398	n/a	n/a	n/a	0,043398	3	1,75	2	2	3,14159265	0,954929659	0,5570423	0,5570423
Loch	23/08/12	11h00	16h45	Station 01	L01-01	c	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,01151737	n/a	n/a	n/a	0,01151737	2,25	1,5	2	2	3,14159265	0,716197244	0,47746483	0,63661977