



**HAL**  
open science

## Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton

Magali Duval, Faïçal Badat, Harold Cambert, Edouard Collin, Pascale Cuet,  
Léonard Durasnel, Ludovic Hoarau, Ronan Le Goff, Laurence Maurel,  
Alexandre Moullama, et al.

► **To cite this version:**

Magali Duval, Faïçal Badat, Harold Cambert, Edouard Collin, Pascale Cuet, et al.. Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton : Fascicule technique pour la mise en œuvre du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE à La Réunion : Réseau Hydrologique du Littoral Réunionnais. 2015. hal-01369429

**HAL Id: hal-01369429**

**<https://hal.univ-reunion.fr/hal-01369429>**

Submitted on 23 Sep 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton

Fascicule technique pour la mise en œuvre  
du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton"  
du réseau de contrôle de surveillance DCE à La Réunion :  
Réseau Hydrologique du Littoral Réunionnais



Février 2015

Version 2.0

Partenaires scientifiques et techniques :





# Réseau de Contrôle de la Surveillance DCE

## Suivi "Paramètres Physico- Chimiques & Phytoplancton : le Réseau Hydrologique du Littoral Réunionnais"

### MEMBRES ET ORGANISATION DU GROUPE DE TRAVAIL DCE REUNION "Physico-chimie et phytoplancton":

#### Coordination :

**Magali DUVAL et Michel ROPERT,**  
Délégation Ifremer océan indien, Rue Jean Bertho, LE PORT

#### Expertise thématique et scientifique :

##### Phytoplancton :

**Jean TURQUET et Alina TUNIN LEY**  
ARVAM puis ARDA - Cellule Biotechnologie et Environnement  
marin, 2 rue Maxime Rivière, Sainte-Clotilde, SAINT-DENIS

##### Physico-Chimie :

**Pascal CUET,**  
Lab. ECOMAR, Université de La Réunion, 15 Avenue René Casin, ST  
DENIS

**Harold CAMBERT**  
ARVAM, 2 rue Maxime Rivière, Sainte-Clotilde, SAINT-DENIS

#### Mises à jour du document:

**Magali DUVAL,**  
Délégation Ifremer océan indien, Rue Jean Bertho, LE PORT

#### Autres contributeurs du Groupe de Travail DCE Réunion :

**Faïçal BADAT, Léonard DURASNEL, Alexandre MOULLAMA**  
Office de l'eau de La Réunion, 44 Rue Mazagran, SAINT-DENIS  
**Edouard COLLIN, Ludovic HOARAU, Ronan LE GOFF,**  
**Laurence MAUREL, Coralie VERMENOT,**  
Délégation Ifremer océan indien, Rue Jean Bertho, LE PORT  
**Pascal TALEC,**  
DEAL, parc de la Providence, ST DENIS  
Délégation Ifremer océan indien, Rue Jean Bertho, LE PORT

#### Référents DCE nationaux :

**Catherine BELIN, Anne DANIEL, Emilie GAUTHIER, Luis  
LAMPERT, Jean-Claude MASSON, Dominique SOUDANT,**  
**Laurence MIOSSEC, (Coordination Ifremer)**  
**Marie Claude XIMENES, Olivier MONNIER (ONEMA)**

Photo couverture : Prélèvement d'eau à la bouteille Niskin dans le cadre du RHRLR ; ©Arvam

Février 2015

### Ce document doit être cité comme suit :

GT DCE Réunion "Physico-Chimie et Phytoplancton". 2015. Fascicule technique pour la mise en œuvre du réseau de contrôle de surveillance DCE "Physico-Chimie et Phytoplancton (RHRLR)" à La Réunion. Projet Bon Etat II, réactualisation de l'état des lieux du SDAGE Réunion. RST-DOI/2015-02, 61p.

### Ou

GT DCE Réunion "Physico-Chimie et Phytoplancton", 2015.







# Sommaire

<b>1. CONTEXTE</b> .....	<b>1</b>
<b>2. DCE : OBLIGATIONS/RECOMMANDATIONS</b> .....	<b>7</b>
<b>3. DONNEES UTILISEES</b> .....	<b>8</b>
<b>4. LE RESEAU</b> .....	<b>9</b>
4.1. POSITIONNEMENT DES STATIONS DE SUIVI .....	9
4.2. PERIODES ET FREQUENCES D'ECHANTILLONNAGE .....	11
<b>5. PROTOCOLES D'ECHANTILLONNAGE</b> .....	<b>12</b>
5.1. MATERIEL.....	12
5.2. CONDITIONNEMENT DU FLACONNAGE .....	15
5.3. MESURES IN SITU ET PRELEVEMENT D'ECHANTILLONS D'EAU.....	16
5.3.1. Mesures <i>in situ</i> .....	17
5.3.2. Prélèvement d'échantillons d'eau .....	19
5.3.3. Prélèvement d'un l'échantillon de phytoplancton via un trait de filet .....	24
5.4. PRE-TRAITEMENT DES ECHANTILLONS .....	25
5.4.1. Filtration du silicate .....	25
5.4.2. Pasteurisation des échantillons de nutriments .....	26
5.4.3. Filtration des échantillons de la chlorophylle a.....	26
5.4.4. Filtration des échantillons pour analyse pigmentaire .....	27
5.4.5. Dénombrement par microscopie .....	27
5.4.6. Dénombrement par cytométrie en flux .....	27
5.5. CONSERVATION DES ECHANTILLONS .....	28
5.6. ASSURANCE QUALITE .....	30
<b>6. ANALYSE DES ECHANTILLONS</b> .....	<b>32</b>
6.1. MESURE DE L'OXYGENE DISSOUS .....	32
6.2. MESURE DE LA SALINITE .....	32
6.3. MESURE DE LA TURBIDITE.....	32
6.4. ANALYSE DES NUTRIMENTS .....	32
6.5. ANALYSE DE LA CHLOROPHYLLE A ET DES PHEOPIGMENTS .....	33
6.6. ANALYSE PIGMENTAIRE .....	34
6.7. DENOMBREMENT DU PHYTOPLANCTON.....	34
6.7.1. Microscopie inversée .....	34
6.7.2. Cytométrie en flux.....	34
6.8. ASSURANCE QUALITE .....	34
<b>7. BANCARISATION ET VALORISATION DES DONNEES</b> .....	<b>36</b>
7.1. L'OUTIL : QUADRIGE <sup>2</sup> .....	36
7.2. TERMINOLOGIE QUADRIGE <sup>2</sup> .....	37
7.2.1. Lieux de surveillance .....	37



7.2.2. Programme/Stratégie .....	37
7.2.3. PSFMs.....	38
7.2.4. Passages/Prélèvements/Echantillons.....	40
7.3. <i>INTEGRATION DES DONNEES DANS QUADRIGE<sup>2</sup></i> .....	41
<b>8. SYNTHÈSE DES DONNÉES.....</b>	<b>43</b>
8.1. <i>ELEMENT DE QUALITE BIOLOGIQUE</i> .....	44
8.2. <i>ELEMENTS DE QUALITE PHYSICO-CHIMIQUES SOUTENANT LA BIOLOGIE</i> .....	44
8.2.1. Oxygène dissous.....	44
8.2.2. Turbidité .....	45
8.2.3. Salinité.....	46
8.2.4. Température.....	46
8.2.5. Nutriments .....	47
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>49</b>
<b>TABLES DES ILLUSTRATIONS .....</b>	<b>51</b>
<b>ANNEXE .....</b>	<b>53</b>

### Résumé des modifications

Version	Modifications
2.0	<p>Masse d'eau LC11 "Lagon de Saint-Leu" – Modification du lieu de surveillance</p> <p>Conditions de transport des échantillons devant être conservés à -80°C - Précision des préconisations</p> <p>Analyse pigmentaire - Préconisation sur le volume à filtrer</p> <p>Bancarisation Chlorophylle <i>a</i> et Phéopigments et dénombrement du phytoplancton "trait de filet" - Ajout d'une information sur la fraction</p> <p>Intégration des données dans Quadrige<sup>2</sup> / Masque de saisie QUADRILABO – Simplification de ce paragraphe compte-tenu de la mise à disposition de la version 1.0 du masque et de sa notice associée.</p> <p>+ Précisions/corrections mineures</p>

# 1. CONTEXTE

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) n°2000/60/CE du 23 octobre 2000 est une Directive du parlement et du conseil européen transposée en droit français, loi N° 2004-338 du 21/04/2004. La DCE établit un cadre pour la préservation et la restauration des eaux des Etats Membres, qu'il s'agisse des eaux de surface, souterraines ou côtières. La DCE fixe des obligations de résultats (et pas simplement de moyens), et oblige donc les Etats Membres, après une phase de constat (état des lieux) à lancer des programmes de préservation/restauration de la qualité des eaux afin de garantir "le bon état, écologique et chimique" de toutes les masses d'eau à l'horizon 2015.

En France, les rapports et les données résultant des réseaux de suivi de la DCE sont utilisés par les Comités de Bassin en charge de la coordination des Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE). Les SDAGE sont les documents définissant la politique de l'eau à l'échelle des grands bassins hydrographiques français ("districts hydrographiques"), bassins qui correspondent aux aires de compétence des Agences de l'Eau en métropole et à celles des Offices de l'Eau dans les DOM.

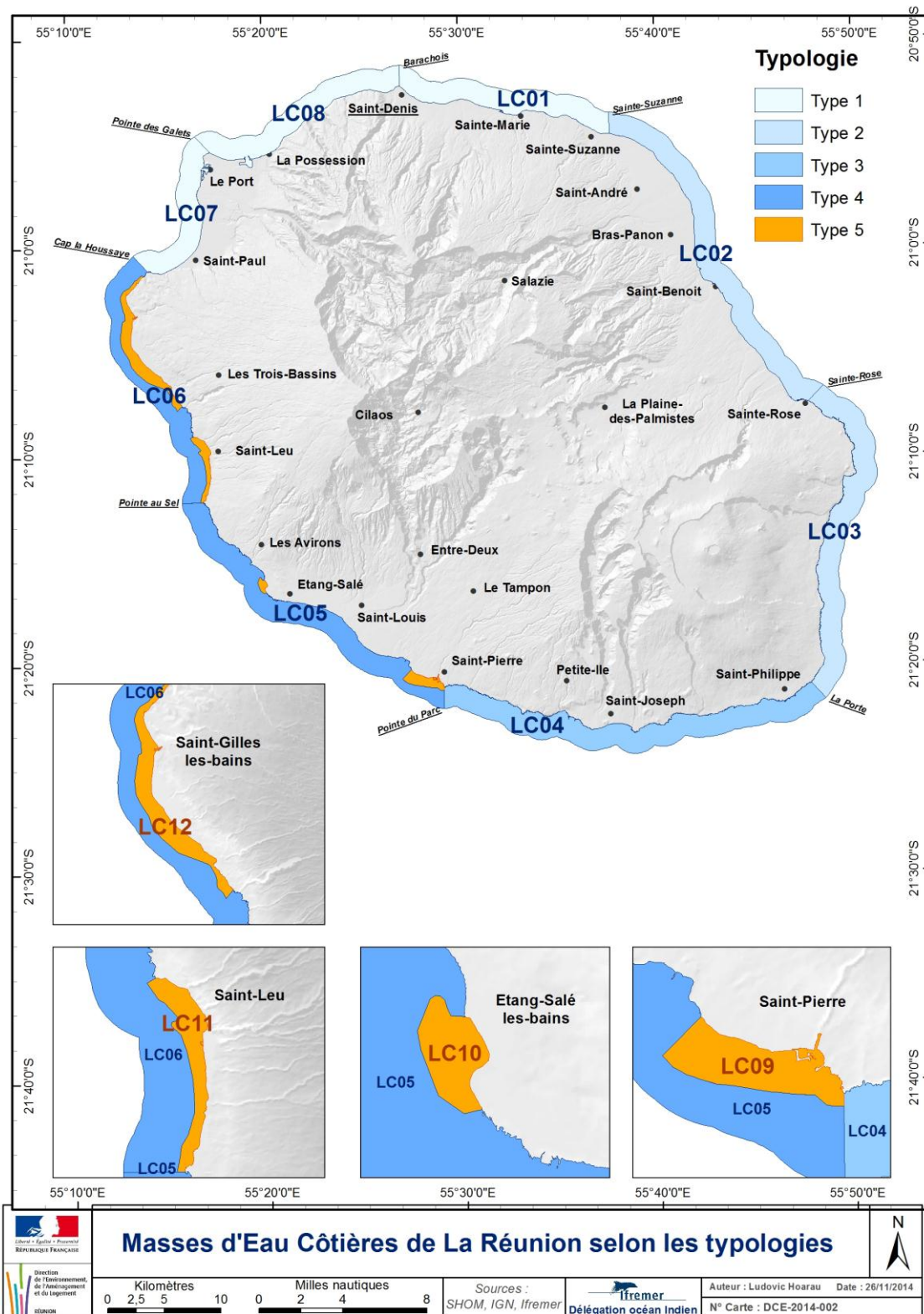
La DCE impose aux Etats Membres d'effectuer dans chacun de leurs grands bassins un découpage géographique en "masses d'eau" qui deviennent des unités de gestion.

La DCE précise que les **masses d'eau littorales** doivent s'étendre jusqu'à un mille au large du zéro des cartes bathymétriques et que leur découpage doit reposer sur :

- la capacité de renouvellement des eaux au sein de la masse d'eau, par mélange ou par transport, ce qui inclut les notions de temps de résidence, de renouvellement des eaux, d'intensité des houles (secteurs abrités ou battus) et de sensibilité de la zone aux apports (terrestres ou non, localisés ou diffus).
- des critères géomorphologiques, comme la profondeur et la nature des fonds, car ces critères conditionnent pour une bonne part la richesse faunistique, et plus généralement la biodiversité locale.

Ces critères permettent de définir la typologie des différentes masses d'eau (Tableau 1). En outre, chacune des masses d'eau retenue doit être si possible délimitée par des points « naturels » (cap, pointe, limite de bassin versant ...), et doit être la plus homogène possible du point de vue de ses caractéristiques naturelles ou des pressions exercées par les activités humaines, et ce afin que l'état constaté y soit lui-même le plus homogène possible (BCEOM, ARVAM, PARETO ECOCONSULT., 2005).

A La Réunion, la délimitation des masses d'eau littorales a été réalisée en lien avec les acteurs locaux, en juin 2004 par l'Ifremer à dire d'expert (Lazure 2004). Suite à l'acquisition de nouvelles données, notamment l'utilisation de la plate-forme de modélisation hydrodynamique Hydrorun dans le cadre du présent projet "Bon état II", un redécoupage a été effectué et validé. Douze masses d'eau côtières ont été définies dont quatre masses d'eau de type récifal correspondant aux 4 secteurs récifaux majeurs : Saint Gilles, Saint Leu, Etang-Salé et Saint Pierre (Carte 1 et Tableau 1).



Carte 1 : Découpage du littoral réunionnais en 12 Masses d'Eau Côtières (MEC), dont 4 de type récifal (encarts)

Tableau 1 : Classement des masses d'eau côtières en fonction de leur typologie

Typologie	Masses d'eau	Nom	Limites	Nature des fonds	Bathymétrie	Hauteur moyenne des vagues	Exposition particulière :	
							houles australes	houles cycloniques
Type 1	LC01	Saint-Denis	Barachois - Sainte-Suzanne	Meuble, sablo-vaseux	Petit fond à moyen	Faible	Faible	Forte
	LC07	Saint-Paul	Cap La Houssaye - Pointe des Galets					
	LC08	Le Port	Pointe des Galets - Barachois					
Type 2	LC02	Saint-Benoit	Sainte-Suzanne - Sainte-Rose	Hétérogène	Fond Moyen à Grand	Moyenne	Faible	Moyenne/ Forte
	LC03	Volcan	Sainte-Rose - La Porte					
Type 3	LC04	Saint-Joseph	La Porte - Pointe du Parc	Basaltique puis sablo-vaseux	Grand Fond	Très forte	Moyenne/ Forte	Moyenne
Type 4	LC05	Saint-Louis	Pointe du Parc - Pointe au Sel	Basaltique puis sableux	Fond Moyen	Moyenne à forte	Moyenne/ Forte	Faible/ Moyenne
	LC06	Ouest	Pointe au Sel - Cap La Houssaye					
Type 5	LC09	Saint-Pierre	Zone récifale - Saint-Pierre	Récif corallien	Petit Fond	Moyenne/ Forte	Moyenne	Faible
	LC10	Etang-Salé	Zone récifale - Etang-Salé					
	LC11	Saint-Leu	Zone récifale - Saint-Leu					
	LC12	Saint-Gilles	Zone récifale - Saint-Gilles					

La DCE impose en outre quatre grands types de contrôles/suivis de la qualité des eaux et des biocénoses qui les peuplent ou en dépendent :

- **Le Contrôle de Surveillance**, qui doit permettre le suivi de la qualité (aspects qualitatif, et également quantitatif pour ce qui concerne les eaux de surface et souterraines) d'un ensemble de masses d'eau jugées représentatives du district hydrographique, et ce sur le long terme,
- **Le Contrôle Opérationnel**, devant être appliqué aux masses d'eau risquant de ne pas atteindre le "bon état" d'ici 2015 (ces masses d'eau, anciennement qualifiées de "RNABE" pour Risque de Non Atteinte du Bon Etat, sont aujourd'hui qualifiées de "RNAOE", pour Risque de Non Atteinte des Objectifs Environnementaux,
- **Le Contrôle d'Enquête**, à appliquer en cas de non atteinte (probable) des objectifs et en absence d'explication ou de connaissance sur les facteurs de dégradation,
- **Le Contrôle Additionnel**, concernant certaines zones protégées particulières telles que les eaux de baignade, les habitats naturels, ainsi que zones hébergeant des espèces ou des habitats protégés, notamment au niveau communautaire.

Quels que soient le ou les types de contrôle, la DCE précise qu'il faut définir un état écologique et un état chimique pour pouvoir statuer sur la qualité d'une masse d'eau, sur son état. L'état écologique s'exprime selon 5 classes de qualité (très bon, bon, moyen, médiocre et mauvais), et l'état chimique uniquement selon deux classes : "bon" ou "non atteinte du bon état". Il a donc été nécessaire, pour chacun des indicateurs retenus (hors chimie), de bâtir des grilles de qualité à 5 classes (Figure 1).

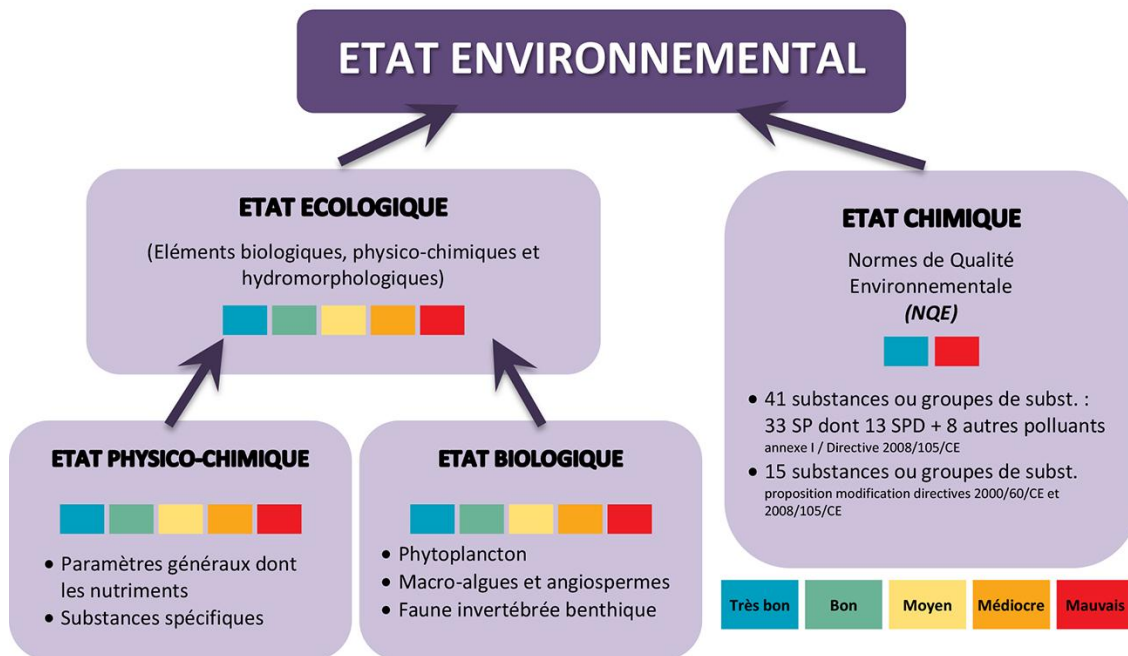


Figure 1 : Schéma de l'évaluation de l'état d'une masse d'eau imposé par la DCE

A La Réunion, c'est la DEAL (Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement) qui a été chargée de la mise en œuvre de la DCE.

Elle a initié différents projets dès le début des années 2000. Ces derniers ont été conduits par plusieurs structures spécialisées locales : ARVAM, IRD, Université de La Réunion ECOMAR, ... et leurs résultats ont été utilisés dans le cadre des groupes de travail.

Entre 2008 et 2013, la DEAL s'est appuyée sur la Délégation Ifremer océan Indien (DOI) qui a assumé la mission d'assistance à maîtrise d'ouvrage à travers différents projets et en créant et coordonnant quatre Groupes de Travail thématiques (GT) associant l'ensemble des experts locaux et métropolitains concernés (Tableau 2). En 2012, la maîtrise d'ouvrage de la mise en œuvre des suivis du réseau de contrôle de la surveillance DCE a été confiée institutionnellement à l'Office de l'Eau Réunion. Depuis 2013, la Délégation Ifremer océan Indien vient en appui au Bassin de La Réunion dans le cadre de deux conventions (ONEMA/Ifremer et Office de l'Eau Réunion/Ifremer). Ce soutien comprend, entre autres, la mise à jour des différents fascicules techniques.

Les quatre grandes thématiques abordées, et donc les quatre futurs suivis du réseau de contrôle de surveillance (RCS), traitent des contaminants chimiques, du benthos de substrats durs, du benthos de substrats meubles et enfin des paramètres physico-chimiques et du phytoplancton, objet du présent fascicule.





Le présent fascicule est consacré au réseau de suivi des paramètres physico-chimiques et du phytoplancton, dénommé RHLR, pour Réseau Hydrologique Littoral Réunionnais.

Le RHLR repose sur l'acquisition de données de température, de salinité, d'oxygène dissous, de turbidité et de concentrations en nutriments (éléments chimiques et physico-chimiques soutenant les éléments biologiques) ainsi que sur la détermination des teneurs en chlorophylle *a* et le suivi du phytoplancton (éléments biologiques). C'est à partir de ces paramètres que sont bâtis les indicateurs qui permettent de qualifier et suivre l'état des masses d'eau côtières.



Photo 1 : Couvertures des 4 fascicules techniques de définition des suivis du réseau de contrôle de surveillance à La Réunion

## 2. DCE : OBLIGATIONS/RECOMMANDATIONS

Dans le cadre de la DCE, l'évaluation de l'état écologique des eaux côtières doit reposer sur l'utilisation de paramètres biologiques d'une part, et de paramètres physico-chimiques "soutenant les éléments biologiques" (*i.e.* explicatifs des constats biologiques) d'autre part.

Les paramètres permettant de caractériser l'élément qualité phytoplancton sont la biomasse (un consensus général s'est fait en Europe sur la mesure de la concentration en chlorophylle *a* pour évaluer la biomasse), l'abondance (souvent représentée par un nombre de cellules phytoplanctoniques, observées au microscope pour le micro-phytoplancton ou évaluées en cytométrie en flux pour le nano- et le pico-phytoplancton), et enfin la composition spécifique (*i.e.* espèces ou groupements d'espèces constitutives du peuplement, sachant que les méthodes d'évaluation de cet indice sont encore à l'étude en Europe).

Les paramètres physico-chimiques à prendre en considération sont :

- la température,
- la salinité,
- la transparence (évaluée à l'aide de la turbidité),
- la teneur en oxygène dissous,
- les concentrations en nutriments (nitrate, nitrite, ammonium, phosphate et silicate).



### 3. DONNEES UTILISEES

Il s'agit des données utilisées par le groupe de travail pour remplir ses différentes missions : définition de la stratégie, ... (§1).

Le GT "hydrologie et phytoplancton" de La Réunion a retenu comme données "pertinentes"<sup>1</sup> :

- les données acquises dans le cadre du RNO-hydro de La Réunion entre 2002 et 2006 (Cuet et *al.*, 2006),
- les données acquises depuis 2008 dans le cadre du réseau de préfiguration du RHLR,
- les données de l'étude Phyturun (Turquet et *al.*, 2008),
- les données de température acquises par Conand (Conand et *al.*, 2007) en sub surface dans le cadre notamment du suivi des phénomènes de blanchissement corallien.

Pour l'élément qualité phytoplancton, l'échantillonnage se fait toute l'année sur toutes les masses d'eau côtières (MEC) de type 1 à 4 pour la biomasse et de manière allégée en fréquence et dans l'espace pour la composition et l'abondance.

- L'échantillonnage dans les MECs de type récifal (type 5) est considéré non pertinent par le GT "physico-chimie et phytoplancton" DCE de La Réunion compte-tenu de la variabilité de ce paramètre liée aux phénomènes suivants : le broutage du phytoplancton de la part des organismes benthiques, l'intensité lumineuse très forte et une faible profondeur qui entraînent une dégradation de la chlorophylle *a*, le décrochage du microphytobenthos par exemple lors des épisodes de fortes houles.
- Le phytoplancton "dénombrement microscopique" et "cytométrie en flux" ne sera réalisé que 3 fois par an sur quatre stations "Large Ermitage" (référence), "Baie St Paul", Sainte-Marie et Grande Anse.
- Le phytoplancton "analyse pigmentaire" ne sera réalisé que 6 fois par an sur deux stations "Large Ermitage" (référence) et "Baie St Paul".

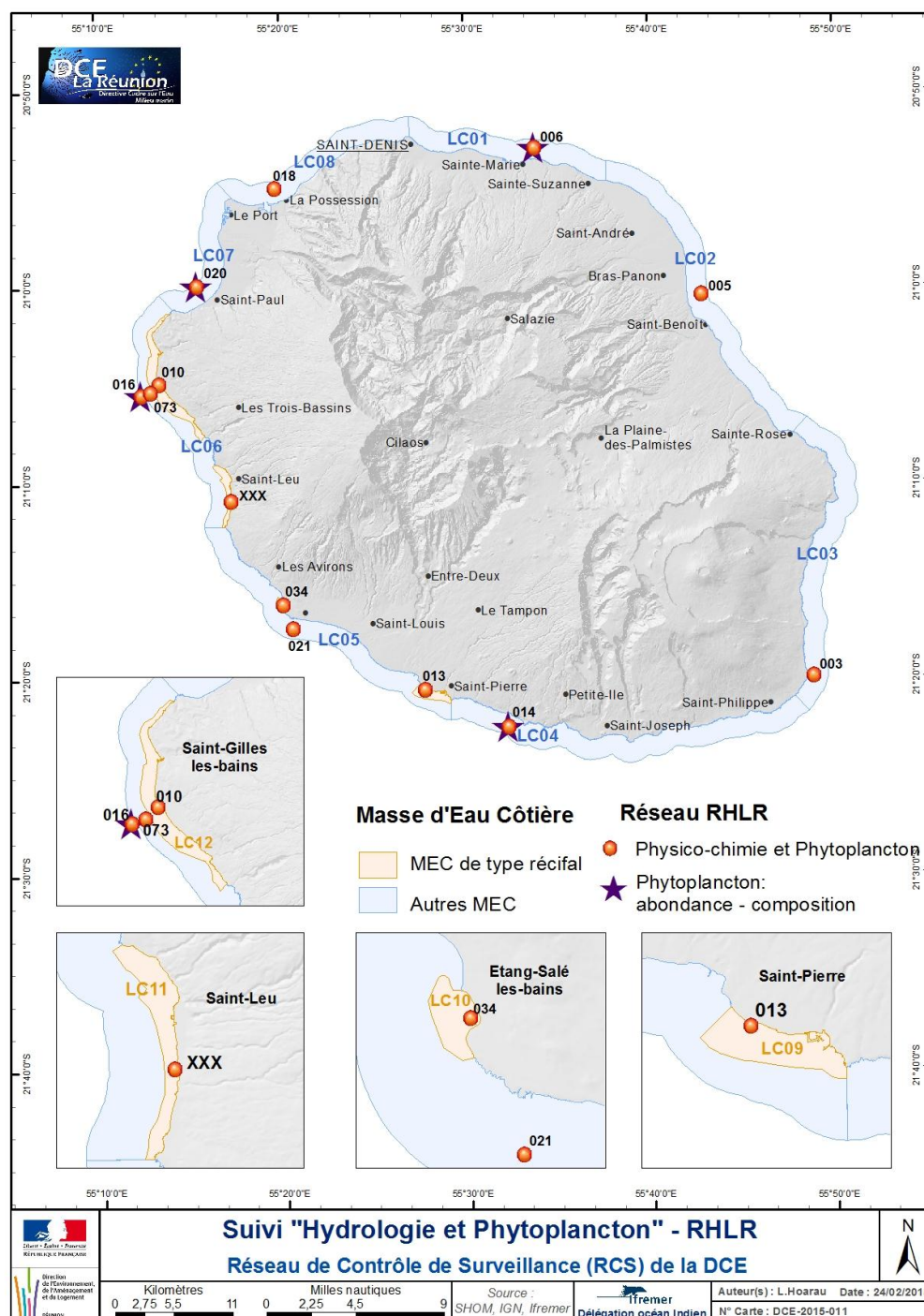
Enfin, dans le contexte tropical local, le GT a insisté sur le rôle important dans l'équilibre physico-chimique de l'écosystème lagunaire, du pH et de la pression partielle en dioxyde de carbone. Le GT préconise d'équiper deux stations d'enregistreurs en continu adaptés permettant de suivre ces deux paramètres à haute fréquence et sur le long terme.

---

<sup>1</sup> Parmi les données déjà disponibles à La Réunion, seules celles ayant été acquises dans le respect de protocoles normalisés, disposant de l'ensemble des métadonnées, et rendues libres de droit d'utilisation par leur producteur, ont été jugées "pertinentes", c'est-à-dire utilisables dans le cadre de la DCE.

## 4. LE RESEAU

### 4.1. Positionnement des stations de suivi



Carte 2 : Stations du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE dans les masses d'eau côtière de La Réunion. La numérotation correspond aux 3 derniers chiffres du mnémotechnique.

13 stations de suivi ont été définies par la GT "hydrologie et phytoplancton" de La Réunion, une par masse d'eau côtière (MEC), plus une station de référence située un peu plus au large (station "Large Ermitage") (Carte 2).

Les coordonnées GPS des stations sont données dans le Tableau 3.

Les points de suivi du Réseau Hydrologique Littoral Réunionnais (RHLR) correspondent aux points de suivi des contaminants chimiques dans l'eau et dans le biote.

Suite à des difficultés d'échantillonnage récurrentes (courant fort, ...), le point de suivi de la masse d'eau côtière LC11 a dû être déplacé. La nouvelle localisation du point a été définie par le GT DCE Réunion, les coordonnées indiquées dans le tableau sont théoriques, il conviendra de se positionner au plus près de celles-ci et de relever les coordonnées réelles lors de la prochaine campagne afin que le nouveau lieu soit créé dans le référentiel Quadrigé<sup>2</sup>/SANDRE.

Tableau 3: Positionnement des points de suivi du RHLR

Ancienne Masse d'eau	Masse d'eau	Mnémonique Q <sup>2</sup>	Lieu de Surveillance	Prof. (m)	Longitude WGS 84	Latitude WGS84
LC01	LC01	126-P-006	Sainte-Marie	20	55,563834	-20,882000
LC03	LC02	126-P-005	Saint-Benoit	75	55,713667	-21,007667
LC07	LC03	126-P-003	Pointe de la Table	75	55,813333	-21,332333
LC12	LC04	126-P-014	Grande Anse	60	55,536467	-21,374733
LC09	LC05	126-P-021	Saint-Louis	60	55,341299	-21,290166
LC05	LC06	126-P-073	Ermitage	30	55,214410	-21,088167
LC05	LC06	126-P-016	Large Ermitage	75	55,206000	-21,091000
LC04	LC07	126-P-020	Saint-Paul (Large)	75	55,256967	-20,997833
LC02	LC08	126-P-018	La Possession (Large)	75	55,328017	-20,915417
LC11	LC09	126-P-013	Lagon Saint Pierre Ravine Blanche	1	55,461100	-21,342500
LC10	LC10	126-P-034	Le Bassin pirogue - Etang salé (Platier)	1	55,332920	-21,269510
LC08	LC11	126-P-XXX	Lagon Saint Leu - Gendarmerie	1	55,286239	-21,181000
LC06	LC12	126-P-010	Lagon Saint-Gilles-les-Bains	1	55,221408	-21,081969

Les paramètres listés au §2 sont tous suivis en chacune de ces 13 stations aux profondeurs et fréquences définies au §5.3.

## 4.2. Périodes et fréquences d'échantillonnage

L'expérience acquise dans le cadre de la phase préparatoire du RHLR montre qu'il est nécessaire de programmer 6 campagnes dans l'année :

- 2 en période fraîche et sèche de l'hiver austral (juillet et août),\*
- 2 en début de saison chaude (novembre et décembre) correspondant aux premières pluies, et donc aux premiers lessivages des zones urbaines, agricoles et naturelles de l'île,\*
- 2 en milieu de période chaude et saison cyclonique (février et mars) correspondants aux pics de pluviométrie.\*

\* 1 fois par période pour le phytoplancton (abondance/composition)

Ces suivis sont à réaliser chaque année, soit six fois par plan de gestion. Les campagnes d'une même période doivent être réalisées en respectant un délai minimum de 15 jours entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nde</sup>.

*Les prélèvements sont effectués en dehors de tout événement climatique exceptionnel.*

L'ensemble d'une campagne doit être réalisé dans un laps de temps aussi court que possible (idéalement sur une période 4 jours) pour que l'ensemble des masses d'eau soit suivi dans des conditions météorologiques proches. Par exemple, à la saison des pluies, il est intéressant de suivre à peu de jours, voire peu d'heures, d'intervalle la masse d'eau côtière de type récifal et la masse d'eau côtière qui l'entoure. La programmation des campagnes doit également tenir compte des contraintes d'échantillonnage des masses d'eau côtières de type récifal mentionnées au paragraphe 5.3.2.

Tableau 4 : Nombre de stations et fréquence des suivis

Réseau	Lieux de surveillance	Stations	Fréquence /année	Fréquence / plan de gestion
RHLR	12 ME DCE + 1pt de référence	13	6 fois/an	6
		4	3 fois/an Phytoplancton (abondance/composition)	

### *Quelques tolérances sur les périodes et fréquences en cas de contraintes météorologiques*

- Une tolérance d'un mois est acceptée en fin de chaque période pour pouvoir réaliser les campagnes n'ayant pu être effectuées du fait de contraintes météorologiques.
- En cas de créneaux météorologiques insuffisants pour permettre la réalisation d'une campagne sur l'ensemble des lieux de surveillance et notamment sur la zone limitante de l'Est de l'île, un suivi allégé peut être envisagé :
  1. suivi de l'ensemble des MECs de type récifal et d'une partie des autres MECs,
  2. suivi des MECs de type récifal uniquement.

Ces 2 allègements doivent rester exceptionnels et être mis en œuvre avec l'accord de la maîtrise d'ouvrage. L'allègement "2" n'est à envisager qu'en cas d'ultime recours.

## 5. PROTOCOLES D'ÉCHANTILLONNAGE

*Les méthodes de prélèvements doivent respecter les préconisations et protocoles figurant dans les documents de référence en matière d'hydrologie marine d'Aminot et Kérouel (2004 & 2007). Ces préconisations et protocoles sont repris et illustrés (sous forme écrite et par des vidéos) dans le DVD, "Techniques de prélèvements hydrologiques", Daniel et al., 2010) qui liste et présente l'ensemble du matériel nécessaire, et montre précisément les différentes opérations de prélèvement, en rappelant systématiquement les précautions à prendre.*

*Ces éléments méthodologiques sous forme de séquences filmées sont visualisables depuis le site Web de la Délégation Ifremer océan Indien : <http://wwz.ifremer.fr/lareunion> ou depuis le site Environnement Littoral de l'Ifremer à l'adresse :*

*<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/presentation.html>.*

**Pour le phytoplancton, elles doivent respecter les exigences de la norme NF EN 15972.**

Le prestataire qui sera chargé de la réalisation des prélèvements du RHLR devra se conformer aux méthodes et protocoles précités, et, via une mise sous assurance qualité de l'ensemble de ses activités relatives aux prélèvements hydrologiques et phytoplanctoniques, être à même de démontrer que ces méthodes et protocoles ont été respectés.

### 5.1. Matériel

Le matériel se compose :

- d'une bouteille de prélèvements de type Niskin (Photo 2 a),  
Le volume de la bouteille doit être adapté à la quantité à prélever. Dans la mesure du possible, tous les paramètres doivent être réalisés sur une seule remontée de bouteille.
- d'une sonde multi-paramètres ou de sondes *in situ* (Photo 2 b et c),
- de flacons à bouchon parfaitement hermétique, spécifiques aux paramètres analysés (Photo 3),
- de gants à usage unique non poudrés pour éviter toute contamination,
- de réactifs (cf. matériel spécifique),
- de matériel pré-filtration et de filtration pour les échantillons de nutriments (cf. matériel spécifique),
- d'un filet à plancton (cf. matériel spécifique),
- de glacières avec blocs de froid (plaques eutectiques) en quantité qui ne doivent pas être utilisées pour d'autres usages (matière vivante, réactif, ...).

Suivant les paramètres analysés, les flacons doivent être traités/conditionnés avant 1<sup>ère</sup> utilisation et entre 2 utilisations. Ils sont ensuite stockés avant utilisation dans un endroit propre à l'abri de la poussière et éloignés de tout produit chimique.

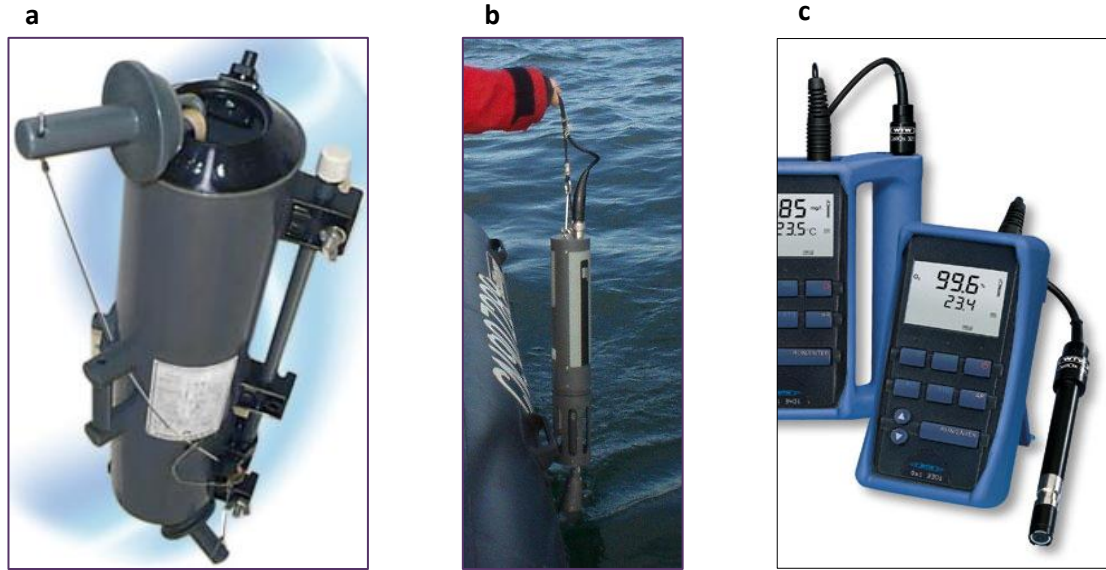


Photo 2 : Exemples de bouteille de prélèvement Niskin (a), de sonde multi paramètres (b) et de sonde *in situ* (c)


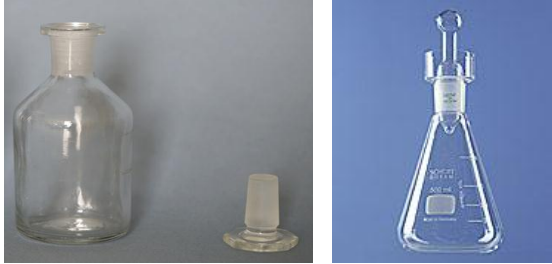


Salinité	Oxygène dissous
	
<p><b>Phytoplancton et chlorophylle <i>a</i></b>  <b>Analyse pigmentaire</b>                      (flacon plastique ou verre, éventuellement opaque dont le volume est adapté à la zone)</p>	<p><b>Nutriments</b>                      (HDPE à col étroit avec capuchon fileté en PE, 60 ou 125 mL : modèle à définir avec le laboratoire d'essais)</p>
	

Photo 3 : Exemples de flaconnages spécifiques



---

*L'ensemble des moyens à la mer peut perturber le milieu étudié, surtout les eaux de surface. En premier lieu, le bateau représente la source majeure de contaminations ou de perturbations. Les eaux de refroidissement des moteurs sont plus chaudes que l'eau de mer. Les eaux usées sont riches en éléments nutritifs, en détergents et en matériel particulaire. Le prélèvement d'eau doit donc être fait à un endroit aussi éloigné que possible des sources de contamination. Il est parfois souhaitable de prélever à l'avant du bateau, en marche avant très lente afin de réduire les risques. Plus généralement, la perturbation créée par l'arrivée du bateau en station, notamment le brassage dû aux hélices, doit avoir disparu avant de prendre un échantillon. A l'arrêt, pendant le prélèvement, tout rejet qui n'est pas strictement nécessaire au fonctionnement du bateau doit être proscrit. Le moteur doit être coupé avant d'entamer tout prélèvement afin d'éviter tout risque d'altération de l'échantillonnage par les gaz d'échappements (sauf évidemment si la sécurité n'est pas assurée). Il est interdit de fumer lors des prélèvements. Les prélèvements doivent être réalisés avec des mains propres (pas de graisse, ni d'essence) et le port de gant à usage unique non poudré est obligatoire pour certains échantillonnages.*

---

## 5.2. Conditionnement du flaconnage

Suivant le paramètre recherché, le flaconnage doit être traité avant 1<sup>ère</sup> utilisation et entre chaque utilisation.

Tableau 5 : Conditionnement du flaconnage

Paramètre	Avant 1 <sup>ère</sup> utilisation	Entre chaque utilisation
<b>Turbidité</b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Salinité</b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Oxygène dissous</b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Dénombrement de Phytoplancton</b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Chlorophylle <i>a</i></b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Analyse pigmentaire</b>	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée Lavage manuel ou au lave-vaisselle
<b>Nutriments</b>	Lavage manuel : lavage HCl 0.1N (remplir le flacon et laisser en contact pendant au minimum 24h) puis 3 rinçages à l'eau déminéralisée	Lavage manuel : 1 lavage HCl 1N puis 3 rinçages à l'eau déminéralisée Lave-vaisselle : lavage avec un acide dilué (HNO <sub>3</sub> à proscrire) et sans détergent puis rinçage à l'eau déminéralisée
<b>Ammonium méthode manuelle</b>	Lavage manuel : lavage HCl 1N (remplir le flacon et laisser en contact pendant au minimum 24h) puis 3 rinçages à l'eau déminéralisée Suivi d'une réaction à blanc	Lavage manuel : 3 rinçages à l'eau déminéralisée



### 5.3. Mesures *in situ* et prélèvement d'échantillons d'eau

Les mesures *in situ* et les prélèvements sont réalisés aux profondeurs indiquées dans le Tableau 6 et dans les conditions mentionnées au Tableau 7.

Tableau 6 : Profondeur de suivi selon le type de masse d'eau

#### MEC de type 1 à 4

Paramètre	Surface (0–1 m)	Fond-1m
Température	X	X ***
Salinité	X	X ***
Oxygène dissous	X	X ***
Turbidité	X	
Dénombrement de Phytoplancton *	X	
Chlorophylle <i>a</i>	X	
Analyse pigmentaire **	X	
Nutriments	X	

#### MEC de type récifal (type 5)

Paramètre	Surface-Fond profondeur < 3 m
Température	X
Salinité	X
Oxygène dissous	X
Turbidité	X
Chlorophylle <i>a</i>	non pertinent
Nutriments	X

\* uniquement sur 4 lieux de surveillance "Sainte-Marie" (126-P-006), "Grande Anse" (126-P-014), "Saint Paul" (126-P-020) et "Large Ermitage" (126-P-016, point de référence).

\*\* uniquement sur 2 lieux de surveillance "Saint Paul" (126-P-020) et "Large Ermitage" (126-P-016, point de référence).

\*\*\* O<sub>2</sub> dissous non pertinent sur des fonds supérieurs à ~ 30 m, Température et salinité uniquement si O<sub>2</sub> dissous

Tableau 7 : Conditions de prélèvement et d'analyses exigées pour chaque paramètre

Paramètre	Analyse <i>in situ</i>	Prélèvement d'échantillon d'eau		
		Filtration terrain	Filtration laboratoire	Analyse au laboratoire
Température	X			
Salinité	X			X
Oxygène dissous	X			X
Turbidité	X			X
Dénombrement de Phytoplancton				X
Chlorophylle <i>a</i>		X	X	X
Analyse pigmentaire				X
Nutriments		X	X	X

Lorsqu'il y a 2 possibilités, la méthode **recommandée** est indiquée en **gras**.

**Définition du prélèvement  $Q^2$  stricto sensu :**

Partie représentative du milieu en un endroit donné, et isolée pour permettre son échantillonnage. Il résulte de la mise en œuvre d'un seul engin de prélèvement. Comme un engin peut comporter plusieurs niveaux simultanés de prélèvement, il y a autant de prélèvements que d'engins.

**Définition de l'échantillon  $Q^2$  stricto sensu :**

Partie représentative **d'un et d'un seul des supports d'analyse** disponibles dans un prélèvement, partie qui est recueillie pour analyse ou dénombrement. Lorsque plusieurs paramètres doivent être mesurés sur un prélèvement, il peut être nécessaire de partitionner l'échantillon en plusieurs conditionnements.

**5.3.1. Mesures *in situ***

*Il est préférable de commencer les mesures au fond pour laisser le temps aux capteurs de se stabiliser : il est impératif d'attendre la stabilisation des capteurs avant de commencer toute mesure.*

*Certaines sondes multi-paramètres peuvent être déconnectées de leur boîtier de lecture pour être immergées sans contrôle visuel des mesures : le fichier de mesures obtenu est lu au retour du terrain. Pour s'assurer que les mesures sont effectuées à la profondeur souhaitée, la sonde est descendue à l'aide d'un bout marqué ou d'un système de treuil permettant de mesurer la longueur de bout. Dans ce dernier cas, il faudra veiller à ce que la sonde descende bien à la verticale.*

*Pour les sondes avec boîtier permettant une lecture directe, toute mesure doit être notée sur la fiche terrain afin de sécuriser les données en cas de dégradation ou de perte de la sonde.*

## La température

La mesure de la température est réalisée *in situ* au moyen d'un capteur associé à une sonde mono ou multiparamètre. Les exigences analytiques pour la température sont indiquées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Exigences analytiques pour la température

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Température	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0.5°C

## La salinité

La mesure de la salinité est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur de conductivité associé à une sonde mono ou multiparamètre. Les exigences analytiques pour la salinité sont indiquées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Exigences analytiques pour la salinité

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Salinité	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0.5

## L'oxygène dissous

La mesure de l'oxygène dissous est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur d'oxygène associé à une sonde mono ou multiparamètre. Les exigences analytiques pour l'oxygène dissous sont indiquées dans le Tableau 10.

Lorsque la longueur du câble de l'oxymètre est insuffisante pour faire la mesure directement *in situ*, ou en cas d'absence de sonde, la mesure d'oxygène peut être réalisée au moyen de la bouteille à prélèvement. La bouteille doit être manipulée avec des mains propres et remontée à bord sans agitation. L'oxymètre est plongé immédiatement au fond de la bouteille, et la valeur est notée une fois la mesure stabilisée. Le capteur pouvant être une source de contamination pour l'eau de la bouteille, celle-ci est vidée immédiatement et ne sert à aucun échantillonnage.

Tableau 10 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Oxygène dissous	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0.5 mg/l

## La turbidité

La mesure de la turbidité est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur de turbidité associé à une sonde mono ou multiparamètre.

Tableau 11 : Exigences analytiques pour la turbidité

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Turbidité	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 10%

---

***Les sondes de terrain doivent impérativement faire l'objet d'un suivi métrologique régulier. Les conditions et contraintes d'utilisation de matériels de terrain engendrent un risque d'anomalie de mesure (dérive, dérèglement) ou de panne non négligeable. Il faut donc toujours envisager l'éventualité d'un prélèvement. Il faut absolument veiller à ce que le prélèvement soit représentatif de la masse d'eau dans laquelle la mesure *in situ* a été effectuée.***

---

### 5.3.2. Prélèvement d'échantillons d'eau

Sur chaque lieu de surveillance, le prélèvement d'eau est réalisé obligatoirement à l'aide d'une bouteille de prélèvement (type Niskin). Un volume de 5 L est nécessaire pour permettre l'échantillonnage du volume nécessaire à la mesure de l'oxygène dissous, de la salinité, de la turbidité, des nutriments, du phytoplancton et de la chlorophylle *a*.

Pour réaliser le prélèvement, il faut armer la bouteille, la plonger à la profondeur souhaitée, la laisser se rincer quelques instants, par des légers mouvements de va et vient d'une trentaine de cm sans faire sortir la bouteille de l'eau, avant de la refermer à l'aide d'un messenger. Pour effectuer la mise en flacons dans de bonnes conditions, il est conseillé de disposer d'un porte-bouteille sur l'embarcation (Photo 4).

Lors du trajet entre les lieux de surveillance, la bouteille de prélèvement doit être entreposée dans un endroit propre, **jamais directement sur le pont** (il est possible d'utiliser une caisse nettoyée entre chaque sortie).



Photo 4 : Exemples de support de bouteille de prélèvement

***Afin d'avoir des mesures cohérentes sur toutes les stations récifales, les mesures y sont effectuées à basse mer (BM) +/-2h et si possible durant les marées de vives eaux.***

Lorsque les mesures des paramètres oxygène dissous, salinité et turbidité ne sont pas réalisées *in situ* directement dans la masse d'eau au moyen de sonde mono ou multiparamètre, elles doivent être réalisées sur un échantillon d'eau brute prélevé sur le lieu de surveillance à la profondeur requise par le protocole.

Les différents flacons nécessaires à l'ensemble des analyses sont remplis à partir de la bouteille de prélèvements de type Niskin. L'échantillonnage est effectué dès que la bouteille de prélèvements est à bord. L'ordre dans lequel sont soutirés les échantillons est important. Les échantillons destinés à la mesure des paramètres risquant d'évoluer rapidement sont soutirés en premier :

- l'oxygène dissous,
- les nutriments (ammonium en premier),
- la chlorophylle *a* et les analyses pigmentaires,
- le dénombrement de phytoplancton,
- la salinité,
- la turbidité.

## L'oxygène dissous

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Flacon verre d'environ 100 mL Tuyau souple ( $\varnothing_{\text{max}}$ : 4 mm) équipé si possible d'une pince de Mohr  <i>Si méthode manuelle :</i> Distributeur de réactifs à seringue Flacon de réactifs (R1 / R2)

Pour l'analyse de l'oxygène, les échantillons doivent être soutirés de la bouteille de prélèvement sans délai dès la remontée de la bouteille et avant tout autre échantillon.

Un tuyau souple transparent plongeant jusqu'au fond du flacon est adapté à la bouteille de prélèvement. Son diamètre intérieur ne doit pas excéder 4 mm afin qu'il ne se vidange pas spontanément lorsque l'écoulement est interrompu. Le tuyau souple est purgé afin qu'il n'y reste aucune bulle. Il est ensuite introduit jusqu'au fond du flacon. Il est inutile de rincer le flacon.

Le remplissage du flacon se fait en laissant couler l'eau, tout d'abord à faible débit (pinçage du tuyau, Figure 2), puis plus rapidement sans provoquer de fortes turbulences en laissant déborder au moins une fois le volume du flacon. Sans arrêter l'écoulement, le tuyau est remonté lentement jusqu'à ce que son extrémité soit à environ 1 cm sous la surface de l'eau puis l'écoulement est arrêté et le tuyau est retiré du flacon.

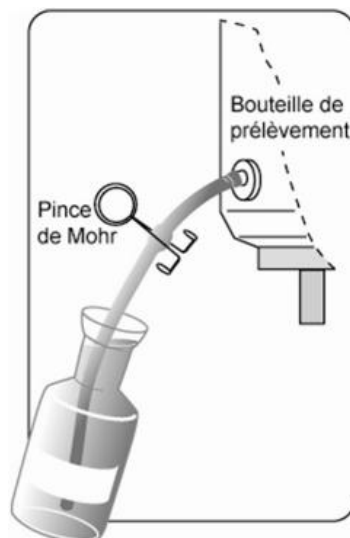


Figure 2 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement

Il faut ajouter immédiatement sous la surface, et sans bulle, les réactifs (Aminot / Kérouel 2004). Les volumes de réactifs doivent être relativement précis. Le flacon est ensuite bouché sans emprisonner d'air, puis agité pour disperser le précipité. Il faut ensuite laisser le précipité se rassembler dans les 2/3 inférieurs du flacon puis répéter l'agitation. La réaction entre le précipité et l'oxygène prend environ 1 min sous agitation continue.

Les flacons sont stockés de manière à éviter tout basculement des flacons (exemple : glacière prévue à cet usage précompartmentée), et tout contact des flacons avec air ambiant (exemple : glacière remplie d'eau de mer).

## Les nutriments

Equipement spécifique	Produits spécifiques / Flaconnage et petit matériel
/	<p>Flacon HDPE à col étroit avec capuchon fileté en polypropylène</p> <p>Gants à usage unique non poudrés</p> <p>Pré-filtres montés sur des supports de type Swinnex</p> <p><i>Si Silicate filtré sur le terrain :</i></p> <p>Filtre type minisart de porosité 0.22 µm en acétate de cellulose + seringue</p> <p><i>Si Silicate envoyé en métropole non pasteurisé :</i></p> <p>Flacon stérile</p> <p><i>Si Ammonium par méthode manuelle :</i></p> <p>Distributeur de réactifs (R1 / R2) adapté directement sur le flacon de réactifs, maintenu dans un portoir adéquat</p> <p>Ou tube « individuel » de réactifs (1 tube R1 + 1 tube R2 par échantillon)</p>

Pour les échantillons de nutriments, la pré-filtration est destinée à éliminer une partie aussi importante que possible du matériel particulaire pour diminuer les risques d'altérations des concentrations. L'utilisation d'une membrane de 10 µm de porosité est un bon compromis entre le taux d'élimination du phytoplancton et des autres particules, la vitesse d'écoulement et la fréquence de remplacement de la membrane filtrante dans les eaux côtières.

En eau océanique, on peut concevoir que cette porosité soit trop élevée compte tenu de la présence d'une forte proportion de planctons de très petite taille (picoplancton : 0.2 à 2µm). Au contraire dans des eaux très chargées en matière en suspension, des difficultés peuvent être rencontrées du fait d'un colmatage rapide des filtres. La taille des pores de la membrane peut donc être adaptée à la zone d'étude dans une fourchette comprise entre 10 et 200 µm (plus l'eau est chargée en particules, plus la taille des pores peut être grande).

Le port de gants à usage unique non poudrés est obligatoire pour toutes les opérations liées aux prélèvements de nutriments.

**Avant de partir sur le terrain**, il convient de préparer un sachet plastique à ZIP par point contenant :

- un système de pré-filtration : support de type SWINNEX avec membrane de porosité adaptée et équipé d'un embout de raccordement à la bouteille,
- un filtre Minisart avec sa seringue.

**Sur le terrain**, l'eau est échantillonnée "en ligne" en veillant à ce que l'embout de sortie d'eau du système de pré-filtration ne touche pas les parois intérieures des flacons :

- Positionner la bouteille sur le support de prélèvement (le cas échéant).
- Monter le Swinnex muni de sa membrane (pré-filtre) sur la bouteille de prélèvement.
- Ouvrir la prise d'air de la bouteille.
- Rincer les systèmes de pré-filtration en laissant s'écouler au moins 50 mL d'eau.
- Remplir les flacons de nutriments pour  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$  et  $\text{PO}_4$ , après avoir rincé les flacons et les bouchons 3 fois avec l'eau pré-filtrée de la bouteille. Il est possible d'utiliser une seringue préalablement rincée avec de l'eau préfiltrée pour remplir les flacons.

Pour le flacon de silicate (la seringue peut être remplie directement à la bouteille), rincer la seringue puis monter le filtre sur la seringue. Remplir la seringue puis rincer le filtre en faisant couler quelques mL d'eau de mer. Remplir le flacon de  $\text{Si(OH)}_4$  après avoir rincé le flacon et le bouchon 3 fois avec l'eau filtrée de la bouteille. S'il est impossible de filtrer/pré-filtrer sur le terrain, il est possible d'échantillonner dans un flacon prévu à cet effet et la filtration sera effectuée au laboratoire (cf. §5.4.1).

- Remplir le flacon sans dépasser les  $\frac{3}{4}$  de la capacité et reboucher aussitôt fermement.
- Ajouter les réactifs, le cas échéant (par exemple, ammonium en méthode manuelle si l'échantillon ne peut être congelé).
- Stocker les échantillons debout à l'obscurité et au frais dans la glacière.
- Vider la bouteille et la replacer fermée dans son bac de stockage (elle ne doit pas être posée sur le pont).

**Au retour du terrain**, le système de pré-filtration et la seringue sont rincés à l'eau déminéralisée puis entreposés dans un endroit exempt de toutes sources de contaminations.

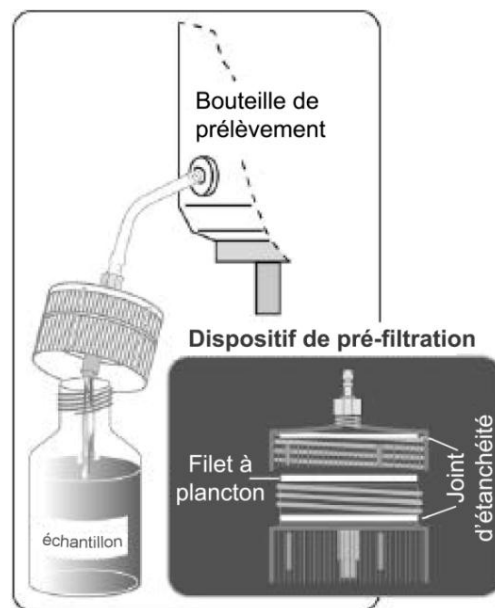


Figure 3 : Dispositif de pré-filtration adaptable directement à la sortie de la bouteille de prélèvement

### La chlorophylle *a*

La chlorophylle *a* est échantillonnée à partir de l'eau brute de la bouteille de prélèvement.

Un flacon d'un volume de 1 L est rempli. Ce flacon est conservé au frais dans la glacière et à l'abri de la lumière.

La chlorophylle *a* peut être filtrée sans attendre le retour au laboratoire conformément au §5.4.3.

### Les échantillons pour analyse pigmentaire

L'eau utilisée pour les analyses pigmentaires est échantillonnée à partir de l'eau brute de la bouteille de prélèvement.

Un flacon d'un volume de 2 L est rempli. Ce flacon est conservé au frais dans la glacière et à l'abri de la lumière.

La filtration peut être réalisée sans attendre le retour au laboratoire conformément au §5.4.4.

### Les échantillons pour le dénombrement de phytoplancton

#### Pour l'analyse quantitative du phytoplancton

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Compte-tenu de la faible quantité de phytoplancton dans les masses d'eau : le flacon doit être au minimum de 1L si l'analyse est faite par fluorimétrie. Si l'analyse est réalisée par spectrophotométrie, le volume devra être augmenté.

Le phytoplancton est échantillonné à partir de l'eau brute de la bouteille de prélèvement puis la quantité nécessaire de fixateur est ajoutée. Le flacon est conservé au frais dans la glacière et à l'abri de la lumière.

Compte-tenu de la présence probable de coccolithophoridés, il convient que le fixateur soit du lugol "neutre" ou "basique". Si un stockage de longue durée est envisagé, les échantillons doivent être post-fixés en ajoutant quelques gouttes de solution de formaldéhyde tamponnée (attention il ne faut pas dépasser 5% de formaldéhyde sur le volume final d'échantillon). L'utilisation d'une solution de lugol préparée au laboratoire est préférable à celle d'une solution commerciale compte-tenu du retour d'expériences de certains laboratoires.

Les échantillons peuvent également être directement fixés au formol neutralisé, concentration finale environ 5%.

#### Pour l'analyse quantitative du nano et picophytoplancton

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
Micropipette et cônes adaptés	Tube spécifique pour analyse par cytométrie de flux
Bonbonne d'azote liquide	Fixateur

Le phytoplancton est échantillonné à partir de l'eau brute de la bouteille de prélèvement.



Sur chaque lieu, 3 prises d'échantillons (triplicat) d'environ 1 mL sont réalisées grâce à une micropipette. Si les tubes ne contenaient pas au préalable le fixateur, ce dernier doit être ajouté. Les échantillons sont stockés dans de l'azote liquide jusqu'au retour au lieu de stockage avant analyse où ils sont mis dans un congélateur à -80°C.

Cette méthodologie est à adapter et à compléter en fonction des consignes fournies par le laboratoire d'analyses (nature et conditions de stockage du fixateur, ...).

Il est préférable d'utiliser le paraformaldéhyde au glutaraldéhyde.

### La salinité

L'eau doit être directement prise à la sortie de la bouteille de prélèvement (après l'oxygène dissous) en rinçant deux à trois fois le flacon et le bouchon avec l'eau à analyser. Le flacon est rempli en laissant impérativement quelques millilitres d'air en prévision de toute dilatation ultérieure puis bouché aussitôt.

### La turbidité

Le problème majeur pour la mesure de la turbidité est le risque de décantation.

Si l'échantillon est réalisé après l'échantillonnage de l'oxygène dissous et de la salinité, il faut réhomogénéiser par quelques retournements de la bouteille de prélèvement. Tout flacon peut convenir.

Les échantillons sont conservés au frais et à l'abri de la lumière avant l'analyse au laboratoire effectué le jour même.

---

***L'intérieur de la bouteille de prélèvement ne doit pas être rincé à l'eau du robinet mais peut l'être avec de l'eau déminéralisée. L'extérieur de la bouteille peut être rincé à l'eau du robinet à condition que la bouteille soit bien fermée (bouchons et robinet). La bouteille doit être stockée fermée.***

---

### 5.3.3. Prélèvement d'un l'échantillon de phytoplancton via un trait de filet

Les échantillons qualitatifs sont prélevés à l'aide d'un filet à plancton de maille entre 20 et 50 µm (seules les espèces de grandes tailles sont ciblées, les espèces de petites tailles sont échantillonnées pour être analysées par cytométrie en flux) et de 30 à 50 cm d'ouverture dont l'état a été vérifié (propreté, état ...) pendant une dizaine de minutes (les caractéristiques du filet et la durée du trait sont à noter sur la fiche terrain).

Le filet à plancton est descendu dans la zone des « 0 / -1m ». Une faible vitesse de traction doit être maintenue 1 m/s.

A la fin du trait de filet, le filet est rincé à l'eau de mer afin que toute la matière soit recueillie dans le collecteur à son extrémité. Puis le contenu du collecteur est transféré dans le flacon de stockage en veillant à transférer le maximum de matière en utilisant un peu d'eau de mer pour rincer le collecteur.

Compte-tenu de la présence probable de coccolithophoridés, il convient que le fixateur soit du lugol "neutre" ou "basique". Si un stockage de longue durée est envisagé, les échantillons doivent être post-fixés en ajoutant quelques gouttes de solution de formaldéhyde tamponnée (attention il ne faut pas dépasser 5% de formaldéhyde sur le volume final d'échantillon).

L'utilisation d'une solution de lugol préparé au laboratoire est préférable à celle d'une solution commerciale compte-tenu du retour d'expériences de certains laboratoires.

Les échantillons peuvent également être directement fixés au formol neutralisé, concentration finale environ 5%.

Le filet doit être rincé minutieusement après chaque trait de filet.

## 5.4. Pré-traitement des échantillons

*Les échantillons doivent être livrés au laboratoire le plus rapidement possible après leur prélèvement dans une enceinte réfrigérée. Toute exposition de cette enceinte au soleil doit être évitée. Les échantillons de nutriments et de chlorophylle a doivent être traités et stockés dans un délai maximal de 10 heures après leur prélèvement.*

### 5.4.1. Filtration du silicate

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Réfrigérateur Système fournissant une eau déminéralisée	Flacon HDPE à col étroit avec capuchon fileté en polypropylène <i>Si Silicate envoyé en métropole non pasteurisé</i> : Flacon stérile Gants à usage unique non poudrés Pissette d'eau déminéralisée Filtre type minisart de porosité 0.22 µm en acétate de cellulose + seringue

Si l'échantillon n'a pas été filtré sur Minisart sur le terrain, il est préférable de filtrer l'échantillon d'eau sur membrane d'acétate de cellulose dès le retour au laboratoire. Cette filtration peut toutefois être reportée de 1 ou 2 jours.

La filtration s'effectue muni de gants à usage unique non poudrés et à l'aide d'une seringue jetable munie d'un filtre en acétate de cellulose Minisart NML.

1. Rincer de la seringue jetable avec 5 mL d'échantillon.
2. Jeter l'eau.
3. Fixer le filtre sur la seringue puis le rincer avec environ 5 mL d'échantillon.
4. Rincer 3 fois le flacon et son bouchon avec quelques ml d'eau filtrée.
5. Remplir le flacon au  $\frac{3}{4}$  puis le boucher.
6. Rincer la seringue avec de l'eau déminéralisée.
7. Refaire les opérations 1) à 6) pour tous les échantillons.
8. Placer le(s) flacon(s) debout au réfrigérateur.
9. Rincer la seringue avec de l'eau déminéralisée et la mettre à sécher à l'abri de la poussière.

La pression exercée ne doit pas être trop forte pour ne pas faire éclater les cellules et donc surestimer la concentration en silicate (liquide intra-cellulaire).

### 5.4.2. Pasteurisation des échantillons de nutriments

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Etuve Thermomètre	

La pasteurisation des échantillons est envisageable à condition de respecter les prescriptions de la publication "Pasteurization: A reliable method for preservation of nutrient in seawater samples for inter-laboratory and field applications" (Daniel et *al.*, 2012). Cette information doit apparaître dans le commentaire sur le résultat.

### 5.4.3. Filtration des échantillons de la chlorophylle *a*

#### Dans les MECs uniquement

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Rampe de filtration	Eprouvette adaptée au volume
Pompe avec manomètre	Tulipe de filtration avec embout verre fritté
Système fournissant une eau déminéralisée	1 ou 2 pinces plates
Congélateur	Filtre en microfibre de verre GF/F Ø 47 ou 25 mm
	Système de filtration avec pompe manuelle
	Pisette d'eau déminéralisée
	Pisette d'eau de mer filtrée
	Tubes du type « hémolyse » avec bouchon
	Papier d'aluminium
	Marqueur

Les échantillons de chlorophylle *a* sont filtrés dès leur arrivée au laboratoire (ou sur le terrain) car il ne faut pas que le délai entre le prélèvement et la filtration soit supérieur à 5 heures (au maximum 10 heures).

Le volume à filtrer est dépendant : de la zone étudiée, de la saison, de la technique analytique utilisée (spectrophotométrie ou fluorimétrie). Pour que l'extraction soit complète, la quantité de chlorophylle *a* déposée sur le filtre ne doit pas excéder environ 10 µg. Pour La Réunion, le volume est de 1 L minimum si l'analyse se fait par fluorimétrie.

Il est nécessaire de relever le volume exactement filtré pour le calcul ultérieur de la concentration. La filtration des échantillons de chlorophylle *a* doit être effectuée dans la pénombre. Le vide ne doit pas dépasser 0,2 bar (= 0,2 atm = 0,02 MPa).

1. Monter le système de filtration puis positionner le filtre et la tulipe.
2. Homogénéiser le flacon d'eau filtrée par 5 à 10 retournements.
3. Mesurer le volume désiré dans une éprouvette.
4. Verser l'échantillon dans la tulipe.
5. Mettre le système de vide en route : ne pas dépasser les 200 mbar (0.2 bar).
6. Une fois l'échantillon entièrement passé, rincer l'éprouvette avec l'eau de mer fraîchement filtrée (voir préparation ci-dessous) et verser l'eau de rinçage dans la tulipe avant que le filtre ne vienne à sec.

7. Juste avant que le filtre ne vienne à sec, rincer les parois de la tulipe avec un peu d'eau de mer fraîchement filtrée.
8. Démonter la tulipe.
9. Après assèchement du filtre, laisser sous vide quelques instants pour éliminer le maximum d'eau du filtre.
10. Eliminer à la pince l'éventuel zooplancton visible à l'œil nu ainsi que les débris.
11. Tout en maintenant le vide, replier le filtre à l'aide des pinces sans toucher les matières filtrées.
12. Mettre le filtre dans un tube type "hémolyse" identifié puis le placer dans du papier d'aluminium, identifié le papier avec la date de prélèvement.
13. Mettre le tube à l'obscurité.
14. Refaire les opérations 2) à 13) pour tous les échantillons.
15. Placer le tout au congélateur.

#### 5.4.4. Filtration des échantillons pour analyse pigmentaire

##### 2 stations "Large Ermitage" (référence) et "Baie St Paul".

Les échantillons sont filtrés comme les échantillons pour analyse de chlorophylle *a*. Pour la Réunion, le volume filtré est de 2 L minimum.

Le diamètre du filtre à utiliser est préconisé par le laboratoire d'analyses. Ainsi les premiers résultats ont montré que l'usage d'un filtre de diamètre 47 mm nécessitait que le volume filtré soit de 4 L.

Sur le terrain, les filtres sont conservés dans une glacière remplie de pain de glace ou plongés dans de l'azote liquide. A l'arrivée sur le lieu de conservation, les filtres sont placés dans un congélateur à -80°C (après avoir été plongés dans de l'azote liquide, si cela n'avait pas été fait sur le terrain).

#### 5.4.5. Dénombrement par microscopie

##### 4 stations "Large Ermitage" (référence), "Baie St Paul", Sainte-Marie et Grande Anse.

Pour une conservation longue, il est préférable de transférer l'échantillon dans un flacon en verre et de vérifier la coloration (ajouter du lugol si nécessaire).

Si le stockage ne peut pas se faire à l'obscurité, les flacons utilisés ne devront pas laisser passer la lumière mais devront être suffisamment transparents afin de faciliter le contrôle de la décoloration (flacon en verre brun).

#### 5.4.6. Dénombrement par cytométrie en flux

##### 4 stations "Large Ermitage" (référence), "Baie St Paul", Sainte-Marie et Grande Anse.

Le transfert vers le laboratoire doit se faire en transport "express" dans un colis thermostaté et rempli de carboglace en quantité suffisante pour le délai de transfert.

## 5.5. Conservation des échantillons

Sur le terrain et jusqu'au retour au lieu de conservation, les échantillons sont stockés conformément aux dispositions prévues aux paragraphes précédents et résumées ci-dessous.

Tableau 12 : Conditions de stockage entre le prélèvement et le lieu de conservation avant analyse

Paramètre	Enceinte de stockage	Délai maximum
<b>Turbidité</b> <b>Salinité</b> <b>Oxygène dissous</b>	Frais et à l'abri de la lumière	10h pour la turbidité la journée pour l'oxygène dissous
<b>Phytoplancton fixé</b> <i>Microscopie</i>	Température ambiante à l'obscurité Ou au frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible
<b>Phytoplancton</b> <i>Cytométrie en flux</i>	Azote liquide	
<b>Chlorophylle a</b> <b>Analyse pigmentaire</b>	Frais et à l'abri de la lumière	De préférence 5h (au maximum 10h)
<b>Nutriments</b>	Frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible

Le plus rapidement possible après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés dans les conditions suivantes jusqu'à analyse à La Réunion ou transfert vers un laboratoire d'analyses de métropole (ou européen).

Les prélèvements "hydrologie" doivent être conservés dans une enceinte réfrigérée qui ne doit pas être utilisée pour d'autres usages (matière vivante, réactif, ...).

Tableau 13 : Conditions de stockage sur le lieu de conservation avant analyse

Paramètre	Enceinte de stockage	Délai maximum
<b>Turbidité</b>	Frais et à l'abri de la lumière	10h
	Réfrigérateur	Quelques jours et à condition que des tests de conservation aient été faits dans les conditions opératoires
<b>Salinité</b>	Réfrigérateur	Quelques mois
<b>Oxygène dissous</b>	Frais et à l'abri de la lumière	1 journée
<b>Phytoplancton fixé</b> <i>Microscopie</i>	si analysé dans la semaine : température ambiante à l'obscurité si conservé au-delà d'une semaine : endroit obscur et frais (en dessous de 20°C mais protégé du givre)	12 mois mais à surveiller régulièrement et en cas de décoloration ajouter du fixateur Pour le stockage à long terme des échantillons fixés au Lugol, une solution tamponnée de formaldéhyde doit être ajouté.

Paramètre	Enceinte de stockage	Délai maximum
<b>Phytoplancton</b> <i>Cytométrie en flux</i>	Congélateur -80°C	Quelques mois
<b>Chlorophylle <math>\alpha</math></b> <b>avant filtration</b>	Réfrigérateur	De préférence 5h (au maximum 10h), entre le prélèvement et la congélation
<b>Chlorophylle <math>\alpha</math></b> <b>filtrée</b>	Congélateur : -20 / -25 °C	1 mois
	Congélateur : -80°C	6 mois
	Azote liquide : -196°C	1 an
<b>Analyse pigmentaire</b>	Congélateur : -80°C	1 an
<b>Phosphate</b> <b>Nitrate</b> <b>Nitrite</b> <b>Ammonium</b>	Congélateur Température minimale -23°C, optimale -25°C	Quelques mois
<b>Silicate non traité</b>	Réfrigérateur	1 à 2 jours si uniquement pré-filtrés
<b>Silicate filtré</b>	Réfrigérateur 2°C et 6°C	2 mois
<b>Nutriment pasteurisé</b>	Température ambiante	Quelques semaines

Si les échantillons ne sont pas conservés au laboratoire d'analyses, le transfert des échantillons doit se faire vers celui-ci de façon à limiter au maximum la durée du transport et en respectant les prescriptions (température, ...) du Tableau 13.

Pour les échantillons devant être conservés à -80°C, le transport doit se faire en utilisant un colis avec carboglace et en privilégiant les transporteurs garantissant un ajout de carboglace en cours de transport si cela le nécessite (exemple : délai d'acheminement plus long que prévu).

## 5.6. Assurance qualité

Il est primordial d'établir une traçabilité et une transparence dans la mise en œuvre du suivi.

Un manuel terrain doit être édité à chaque campagne d'échantillonnage par l'opérateur.

Il décrit l'ensemble des actions liées :

- à la préparation du terrain y compris le suivi métrologique des équipements utilisés et le conditionnement du flaconnage,
- aux prélèvements et mesures *in-situ*,
- au pré-traitement et stockage des échantillons,
- aux transferts des échantillons vers le laboratoire d'analyses (le cas échéant).

Il rassemble l'ensemble des fiches de mer associées ainsi que les rapports de confirmation métrologique des équipements utilisés.

Tableau 14: Exigences et bonnes pratiques

Exigences particulières / Précisions en complément des bonnes pratiques en vigueur dans le domaine des prélèvements en milieu marin	
<b>Document</b>	Les éléments de traçabilité, y compris ceux concernant la métrologie des équipements, doivent être archivés sans limite de temps et tenus à disposition des équipes en charge de la qualification/valorisation des données.
<b>Personnel</b>	Les personnels intervenant doivent être habilités aux prélèvements.
<b>Installation / Conditions ambiantes</b>	<p><i>Dans le contexte tropical, une attention toute particulière doit être portée au maintien du froid dans la glacière de conservation et de transport des échantillons jusqu'au lieu de pré-traitement / conservation.</i></p> <p>Les conditions de stockage doivent respecter les exigences spécifiées au paragraphe 5.5 et faire l'objet d'un enregistrement.</p> <p>Le mode de conditionnement et de transfert des échantillons vers un laboratoire d'analyse accrédité en métropole doit être validé par ce même laboratoire. Tout doit être mis en œuvre pour éviter tout risque de biais analytique.</p>
<b>Équipement</b>	<p>Les appareils utilisés (sondes <i>in situ</i> ou appareils d'analyse) doivent faire l'objet de contrôles réguliers des grandeurs fondamentales ainsi qu'un raccordement régulier aux étalons existants (utilisation de matériaux certifiés de référence ou étalons internes raccordés).</p> <p>Cette démarche doit intégrer des procédures de confirmation métrologiques, de suivi dans le temps ainsi que des opérations de maintenance.</p>
<b>Produit</b>	Il est impératif de suivre les exigences qualité pour la préparation du flaconnage de conditionnement de chaque paramètre.
<b>Méthode</b>	Les méthodes à utiliser sont celles précisées aux différents sous-paragraphe 5. Elles sont issues de documents de référence reconnus dont l'Aminot & Kérouel 2004.
<b>Observation/ Anomalie</b>	Toute observation/anomalie doit être tracée (cahier de terrain/fiche de mer : un exemple est donné en annexe) pour être rapportée dans le cadre de la bancarisation dans Quadrige <sup>2</sup> .

Lors des opérations de prélèvements, les paramètres suivants doivent être enregistrés :

**Tableau 15 : Paramètres à enregistrer lors de l'échantillonnage**

<b>Métadonnées associées au lieu de surveillance</b>	Code masse d'eau DCE
	Mnémonique (et libellé) du lieu de surveillance
	Latitude et Longitude (Degré décimaux), datum (ex: GPS non défini), système (ex: WGS84), de la station
	Bathymétrie (mètres)
	Observations : conditions hydrodynamiques (houle, courant ...), météo (vent, ensoleillement, ...), accessibilité, ...
<b>Métadonnées associées au passage<sup>1</sup> et au prélèvement</b>	Code prélèvement : lieu-paramètre-échantillon (le cas échéant : si utilisation d'un code)
	Paramètre : température, salinité, oxygène dissous, turbidité, nutriments, chlorophylle <i>a</i> , ...
	Date du prélèvement : jj/mm/aaaa
	Heure du prélèvement : hh:mm
	Sonde (profondeur observée au sondeur)
	Noms/coordonnées des personnes et du navire effectuant le prélèvement
	Matériel (engin) et Méthodes
	Niveau de prélèvement/immersion (surface OU fond OU surface/fond pour les hauteurs d'eau inférieures à 3 m)
	Volume prélevé
Observations	

<sup>1</sup> Passage = arrêt sur un lieu de surveillance à une date et une heure donnée



## 6. ANALYSE DES ECHANTILLONS

*Les analyses seront conformes aux méthodes d'Aminot et Kérouel (2004 et/ou 2007) et seront réalisées de préférence dans un laboratoire accrédité et agréé.*

*La liste des laboratoires accrédités est régulièrement mise à jour et est disponible à cette adresse : <http://www.cofrac.fr/>*

*La liste des laboratoires agréés est régulièrement mise à jour et est disponible à cette adresse : <http://www.labeau.ecologie.gouv.fr/localisation/localisation.php>.*

### 6.1. Mesure de l'oxygène dissous

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour l'oxygène dissous sont regroupées dans le Tableau 16 ci-dessous.

Tableau 16 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de quantification	Précision
Oxygène dissous	Méthode iodométrique Aminot et Kérouel 2004	0.5 mg/L	< 5 mg/L +/- 0.1 mg/ L > 5 mg/ L +/- 0.5 mg/ L

### 6.2. Mesure de la salinité

La méthode d'analyse recommandée est la conductimétrie avec un salinomètre de laboratoire (Aminot et Kérouel, 2004 et 2007).

### 6.3. Mesure de la turbidité

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour la turbidité sont regroupées dans le Tableau 17 ci-dessous.

Tableau 17 : Exigences analytiques pour la turbidité

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de quantification	Précision
Turbidité	Norme ISO 7027	0.3 NTU	+/- 10%

### 6.4. Analyse des nutriments

Les méthodes d'analyses recommandées et les exigences analytiques pour chacun des différents nutriments sont regroupées dans le Tableau 18 ci-dessous.

Tableau 18: Exigences analytiques pour les nutriments [CODE SANDRE]

Paramètre	Méthode d'analyse	Limite de Quantification *	Précision **
Nitrite	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [557]	0,03 µmol/ L	Incertitude élargie minimale de 60% au niveau « LQ »  Incertitude élargie ≤ 50% au niveau « 3 x LQ »
	Spectrophotométrie flux 2007 Aminot et Kérouel 2007 [754]		
Nitrite+nitrate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [567]	0,2 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [755]		
Ammonium	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [554]	0,05 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [764]		
Phosphate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [563]	0,04 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [762]		
Silicate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [560]	0,4 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [763]		

\* Avis relatif aux limites de quantification des couples « paramètre-matrice » de l'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques du 21 Janvier 2012 / NOR : DEVL1131786V

\*\* Arrêté du 27 Octobre 2011 portant modalités d'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et les milieux aquatiques au titre du code de l'environnement / NOR : DEVL1128052A

## 6.5. Analyse de la chlorophylle a et des phéopigments

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour la chlorophylle a sont regroupées dans le Tableau 19 ci-dessous.

Tableau 19 : Exigences analytiques pour la chlorophylle a [CODE SANDRE]

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de Quantification *	Précision **
Chlorophylle a	Fluorimétrie Aminot et Kérouel 2004 [530]	0.5 µg/L	Incertitude élargie minimale de 60% au niveau « LQ »  Incertitude élargie ≤ 50% au niveau « 3 x LQ »

\* Avis relatif aux limites de quantification des couples « paramètre-matrice » de l'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques du 21 Janvier 2012 / NOR : DEVL1131786V

\*\* Arrêté du 27 Octobre 2011 portant modalités d'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et les milieux aquatiques au titre du code de l'environnement / NOR : DEVL1128052A

## 6.6. Analyse pigmentaire

Le choix de la méthode d'analyse et du laboratoire d'analyses se fait en accord avec la coordination "hydrologie" Ifremer.

## 6.7. Dénombrement du phytoplancton

Lorsqu'il y a 2 possibilités pour le dénombrement d'une taille de phytoplancton, la méthode **recommandée** est indiquée en **gras** dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Méthode de dénombrements du phytoplancton suivant sa taille

	Microscopie Inversée	Cytométrie en flux
<b>Microphytoplancton</b>	<b>X</b>	
<b>Nanophytoplancton</b>	<b>X</b>	X
<b>Picophytoplancton</b>		<b>X</b>

### 6.7.1. Microscopie inversée

La méthode de dénombrement recommandée et les exigences analytiques sont regroupées dans le Tableau 21 ci-dessous.

Tableau 21 : Exigences analytiques pour le phytoplancton

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de Quantification	Précision
<b>Dénombrement</b>	<p>NF EN 15972 Qualité de l'eau - Guide pour l'étude quantitative et qualitative du phytoplancton marin</p> <p>EN 15204 Qualité de l'eau – Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl)</p>	/	/

### 6.7.2. Cytométrie en flux

La méthode de dénombrement est la cytométrie en flux (Gregori et *al.*, 2011) ou une méthode équivalente.

## 6.8. Assurance qualité

Les analyses étant réalisées dans des laboratoires accrédités voire agréés, seulement quelques éléments d'assurance qualité sont précisés ci-dessous.

Tableau 22 : Exigences et bonnes pratiques

<b>Exigences particulières / Précisions en compléments des exigences d'accréditation/d'agrément</b>	
<b>Document</b>	Les éléments de traçabilité doivent être archivés sans limite de temps et tenus à disposition des équipes en charge de la qualification/valorisation des données.
<b>Personnel</b>	/
<b>Installation et conditions ambiantes</b>	Les conditions de stockage doivent respecter les exigences spécifiées au paragraphe 5.5 et faire l'objet d'un enregistrement. Le mode de conditionnement et de transfert des échantillonneurs vers un laboratoire d'analyse accrédité en métropole doit être validé par ce même laboratoire. Tout doit être mis en œuvre pour éviter tout risque de biais analytique.
<b>Equipement</b>	/
<b>Produit</b>	Il est impératif de suivre les exigences qualité pour la préparation du flaconnage de conditionnement de chaque paramètre même si ce dernier est fourni par le laboratoire d'analyses.
<b>Méthode</b>	Les méthodes à utiliser sont celles précisées aux différents sous-paragraphe 6. Elles sont issues des documents de référence Aminot et Kérouel 2004 et 2007.
<b>Observation/Anomalie</b>	Toute observation/anomalie doit être tracée pour être rapportée dans le cadre de la bancarisation dans Quadrigé <sup>2</sup> .
<b>EIL</b>	Le laboratoire doit participer à des Essais Inter-Laboratoire pour la matrice « eau de mer » dans les gammes de concentrations rencontrées et avec la méthode utilisée.

## 7. BANCAIRISATION ET VALORISATION DES DONNEES

### 7.1. L'outil : Quadrigé<sup>2</sup>

Pour gérer les données de la surveillance du littoral, l'Ifremer a développé le système d'information Quadrigé<sup>2</sup>, qui associe à une base de données, une panoplie d'outils d'interprétation et d'élaboration de produits d'information. Quadrigé<sup>2</sup> constitue un élément du Système d'Information sur l'Eau (SIEau), et à ce titre, contribue aux travaux du Service d'Administration National des Données et Référentiels sur l'Eau (SANDRE).

Quadrigé<sup>2</sup> assure plusieurs fonctions qui le rendent indispensable :

- **la bancairisation des données élémentaires** de la surveillance, c'est à dire des résultats d'analyses de l'ensemble des réseaux de surveillance. Cette bancairisation est sécurisée, optimisée, encadrée et évolutive. Il s'agit, dans tous les sens du terme, d'une "banque", avec toute la rigueur de gestion que cela sous-entend,
- **l'interprétation et la valorisation** de la donnée. Dès lors que la donnée est bancairisée et qu'un niveau de qualité lui a été associé, elle devient disponible pour un grand nombre d'applications.

Dans les produits de diffusion/valorisation, on trouve :

- un outil de production d'**indicateurs** pour la DCE,
- un outil de mise à disposition des données pour le grand public via des interfaces cartographiques **SURVAL**, à partir des différents sites de l'Ifremer ou de ses partenaires,
- un outil de création de **bulletins**, qui étend et enrichit l'existant.

Au niveau national, Q<sup>2</sup> est aujourd'hui désigné par le Ministère en charge de l'Environnement comme le système d'information de référence pour les eaux littorales. A ce titre, il se doit d'alimenter le SIEau et ses outils, dont le Système d'Évaluation de l'État des Eaux de l'ONEMA (S3E), d'une façon régulière et normalisée. Afin de n'avoir qu'un référentiel unique au niveau national, toutes les données DCE-utiles (milieu marin) sont à bancairiser dans Q<sup>2</sup>.

La classification officielle de l'état des masses d'eau se fera par le S3E (alimenté par l'ensemble des bases de données liées à la DCE). Il est muni de deux applications informatiques : la **simulation** (mise au point de métriques, d'indices, règles) qui permet le lancement de calculs d'indicateurs et **l'évaluation** qui est une application destinée aux professionnels permettant d'obtenir les résultats de la simulation. C'est l'outil S3E qui sera utilisé dans le cadre du rapportage européen sur la DCE, d'où l'importance de bancairiser l'ensemble des données dans Q<sup>2</sup>.

## 7.2. Terminologie Quadrige<sup>2</sup>

La saisie des données passe par la compréhension du fonctionnement de Q<sup>2</sup> et l'utilisation de la terminologie adaptée.

### 7.2.1. Lieux de surveillance

#### *Lieu de surveillance*

*Lieu géographique où il est prévu de faire des observations, des mesures et/ou des prélèvements. Il est localisé de façon unique par son emprise cartographique (polygone, ligne ou point). Un lieu de mesure peut être utilisé par plusieurs programmes.*

Les lieux de surveillance correspondent aux stations suivies (coordonnées " théoriques " du point de suivi autour duquel sont effectués les prélèvements). Ils sont caractérisés par :

- **un mnémonique**, composé de 3 éléments,

n° de zone marine Q <sup>2</sup>	lettre indiquant la géométrie du lieu	n° d'ordre à l'intérieur de la zone marine
1 seule zone marine à La Réunion	P pour ponctuel S pour surfacique	
126	P	001

- **un libellé**, code station DCE,
- **des coordonnées fixes**, coordonnées théoriques du lieu sur lesquelles sont réalisés les prélèvements de chaque campagne.

### 7.2.2. Programme/Stratégie

#### *Programme*

*Désigne les activités qui sont à l'origine de la collecte d'un ensemble cohérent de données, que ce soit pour les réseaux de surveillance ou pour des études limitées dans le temps.*

Les données "phytoplancton" et "hydrologie" acquises à La Réunion vont être bancarisées dans le programme national REPHY de Q<sup>2</sup>. Les libellés et descriptions sont détaillés dans le Tableau 23.

#### *Stratégie*

*La stratégie regroupe l'ensemble des informations caractérisant les moyens et la manière d'acquérir les données associées au Programme (métadonnées).*

- la liste des lieux de surveillance suivis, avec leur période d'activité : date de début et de fin de suivi (date de fin par défaut pour les lieux en cours de suivi : 31/12/2020), fréquence de prélèvements et laboratoire effectuant les prélèvements,
- la liste des paramètres à mesurer sur chaque point de prélèvement, le support de ces mesures, les méthodes préconisées pour chacun de ces paramètres, ainsi que le laboratoire effectuant les analyses.

Tableau 23 : Récapitulatif du Programme et de la Stratégie Q<sup>2</sup> associés au réseau DCE " Physico-Chimique & Phytoplancton" à La Réunion

PROGRAMME - NATIONAL			STRATEGIE ASSOCIEE - REUNION	
CODE – Q <sup>2</sup>	LIBELLE – Q <sup>2</sup>	DESCRIPTION – Q <sup>2</sup>	LIBELLE – Q <sup>2</sup>	DESCRIPTION – Q <sup>2</sup>
REPHY	<b>REPHY</b> <b>Surveillance</b> <b>Phytoplancton</b> <b>et Physico-</b> <b>chimie</b>	Réseau national REPHY de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines. Partie Phytoplancton et Hydrologie	<b>Outre-Mer - La Réunion</b> – <i>suivi d'une information sur la période d'application de la stratégie</i>	RHLR : Réseau Hydrologique du Littoral Réunionnais (RCS DCE) sur la base du fascicule technique "Paramètres Physico-chimiques et phytoplancton" de <i>information sur la version du fascicule</i>

### 7.2.3. PSFMs

#### PSFM – Quadruplet

Un quadruplet est constitué de l'association de 4 éléments : Paramètre – Support – Fraction – Méthode. C'est ce que l'on appelle un PSFM. Le quadruplet définit les résultats d'analyse (que ce soient des résultats de mesure, des résultats sur taxon, ou des fichiers de mesure). L'unité de mesure est associée au PSFM lui-même, et non au résultat (il ne peut y avoir qu'une et une seule unité de mesure par quadruplet).

Les PSFMs sont les quadruplets sur lesquels sont saisis les résultats au sein de la base de données Q<sup>2</sup>. Ils sont indissociables au sein d'une stratégie.

- **Paramètre** : Un paramètre est une propriété du milieu ou d'un élément du milieu qui contribue à en apprécier les caractéristiques et/ou la qualité et/ou l'aptitude à des usages. Le paramètre se décline en deux types : quantitatif et qualitatif. Le type quantitatif se rapporte aux paramètres qui ont une infinité de résultats. Le type qualitatif se rapporte aux paramètres qui ne prennent qu'un nombre limité de valeurs prédéfinies pour chacun d'eux. Ces deux types sont mutuellement exclusifs. Un paramètre peut être taxinomique ou pas : s'il est taxinomique, il ne sera saisissable qu'en l'associant à un taxon (résultats de « dénombrement »). S'il ne l'est pas, il est associé à des résultats de mesure.

Le paramètre (défini par un code et un libellé) correspond à la métrique mesurée. Il est relié à un support, une fraction, une méthode et à une unité (e.g. %, g, unité...)

- **Support** : C'est l'un des matériaux constitutifs du prélèvement, sur lequel l'analyse ou le dénombrement va être fait. Cette notion est habituelle surtout pour les analyses de type chimique, mais elle est élargie ici de façon formelle à la biologie.

Pour le phytoplancton et l'hydrologie : "eau brute", à l'exception des nutriments pour lesquels le support est "eau filtrée".

- **Fraction** : Une fraction analysée est un composant du support, sur laquelle porte l'analyse.

Pour le phytoplancton et l'hydrologie, cette fraction est "sans objet".

- Méthode :** Les seules méthodes reconnues par le SANDRE sont les méthodes normalisées par l'AFNOR ou les méthodes largement reconnues comme celle du type "Rodier" ou du "STANDARD METHOD". Les méthodes Quadrige<sup>2</sup>, qu'elles soient reconnues par le SANDRE ou non, sont rassemblées dans une liste qui couvre tous les domaines pour lesquels il existe un paramètre.

Méthode employée pour mesurer le paramètre.

**Tableau 24 : Récapitulatif des PSFMs – Paramètres Physico-Chimiques et Phytoplancton de la DCE.**

Code paramètre <sup>1</sup>	Libellé paramètre	Engin de prélèvement ou de mesure <i>in-situ</i>	Support	Fraction	Méthode	Unité
TEMP	Température de l'eau	Sonde in situ (prélèvement)	Eau brute	Sans objet	Capteur de température in situ	°C
SALI	Salinité	Sonde in situ (prélèvement)	Eau brute	Sans objet	Capteur de conductivité in situ	/
		Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Capteur de conductivité dans échantillon	
OXYGENE	Oxygène dissous	Sonde in situ (prélèvement)	Eau brute	Sans objet	Capteur oxygène à membrane électrochimique mg/L	mg/L
		Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Titration Winkler - oxygène mL/L	
TURB-FNU	Turbidité	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Turbidimètre norme ISO 7027 dans échantillon Turbidimètre lumière blanche 90° dans échantillon	FNU
NH4	Ammonium	Bouteille niskin (échantillon)	Eau filtrée	Sans objet	Spectrophotométrie manuel 2004 - Ammonium	µM/L
PO4	Polyphosphates	Bouteille niskin (échantillon)	Eau filtrée	Sans objet	Spectrophotométrie manuel 2004 - Phosphate	µM/L
NO3+NO2	Somme des Nitrates + Nitrites	Bouteille niskin (échantillon)	Eau filtrée	Sans objet	Spectrophotométrie flux 2007 - Nitrite + nitrate	µM/L
SIOH	Silice	Bouteille niskin (échantillon)	Eau filtrée	Sans objet	Spectrophotométrie flux 2007 - Silicate	µM/L
NO2	Nitrites	Bouteille niskin (échantillon)	Eau filtrée	Sans objet	Spectrophotométrie flux 2007 - Nitrite	µM/L
CHLOROA	Chlorophylle a	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Phase particulaire >= 0.7 µm <sup>2</sup>	Fluorimétrie Chlorophylle	µg/L
PHEO	Pheopigments	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Phase particulaire >= 0.7 µm <sup>2</sup>	Fluorimétrie Chlorophylle	µg/L
FLORTOT	Flore Totale	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Comptage cellule au microscope - eau	/
FLORTOT	Flore Totale	Filet	Eau brute	Phase particulaire >= 0.35 µm <sup>3</sup>	Comptage cellule au microscope - eau	/



Code paramètre <sup>1</sup>	Libellé paramètre	Engin de prélèvement ou de mesure <i>in-situ</i>	Support	Fraction	Méthode	Unité
PICO-TOT-INF2	Picophytoplancton < 2µm	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
PICO-CYANO-TOT	Picophytoplancton < 2µm – Total cyanobactéries	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
PICO-CYA-PROCHLO	Picophytoplancton < 2µm - Cyanobactéries faible fluorescence - Prochlorococcus	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
PICO-CYA-SYNECHO	Picophytoplancton < 2µm - Cyanobactéries fluorescence intermédiaire et forte - Synechococcus	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
PICO-EUCARYOTE	Picophytoplancton < 2µm – Eucaryotes	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
NANO-TOT-SUP2	Nanophytoplancton total > 2µm	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
NANO-CYANOFIL	Nanophytoplancton > 2µm – Cyanobactéries filamenteuses	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L
NANO-EUCARYOTE	Nanophytoplancton > 2µm – Eucaryotes	Bouteille niskin (échantillon)	Eau brute	Sans objet	Cytométrie en flux (Gregori et al., 2001)	10.E+6 cellules/L

<sup>1</sup> Les référentiels concernant les analyses pigmentaires sont en cours de définition pour codification dans le SANDRE.

<sup>2</sup> A adapter en fonction de la porosité du filtre utilisé (GF/F = 0.7 µm)

<sup>3</sup> A adapter en fonction de la taille des mailles du filet à plancton (>= 0.35 µm, taille préconisée)

Certains paramètres peuvent être mesurés par différentes méthodes, il s'agira de le préciser au sein des métadonnées, en rattachant le code Sandre qui lui est associé.

#### 7.2.4. Passages/Prélèvements/Echantillons

##### Passage

*Ensemble d'opérations réalisées pour un ou plusieurs programmes sur un lieu de surveillance à un moment donné (date et heure de début et de fin). La durée du passage peut-être variable. Les passages sont communément appelés "stations de prélèvement" (la notion de station regroupe en général le lieu et le passage).*

C'est au niveau du passage que sont renseignés les éléments date, lieu de surveillance, les coordonnées réelles du passage (si différentes des coordonnées théoriques du lieu), la sonde (profondeur sous le bateau), l'habitat et les commentaires associés. Le service saisisseur est renseigné automatiquement par le système.

##### Prélèvement

*Partie représentative du milieu en un endroit donné, et isolée pour permettre son échantillonnage. Cette définition théorique recouvre en fait des réalités différentes selon les domaines d'activité. De façon générale, le prélèvement résulte de la mise en œuvre fructueuse d'un et d'un seul engin de prélèvement. Comme un engin peut comporter plusieurs niveaux simultanés de prélèvement (par exemple une palanquée de bouteilles ou une carotte de sédiment), pour un même passage, il y a autant de prélèvements que d'engins - niveaux utilisés lors du passage.*

C'est au niveau du prélèvement, que sont renseignés l'heure, l'engin de prélèvement, la taille du prélèvement, le niveau et l'immersion, le préleveur, le numéro de répliquat (mnémonique du prélèvement) et les commentaires associés.

### **Echantillon**

*Partie représentative d'un et d'un seul des supports d'analyse disponibles dans un prélèvement, partie qui est recueillie pour analyse ou dénombrement. Lorsque plusieurs paramètres doivent être mesurés sur un prélèvement, il peut être nécessaire de partitionner l'échantillon en plusieurs conditionnements.*

Les mesures *in situ* sont saisies au niveau "prélèvement" dans Quadrigé<sup>2</sup> alors que les mesures effectuées au laboratoire sur un échantillon d'eau (ex : nutriments) sont saisies au niveau "échantillon".

## **7.3. Intégration des données dans Quadrigé<sup>2</sup>**

Il existe 2 manières d'intégrer les données de la surveillance dans la base de données Quadrigé<sup>2</sup>.

- La première, privilégiée en métropole car l'Ifremer est également l'opérateur des réseaux de surveillance, consiste à **saisir directement les résultats via l'application Quadrigé<sup>2</sup>** préalablement installée sur un poste de travail de type PC. Au lancement, l'application se connecte en direct sur la base de données et après avoir renseigné l'ensemble des métadonnées associées aux campagnes d'échantillonnage, l'opérateur saisisseur entre un à un les résultats obtenus pour chaque paramètre. Une fois les données intégrées à la Base Q<sup>2</sup>, une série de procédures de contrôle et de validation vont pouvoir être mises en œuvre par l'opérateur saisisseur, préalable incontournable pour que la donnée soit exploitable et valorisable pour le maître d'ouvrage du réseau. A un stade ultérieur (qui ne se fait pas encore en temps réel, mais qui doit y tendre à court terme), la donnée est qualifiée, avec un niveau de qualité associé (bon, douteux ou faux).
- La saisie directe dans Quadrigé<sup>2</sup> peut présenter quelques contraintes (essentiellement liées à la stabilité de la connexion réseau et au temps de réponse entre le poste de saisie local et la base de données centrale située en métropole). Pour s'affranchir de ces difficultés, il est proposé de s'appuyer sur des masques de saisie, déconnectés de Quadrigé<sup>2</sup>, même s'ils ne permettent pas les mêmes contrôles qualité que dans l'application Quadrigé<sup>2</sup> (respect des stratégies, règles de contrôle, ...). L'outil QUADRILABO s'appuie sur un **masque de saisie intermédiaire (type Excel©) permettant un formatage des données standardisé (type EDILABO) et normalisé (reposant sur les référentiels SANDRE)**.

L'objectif est de permettre une reprise semi-automatisée des données par Quadrigé<sup>2</sup> via un script. Les phases de contrôle et de validation sont réalisées sous la responsabilité du responsable de l'acquisition des données en amont de l'intégration des données dans Quadrigé<sup>2</sup>.

Le masque de saisie QUADRILABO (Duval et *al.*, 2014) et la notice associée sont disponibles sur le site de la cellule d'administration Quadrigé<sup>2</sup> <sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Site de la cellule d'administration Quadrigé<sup>2</sup> : [http://wwz.ifremer.fr/quadrigé2\\_support](http://wwz.ifremer.fr/quadrigé2_support)  
Rubrique : Documentation / Consignes thématiques aux utilisateurs / Océan Indien



## 8. SYNTHÈSE DES DONNÉES

Le RCS "Physico-chimie et Phytoplancton" contribue à l'évaluation des éléments biologiques et physico-chimiques de l'état écologique (cf. § 1).

Tableau 25 : Paramètres du RCS "Physico-chimie et Phytoplancton"

Elément	RCS	Paramètre
Biologique	Physico-chimie et phytoplancton	<i>Biomasse du phytoplancton :</i> Chlorophylle <i>a</i> Analyse pigmentaire
		<i>Composition et abondance du phytoplancton :</i> Flore totale par microscopie Picophytoplancton par cytométrie en flux (et nanophytoplancton si non dénombré dans la flore totale)
Physico-chimique		<i>Eléments généraux :</i> Transparence Température de l'eau Bilan d'oxygène Salinité  Concentration en nutriments : nitrate, nitrite, silicate, phosphate et ammonium

L'évaluation de l'état de la masse d'eau s'appuie, pour chacun des paramètres, sur un indicateur associé à un référentiel (grille avec des valeurs seuils par classe).

Tableau 26 : Différentes classes pour l'appréciation de l'état d'une masse d'eau

<b>Très bon</b>	Conditions naturelles hors impact
<b>Bon</b>	Proche des conditions naturelles, impact très léger
<b>Moyen</b>	Impact modéré
<b>Médiocre</b>	Milieu très impacté
<b>Mauvais</b>	Milieu très fortement impacté, ou situation quasi-irréversible à moyen terme

**A la date de parution de ce fascicule, les indicateurs et référentiels ne sont pas encore validés. Les éléments présentés ci-après nécessiteront d'être mis à jour après leur validation.**

Le travail de définition de ces éléments a été mené par des groupes de travail (cf. §1) et fait l'objet du rapport "Bon Etat II" (Ropert et *al.*, 2012).

## 8.1. Élément de qualité biologique

L'indicateur retenu au titre de la DCE en métropole repose théoriquement sur la combinaison de trois indices (biomasse, abondance, composition), mais actuellement seuls deux d'entre eux (biomasse et abondance) sont utilisés. A La Réunion, il ne sera pris en compte que l'indice biomasse.

Le paramètre de l'indice **biomasse** choisi par tous les pays européens est la **chlorophylle  $\alpha$** . Ce pigment, présent dans la grande majorité des cellules phytoplanctoniques, simple à mesurer, offre une estimation pertinente de la biomasse du phytoplancton, tout en étant complémentaire de l'information apportée par le dénombrement des espèces.

La métrique retenue est le **percentile 90** de la concentration en Chlorophylle  $\alpha$  (**P90**), qui permet la prise en compte d'une grande majorité de données, y compris des pics d'abondance, à l'exception des données extrêmes de ces pics.

L'indicateur est calculé à l'aide des mesures effectuées sur les 6 ans d'un plan de gestion. Il est transformé en un **Ratio de Qualité Ecologique (RQE)** qui est le rapport entre le percentile 90 et la valeur de référence qui correspond au bon état.

Selon les secteurs, les **grilles de qualité** diffèrent. Celle retenue pour la Réunion est celle de l'Océan Indien (Tableau 27).

Tableau 27 : Grille de qualité pour le paramètre Chlorophylle  $\alpha$

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
	Océan Indien				
Grille de l'indice ( $\mu\text{g/L}$ )	< 0.6	0.6 - 0.9	0.9 - 1.8	1.8 - 3.7	> 3.7
RQE	> 0.67	0.67 - 0.44	0.44 - 0.22	0.22 - 0.11	< 0.11

## 8.2. Éléments de qualité physico-chimiques soutenant la biologie

### 8.2.1. Oxygène dissous

L'élément de qualité oxygène dissous est caractérisé par le paramètre "**concentration en oxygène dissous dans l'eau mesurée à 1 m au-dessus du fond**". Il s'agit d'observer les éventuels phénomènes de désoxygénation.

L'indicateur est défini par le **percentile 10**.

L'indicateur est calculé à l'aide des mesures effectuées sur les 6 ans d'un plan de gestion. Le résultat obtenu est comparé à la **grille de qualité** ci-dessous pour obtenir l'évaluation de la qualité de la masse d'eau pour cet élément.

Tableau 28 : Grille de qualité pour le paramètre Oxygène dissous

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
Grille de l'indice (mg/L)	> 5	3 - 5	2 - 3	1 - 2	< 1

### 8.2.2. Turbidité

Des facteurs géographiques (situation par rapport au débouché des fleuves) édaphiques (nature du fond), météorologiques (vents, précipitations, débit des fleuves), hydrodynamiques (courants, clapot, houle) et biologiques (concentration en phyto- et en zooplancton) modifient la **transparence de l'eau**. La variabilité des conditions auxquelles sont soumises les masses d'eau rend nécessaire de distinguer **plusieurs écotypes** dans lesquels sont définis des niveaux différents de turbidité acceptable.

- les zones rocheuses, les côtes méditerranéennes (sauf celles du Languedoc) et les côtes de l'île de La Réunion, [écotype 1],
- les zones vaseuses/sableuses et les masses d'eau situées à l'embouchure des principaux fleuves. [écotype 2].
- les lagunes méditerranéennes, où la turbidité peut être directement influencée par les usages [écotype 3].

Les valeurs élevées de turbidité sont préjudiciables à la survie et au développement des organismes vivants. Pour cette raison, le choix de l'indicateur s'est porté sur le **percentile 90**. Le résultat obtenu par ce calcul permet de prendre en compte à la fois les valeurs absolues des turbidités et la fréquence relative des épisodes turbides.

L'indicateur est calculé à l'aide des mesures effectuées sur les 6 ans d'un plan de gestion. Le résultat obtenu est comparé à la grille ci-dessous pour obtenir l'évaluation de la qualité de la masse d'eau pour cet élément.

Au niveau national, 2 **grilles de qualité** ont été produites (une pour les écotypes 1 et 2 et une pour l'écotype 3). Ces grilles ne comprennent que 3 classes, très bon, bon et moyen. Dans l'arrêté du 25 Janvier 2010<sup>1</sup>, modifié par l'arrêté du 28 Juillet 2011<sup>2</sup>, La Réunion est rattachée à la grille la plus pénalisante (qui correspond aux écotypes 1 et 2). Le GT "physico-chimie et phytoplancton" de La Réunion s'interroge sur la pertinence d'associer La Réunion à l'écotype 1 en regard des bornes NTU de la grille. **Une grille avec 0.4 NTU comme valeur de référence a été proposée aux référents DCE nationaux pour validation.**

Tableau 29 : Grille de qualité pour le paramètre Transparence/Turbidité

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
Valeur de référence	Ecotypes 1 et 2 : 3.3 NTU				
Grille de l'indice (NTU)	< 5	5 - 10	> 10		
RQE (%)	> 0.67	0.67 - 0.33	< 0.33		

<sup>1</sup> Arrêté du 25 Janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel des eaux de surface pris en application des articles R.212-11 et R.212-18 du Code de l'Environnement (DEVO1001032A)

<sup>2</sup> Arrêté du 28 juillet 2001 modifiant l'arrêté du 25 janvier 2010 relatif aux méthodes et critères d'évaluation de l'état écologique, de l'état chimique et du potentiel écologique des eaux de surface pris en application des articles R.212-11 et R.212-18 du Code de l'Environnement (NOR : DEVL1117913A)

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre	Mauvais
Valeur de référence	Proposition du GT : 0.4 NTU				
Grille de l'indice (NTU)	< 0.6	0.6 - 3.0	> 3.0		
RQE (%)	> 0.67	0.67 - 0.13	< 0.13		

### 8.2.3. Salinité

Les prélèvements instantanés tels que prescrits par la DCE ne permettent pas de suivre la durée et la fréquence d'éventuelles dessalures. De plus, l'utilisation d'un seuil tenant compte uniquement de l'intensité de la dessalure n'a pas été retenue étant donné que celle-ci, pour les masses d'eau sous l'influence d'apports d'eau douce, dépend directement de la localisation du point de prélèvement dans le panache fluvial.

L'indicateur de qualité salinité a donc été déclaré **non pertinent** par les experts dans les masses d'eau côtières et de transition dans le cadre du programme de surveillance DCE.

Il est cependant indispensable de continuer à mesurer ce paramètre afin **d'appuyer l'interprétation des autres paramètres hydrologiques** (nutriments et oxygène dissous) et **biologiques**.

### 8.2.4. Température

L'indicateur développé repose sur la définition d'une "enveloppe" sinusoïdale de température, "l'enveloppe de référence", correspondant à 3 fois l'intervalle interquartile.

L'indicateur est défini comme le **pourcentage de valeurs de température de l'eau considérées comme exceptionnelles**, c'est-à-dire qui sortent de l'**enveloppe de référence** considérée comme assurant le bon fonctionnement écologique d'un écosystème.

Etant donné la variabilité des masses d'eau côtières sur l'ensemble du littoral français métropolitain, 5 enveloppes de référence ont été définies à partir des données enregistrées sur la période 1988-2007.

La plage annuelle de variation des températures dans nos eaux réunionnaises a obligé à définir un 6<sup>ème</sup> type, et l'enveloppe de référence pour les eaux réunionnaises est représentée par les deux sinusoïde en pointillés rouges de la Figure 44.

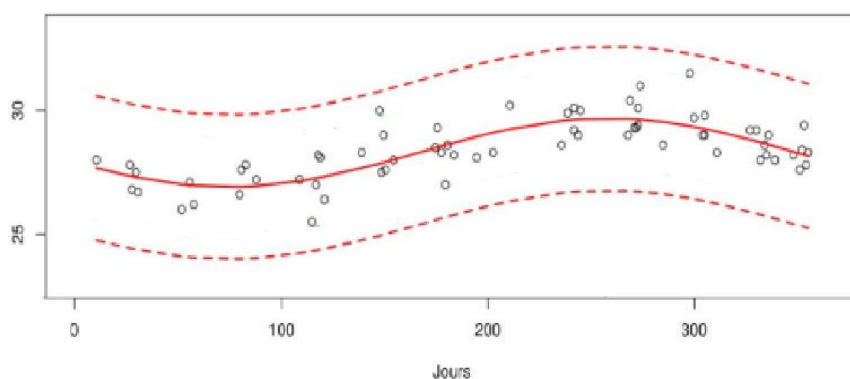


Figure 44 : Enveloppe sinusoïdale de référence définie pour l'indicateur température à La Réunion dans les MEC. Données du RHLR ; températures en ordonnée ; Trait plein rouge = sinusoïde de référence ; pointillés rouges = enveloppe de référence

L'indicateur est calculé à l'aide des mesures effectuées sur les 6 ans d'un plan de gestion.

Le très bon état est atteint lorsqu'au moins 95 % des valeurs mesurées sont comprises dans l'enveloppe de référence.

Si moins de 95 % des valeurs sont comprises dans l'enveloppe, la masse d'eau est considérée en mauvais état pour cet élément.

Tableau 30 : Grille de qualité pour le paramètre Température dans les MEC

	Très bon	Mauvais
Grille de l'indice	< 5% en dehors de l'enveloppe rouge	> 5% en dehors de l'enveloppe rouge

### 8.2.5. Nutriments

L'élément de qualité nutriments est évalué à l'aide des résultats d'analyse sur les prélèvements effectués en subsurface pendant les 6 ans d'un plan de gestion.

L'indicateur DCE nutriment est défini comme étant la **combinaison des indices ammonium, nitrate, nitrite, phosphate et silicate**. A ce jour, la pertinence des indices phosphate et silicate est toujours à l'étude. Ainsi, **pour l'instant, l'indicateur nutriments intègre uniquement les concentrations d'azote inorganique dissous (NID), c'est à dire la somme ammonium + nitrate + nitrite**.

La concentration en nutriments étant considérée comme une pression sur l'écosystème, et non comme un paramètre ayant un effet direct sur le milieu, la concentration en NID a été relativisée par rapport au fonctionnement propre des différents milieux. Pour ce faire, un symptôme primaire d'eutrophisation, la chlorophylle  $\alpha$ , a été utilisé.

La concentration en NID étant directement reliée à la salinité (notamment en période hivernale), il a été nécessaire de regrouper les masses d'eau côtières et de transition au sein d'**écotypes** représentatifs des bassins hydrographiques. Il est ainsi possible de définir une droite de dilution pour l'ensemble des données acquises sur le plan de gestion.

La **teneur en NID** correspondant à la valeur seuil du **Ratio de Qualité Ecologique (RQE chlorophylle  $\alpha$ )** entre très bon état et bon état (= 0,67) a été fixée comme valeur seuil de la concentration NID entre très bon état et bon état. Elle s'élève à 16  $\mu\text{M}$ . La teneur en NID correspondant à la valeur seuil du RQE chlorophylle entre bon état et état moyen (= 0,33) a été fixée comme valeur seuil de la concentration NID entre bon état et état moyen. Elle s'élève à 29  $\mu\text{M}$ .

Lors de l'application de cet indicateur sur les différentes masses d'eau, au-delà de 29  $\mu\text{M}$  (valeur à partir de laquelle l'indicateur permet de classer une masse d'eau en "état moyen"), il est proposé de distinguer deux cas :

- soit cette teneur présente un impact négatif sur les biomasses phytoplanctoniques (RQE chlorophylle < 0,33), auquel cas la masse d'eau présente un état moyen vis-à-vis de ce paramètre,



- soit cette teneur n'a pas d'impact sur les biomasses phytoplanctoniques (RQE chlorophylle > 0,33), auquel cas on considère que la masse d'eau présente un bon état vis-à-vis de ce paramètre.

Les résultats sont donnés dans la **grille de qualité** ci-dessous.

Tableau 31 : Grille de qualité pour le paramètre nutriment (NID) en métropole

	Très bon	Bon		Moyen	Médiocre	Mauvais
NID ( $\mu\text{mol/L}$ )	< 16	16 - 29	> 29	> 29		
RQE "Chlorophylle $a$ " (%)	> 0.33			< 0.33		

L'oligotrophie des eaux réunionnaises, la faiblesse des apports terrigènes en nutriments, et les temps de résidence très courts au sein des masses d'eau côtières du fait de l'hydrodynamisme important, font que les seuils proposés pour la métropole ne sont pas adaptés localement. Le GT "Physico-chimie et Phytoplancton" de La Réunion et la Coordination Nationale Hydrologie DCE de l'Ifremer essaieront de développer, en collaboration, un indicateur nutriments au cours du prochain plan de gestion.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aminot A., Kérouel R., 2004. Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p.

Aminot A., Kérouel R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continu. Ed. Ifremer, Méthodes d'analyse en milieu marin, 188p.

BCEOM, ARVAM, PARETO ECOCONSULT., 2005. Etat des lieux du district hydrographique de La Réunion. Rapport pour DIREN Réunion, 189p + annexes.

Conand F., Marsac F., Tessier E., Conand C., 2007. A Ten-year Period of Daily Sea Surface Temperature at a Coastal Station in Reunion Island, Indian Ocean (July 1993 – April 2004): Patterns of Variability and Biological Responses. Western Indian Ocean J. Mar. Sci.. 6, 1 :16.

Cuet P., Turquet J., Chiffolleau J-F., 2006. Phase pilote d'extension du Réseau National Observation à la Réunion. Résultats des trois années de suivi (2002- 2005). Rapport Université de la Réunion – ARVAM – IFREMER pour le compte de la DIREN Réunion, 93p.

Daniel A. et al., 2012. Pasteurization: A reliable method for preservation of nutrient in seawater samples for inter-laboratory and field applications. Marine Chemistry 128 : 57-63.

Duval M., Brenner E., Cambert H., Davy R., Ropert M., Gauthier E., Masson JC., 2014. Masque de saisie QUADRILABO. Notice d'utilisation de l'interface de saisie Excel© pour les données "hydrologie", "phytoplancton (sauf dénombrement)" et "chimie" pour La Réunion et Mayotte. 49p.

Glossaire Quadrige<sup>2</sup>, mise à jour du 28/08/2009.

Grégori G., Colosimo A., Denis M., 2001. Phytoplankton group dynamics in the Bay of Marseilles during a 2-years survey based on analytical flow cytometry. Cytometry 44:247-256.

Lazure P., 2004. Délimitation des masses d'eaux naturelles dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) : Applications aux eaux marines des Départements d'Outre-Mer : Guadeloupe, Martinique, Guyane, Réunion. RST/DEL/AO n° 04-2004. 27p.NF EN 15972 version en vigueur. Qualité de l'eau / Guide pour l'étude quantitative et qualitative du phytoplancton marin. Ropert M., Duval M., Maurel L., Vermetot C., Mouquet P., Nicet JB., Talec P., Le Goff R., 2012. PROJET BON ETAT II : Actualisation de l'état des lieux du SDAGE, Volet "eaux côtières réunionnaises. Rapport Final Volume 1. 228p.

Turquet J., Delesalle B., Denis M., Blanchot J., 2008. Programme PHYTO RUN. Structure et dynamique du Phytoplancton côtier de La Réunion. Résultats de l'étude complémentaire. Rapport ARVAM A.301. 38p.



## TABLES DES ILLUSTRATIONS

### Cartes

Carte 1 : Découpage du littoral réunionnais en 12 Masses d'Eau Côtières (MEC), dont 4 de type récifal (encarts) .....	2
Carte 2 : Stations du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE dans les masses d'eau côtière de La Réunion. La numérotation correspond aux 3 derniers chiffres du mnémonique. ....	9

### Figures

Figure 1 : Schéma de l'évaluation de l'état d'une masse d'eau imposé par la DCE .....	4
Figure 2 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement .....	20
Figure 3 : Dispositif de pré-filtration adaptable directement à la sortie de la bouteille de prélèvement.....	22
Figure 46 : Enveloppe sinusoïdale de référence définie pour l'indicateur température à La Réunion dans les MEC. Données du RHLR ; températures en ordonnée ; Trait plein rouge = sinusoïde de référence ; pointillés rouges = enveloppe de référence.....	46

### Photos

Photo 1 : Couvertures des 4 fascicules techniques de définition des suivis du réseau de contrôle de surveillance à La Réunion .....	6
Photo 2 : Exemples de bouteille de prélèvement Niskin (a), de sonde multi paramètres (b) et de sonde <i>in situ</i> (c) .....	13
Photo 3 : Exemples de flaconnages spécifiques .....	13
Photo 4 : Exemples de support de bouteille de prélèvement .....	19

### Tableaux

Tableau 1 : Classement des masses d'eau côtières en fonction de leur typologie .....	3
Tableau 2 : Composition des quatre Groupes de Travail DCE à La Réunion (Février 2015) .....	5
Tableau 3: Positionnement des points de suivi du RHLR.....	10
Tableau 4 : Nombre de stations et fréquence des suivis.....	11
Tableau 5 : Conditionnement du flaconnage.....	15
Tableau 6 : Profondeur de suivi selon le type de masse d'eau.....	16
Tableau 7 : Conditions de prélèvement et d'analyses exigées pour chaque paramètre.....	16
Tableau 8 : Exigences analytiques pour la température.....	17
Tableau 9 : Exigences analytiques pour la salinité.....	17
Tableau 10 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous.....	18

Tableau 11 : Exigences analytiques pour la turbidité.....	18
Tableau 12 : Conditions de stockage entre le prélèvement et le lieu de conservation avant analyse.....	28
Tableau 13 : Conditions de stockage sur le lieu de conservation avant analyse .....	28
Tableau 14: Exigences et bonnes pratiques .....	30
Tableau 15 : Paramètres à enregistrer lors de l'échantillonnage .....	31
Tableau 16 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous .....	32
Tableau 17 : Exigences analytiques pour la turbidité.....	32
Tableau 18: Exigences analytiques pour les nutriments [CODE SANDRE] .....	33
Tableau 19 : Exigences analytiques pour la chlorophylle <i>a</i> [CODE SANDRE] .....	33
Tableau 20 : Méthode de dénombrements du phytoplancton suivant sa taille .....	34
Tableau 21 : Exigences analytiques pour le phytoplancton .....	34
Tableau 22 : Exigences et bonnes pratiques .....	35
Tableau 23 :Récapitulatif du Programme et de la Stratégie Q <sup>2</sup> associés au réseau DCE " Physico-Chimique & Phytoplancton" à La Réunion.....	38
Tableau 24 : Récapitulatif des PSFMs – Paramètres Physico-Chimiques et Phytoplancton de la DCE. ....	39
Tableau 26 : Paramètres du RCS "Physico-chimie et Phytoplancton" .....	43
Tableau 27 : Différentes classes pour l'appréciation de l'état d'une masse d'eau .....	43
Tableau 28 : Grille de qualité pour le paramètre Chlorophylle <i>a</i> .....	44
Tableau 29 : Grille de qualité pour le paramètre Oxygène dissous .....	44
Tableau 30 : Grille de qualité pour le paramètre Transparence/Turbidité.....	45
Tableau 31 : Grille de qualité pour le paramètre Température dans les MEC.....	47
Tableau 32 : Grille de qualité pour le paramètre nutriment (NID) en métropole .....	48

## ANNEXE

## Feuille de mer

L'ensemble de ces données ainsi que tous éléments permettant d'assurer la traçabilité sont regroupés dans une feuille de mer sur le modèle suivant.

FEUILLE DE MER									
Identifiant du lieu de surveillance :					Opérateur(s) :				
					Profondeur « sondeur » (m) :				
Identifiant de la campagne :					Pluviosité : <input type="checkbox"/> nulle <input type="checkbox"/> crachin <input type="checkbox"/> averse <input type="checkbox"/> forte				
					Date :				
Heure :					Etat de la mer : <input type="checkbox"/> belle <input type="checkbox"/> peu agitée <input type="checkbox"/> agitée				
Profondeur	Température	Salinité	Turbidité	Oxygène	Flacons nutriments				Autre(s) Flacon(s)
m	°C	/	NTU	mg / L	NO <sub>3</sub> / NO <sub>2</sub>	PO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub>	Si(OH) <sub>4</sub>	
<input type="checkbox"/> Surface 0 - 1m <input type="checkbox"/> Surface - fond					(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
					Porosité « pré-filtration » : ..... µm Porosité « filtration Silicate » : ..... µm				<input type="checkbox"/> Chlorophylle <i>a</i> <input type="checkbox"/> A. Pigmentaire <input type="checkbox"/> Phytoplancton <input type="checkbox"/> Brut <input type="checkbox"/> Filet <input type="checkbox"/> Cytométrie.
<input type="checkbox"/> Fond - 1 m					Commentaire(s) : (3)				
Identifiant Sonde(s)	(2)	(2)	(2)	(2)					

(1) Indiquer au minimum sur le flacon/tube : Paramètre + Lieu de surveillance + Date de prélèvement et/ou Identifiant campagne

(2) Indiquer au minimum le modèle + n° interne et/ou n° de série

(3) Indiquer tous éléments complémentaires nécessaires à la traçabilité des données et utiles à la qualification de ces dernières : coordonnées du point si en dehors des tolérances définies, problèmes techniques rencontrés, ....