

TECHNIQUES UTILISEES POUR L'ETUDE DU ZOOPLANCTON

SUR LES SITES DES CENTRALES NUCLEAIRES
DES COTES FRANCAISES DE MANCHE ET ATLANTIQUE

par

Geneviève Le Fèvre-Lehoërf



AFREMER

CENTRE de BREST FRANCE

TECHNIQUES UTILISEES POUR L'ETUDE DU ZOOPLANCTON
SUR LES SITES DES CENTRALES NUCLEAIRES DES COTES FRANCAISES
DE MANCHE ET ATLANTIQUE

Par

Geneviève LE FÈVRE-LEHOËRFF

Avec la participation de
Annick DERRIEN, Jean Yves QUINTIN et Gilles YOUENOU
L'illustration a été préparée par Vic CHAPRON

IFREMER / DERO /EL, Centre de Brest, B.P. 337 F 29273 BREST CEDEX

1985

SOMMAIRE

	p.
Introduction	2
Stratégie d'Echantillonnage	2
Marées	2
Courants	2
Répartition spatiale	2
Variations saisonnières	2
Microdistribution	3
Choix des niveaux d'échantillonnage	3
Types d'échantillons de zooplancton recueilli	3
Récolte des Echantillons et conservation	5
Feuille de mer	5
Heure	5
Point	5
Station	5
Angle de cable	5
Profondeur sondeur	5
Profondeur de pêche	5
Débit-mètre	7
Temps de trait	7
Numérotation des échantillons	7
Les types de filets et leur mode d'emploi ...	7
Trait vertical filet simple	9
Trait vertical filet triple	9
Trait horizontal	11
Méthode de pêche	11
Stockage des échantillons	13
Méthodes utilisées au laboratoire	13
Données quantitatives globales	15
Poids sec - Biomasse:	15
Matière organique totale	15
Carbone organique et azote organique ...	17
Analyse taxonomique	17
Sous échantillonnage	19
Comptage	19
Etude de la dynamique de populations des copépodes	21
Traitement des données et stockage	23

INTRODUCTION

Les techniques et méthodologies décrites ici ne concernent que celles utilisées dans les études de sites de centrales nucléaires (Gravelines, Penly, Paluel, Englesqueville, Flamanville et Plogoff) choisies en fonction des caractéristiques de la zone étudiée et des conditions de travail. Le choix des méthodes pourrait être différent dans d'autres circonstances et au besoin, des ouvrages généraux de méthodologie peuvent être consultés (UNESCO, 1968 ; BOUGIS, P., 1974 ; OMORI, M. et T. IKEDA, 1984).

STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE

L'échantillonnage a été défini en tenant compte des caractéristiques des sites (marées importantes, courants intenses) et de l'objectif des études, c'est-à-dire acquérir la connaissance de l'abondance et la composition taxonomique du zooplancton, de ses variations saisonnières et de sa répartition spatiale. L'étude porte sur le mésoplancton dont la gamme de taille se situe entre 200 μ et 1000 μ .

Marées : les marées sont semi-diurnes sur le littoral du continent Nord-Ouest européen où l'écart entre la haute mer et la basse mer peut atteindre 13 mètres, en vive eau à Saint-Malo, par exemple.

Courants : l'existence de forts courants de marée est un des critères les plus importants du choix d'un site de centrale nucléaire de bord de mer. Ils favorisent la dispersion thermique des effluents. Cette caractéristique des sites cependant entraîne des difficultés techniques d'échantillonnage sur le terrain mais aussi, augmente l'incertitude relative aux résultats quantitatifs du fait de la grande variabilité dans les conditions d'environnement. Ceci est vrai, surtout en ce qui concerne l'alternance vive eau - morte eau. Pour étudier les variations saisonnières, cette variabilité peut être quelque peu diminuée dans la mesure où les missions sont réalisées dans des conditions de marée équivalentes, par exemple avec une périodicité de quinze jours correspondant à la périodicité du cycle semi-diurne.

L'échantillonnage a été par conséquent planifié de la manière suivante :

Répartition spatiale : afin d'établir les variations spatiales de manière significative, plus particulièrement entre les points côtier et large, les échantillons ont été prélevés aussi près que possible des étales de haute mer ou de basse mer quand le mouvement dû à la marée, et par conséquent l'interférence espace-temps est supposée minimum.

Variations saisonnières : la périodicité des missions a été bimensuelle dans la mesure du possible, ce qui correspond à un pas de temps assez satisfaisant pour suivre l'évolution quantitative des populations planctoniques. Quand les conditions météorologiques ont été défavorables la périodicité a été mensuelle. La principale exigence a été de travailler à un moment déterminé du cycle vive eau - morte eau. La référence choisie pour le définir est le coefficient de marée utilisé dans l'annuaire des marées français. Ce coefficient représente l'importance d'une marée moyenne d'équinoxe de printemps. La référence actuelle étant choisie comme la valeur fixée à 120 pour une marée astronomique maximale (en fait, il a été défini pour les conditions de marée à Brest mais peut être appliqué aux différentes régions où la marée est semi-diurne). Les missions ont été choisies de telle manière que le coefficient de marée soit compris entre 60 et 70 (marée moyenne de morte eau) aussi souvent que possible.

Microdistribution : plusieurs auteurs (CASSIE, 1963) ont montré que le plancton n'est pas distribué uniformément dans l'environnement. Les organismes sont généralement aggrégés en essaims ou taches de taille variable (quelques centimètres à quelques mètres) d'où un accroissement de la variabilité dans les estimations quantitatives. La part due à la microdistribution dans les variations d'abondance du plancton a pu cependant être estimée par la méthode d'échantillonnages répétés ou "replicates". Plusieurs échantillons récoltés simultanément ou dans un laps de temps très court permettent d'estimer un intervalle de confiance dans la comparaison des abondances de plancton soit entre deux stations au même point, soit entre deux points. A Flamanville par exemple, et ceci une fois par mois, 5 prélèvements répétés ont été effectués en un point à haute mer et 5 à la basse mer suivante. Ils ont été comparés aux cinq prélèvements répétés effectués en un autre point.

Choix des niveaux d'échantillonnage : les paramètres physico-chimiques et le phytoplancton sont soit mesurés, soit prélevés à des profondeurs déterminées. Dans les régions étudiées la profondeur d'eau est habituellement inférieure à 30 mètres et trois niveaux d'échantillonnage ont été jugés le plus souvent suffisants. Le zooplancton a été récolté en fonction de la structure hydrologique. Dans les zones où le mélange vertical domine, des traits verticaux ont été effectués du fond à la surface, ce qui permet, soit une estimation de l'abondance moyenne dans la colonne d'eau (globalement homogène) par unité de volume (m^3), soit l'estimation du plancton total de la colonne d'eau par unité de surface (m^2). Cette méthode d'intégration sur la verticale permet de comparer pour des régions voisines ou éloignées, leur richesse qualitative et quantitative indépendamment de la bathymétrie des zones étudiées. L'échantillonnage vertical offre lui-aussi l'avantage de minimiser les variations journalières d'abondance dues aux migrations verticales, réduisant le biais possible associé à un échantillonnage effectué à différents moments de la journée (il peut être important même en zones très côtières). Là où la stratification (thermique, haline ou thermohaline) est importante, des traits horizontaux peuvent être effectués à différents niveaux. A Plogoff, région où coexistent des structures homogènes et des structures stratifiées il a été procédé à un échantillonnage mixte associant les traits horizontaux et traits verticaux fond - surface, ceci dans le but de comparer, pour certaines espèces, la valeur d'abondance à un niveau donné et la valeur moyenne estimée dans la colonne d'eau.

Types d'échantillons de zooplancton recueilli : différents types de pêche et procédures d'analyses ont été utilisés pour caractériser le zooplancton selon les variables à étudier : abondance, biomasse, inventaire taxonomique, structure d'âge de la population de quelques espèces. Les catégories d'échantillons récoltés ont été :

- des échantillons pour la biomasse (exprimée sous forme de poids sec de carbone et d'azote organique) conservés congelés après la récolte,
- des échantillons récoltés avec un filet à vide de maille de 200 μm pour le comptage du mésoplancton et éventuellement du macroplancton - conservés au formol,
- des échantillons récoltés avec un filet à vide de maille de 80 μm pour le comptage des stades de développement de quelques espèces de crustacés (copepodes). Ils sont formolés après la pêche,
- des échantillons récoltés au filet fin (80 μm) destinés à l'étude de larves de mollusques. Ils sont conservés dans l'alcool.

RECOLTE DES ECHANTILLONS ET CONSERVATION

Les études que nous avons entreprises ont été menées pendant un certain nombre d'années, en différents lieux géographiques, effectuées par de nombreuses personnes avec des conditions de travail de terrain ou de laboratoire parfois difficiles. Il a été par conséquent nécessaire de standardiser autant que possible les différentes étapes du prélèvement et du dépouillement d'échantillons, et d'établir comme règle que toute introduction de nouvelle technique et méthodologie pour l'étude d'un nouveau problème devra faire l'objet d'une calibration avec la méthode utilisée précédemment. Tous les participants à l'ensemble des travaux ont été tenus de suivre un schéma type de travail "de routine" qui peut paraître en première analyse quelque peu rigide mais qui n'a eu d'autre but que de maintenir une certaine continuité dans les travaux et de permettre ultérieurement une comparaison des résultats obtenus. Ce schéma peut être résumé de la manière suivante :

Feuille de mer : toutes les informations concernant les mesures et les récoltes sont notées sur un ensemble de feuilles de mer (ci-joint un exemple), une feuille de mer est utilisée par station. Chaque feuille porte la référence de la mission et la date.

Heure : toutes les indications sont rapportées à l'heure du méridien de Greenwich (G.M.T.) afin d'éviter les erreurs pouvant s'introduire au moment des changements d'heure légale au cours de l'année. Dans la région correspondant à nos études, l'heure G.M.T. offre l'avantage de ne jamais être différente de plus d'une demi-heure de l'heure solaire locale, qui est la référence ayant la meilleure signification dans les cycles biologiques.

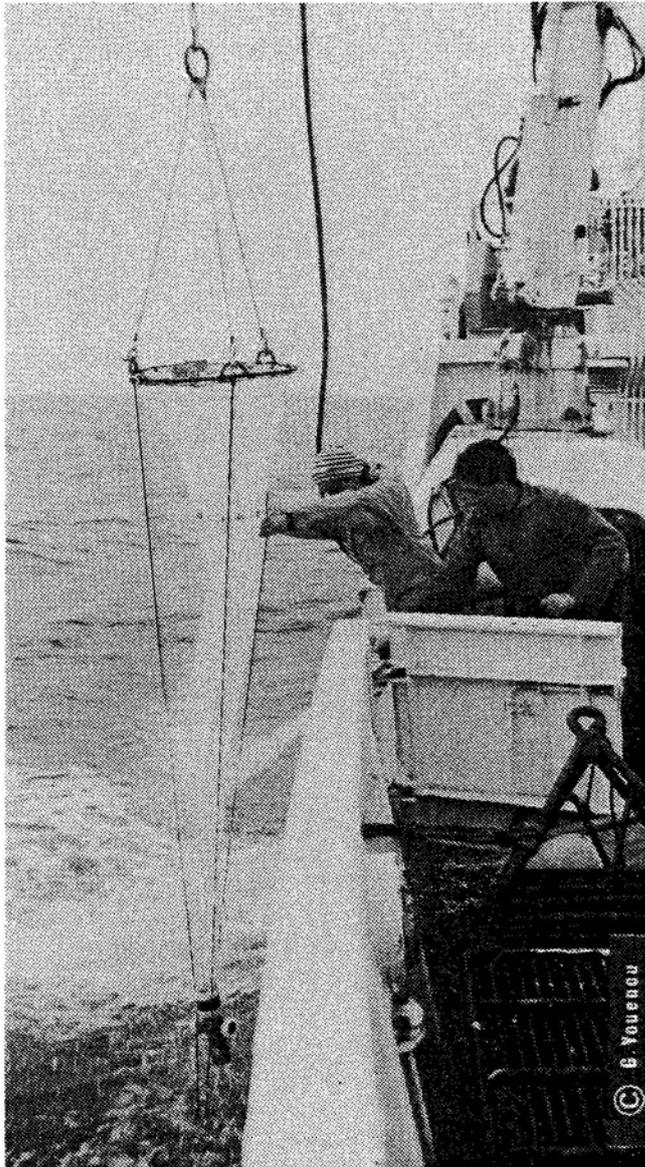
Point : ce terme ne doit pas être confondu avec "station" ; il indique un lieu précis défini par ses coordonnées géographiques et où les travaux de terrain ont été effectués de manière répétitive. Les points sont généralement représentés par une lettre ou un chiffre.

Station : c'est une série complète d'opérations en un point donné. Pour les missions pélagiques une station correspond en général à un ou plusieurs prélèvements hydrologiques et des récoltes de phytoplancton et zooplancton. Elle peut comporter de plus des prélèvements de benthos. Les stations d'une même mission sont généralement numérotées chronologiquement (1 à n). Dans le cas où une étude s'effectue pendant un certain temps, en un point, il peut y avoir plusieurs stations en un point.

Angle du câble : il peut produire un biais dans l'estimation des profondeurs de prélèvements et le calcul de l'abondance pour des traits verticaux. L'angle du câble doit par conséquent être noté, surtout s'il dépasse 30° par rapport à la verticale.

Profondeur sondeur : c'est la profondeur (mètres) entre le capteur de sonde et le fond. Il doit être corrigé, et c'est important dans les zones côtières de la distance entre la surface et la sonde, pour connaître la profondeur d'eau totale.

Profondeur de pêche : pour des traits verticaux de plancton, c'est la distance entre la profondeur du début du trait et la surface. La profondeur initiale du trait est la distance en mètres entre l'ouverture du filet au moment où la pêche commence et la surface. Si le câble est vertical, elle est équivalente à la hauteur d'eau parcourue entre le début du trait et la surface. Si le câble n'est pas vertical, la distance est fonction de l'angle du câble le trait assimilé à un trait oblique. Pour des traits horizontaux, la profondeur de pêche correspond à la profondeur du centre du filet pendant la pêche.



Filet simple WP2.

Le filet est hissé au-dessus du niveau de la mer et rincé abondamment de haut en bas avec une manche à eau.

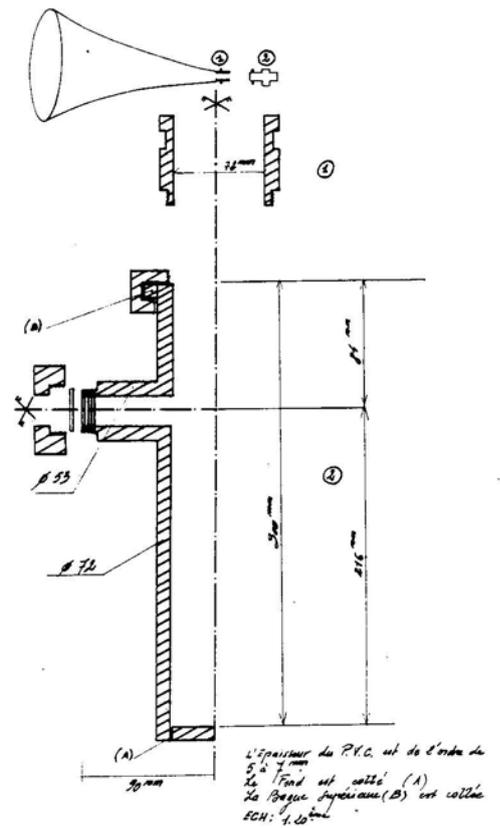


Schéma montrant un collecteur à "oreilles".

Débit-mètre : vérifier que le compteur du débit-mètre est remis à zéro avant l'échantillonnage et lire la valeur à la fin du trait.

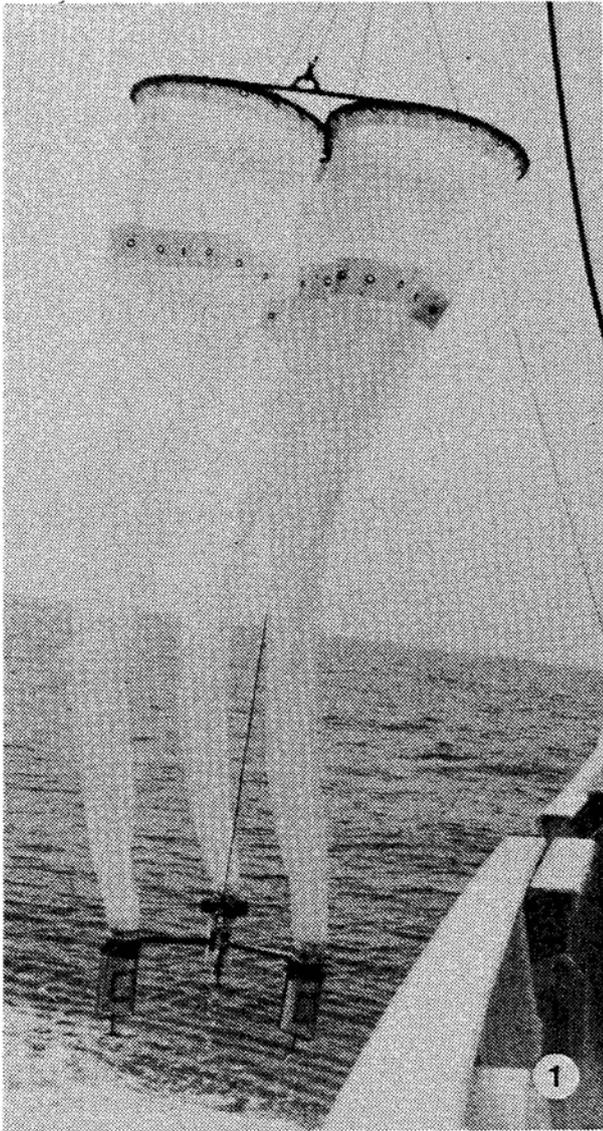
Temps de trait : il est nécessaire de le connaître avec précision en même temps que le nombre de tours du débit-mètre. Un chronomètre est par conséquent utilisé pour mesurer avec précision le temps de trait.

Numérotation des échantillons : chaque échantillon est caractérisé par une référence unique qui doit éviter toute confusion entre deux échantillons. La référence comprend une lettre caractéristique du site suivie d'un chiffre selon une série chronologique (e.g. G.1509 pour le 1509ème échantillon de Gravelines). Il est noté à la fois sur le bocal contenant le prélèvement (avec un marqueur indélébile) et sur la feuille de mer (sur laquelle figurent en même temps l'heure, la date et lieu de prélèvement). Si l'échantillon est trop abondant pour être contenu dans un seul bocal, plusieurs bocaux sont utilisés, numérotés avec le même numéro suivi d'un indice (e.g. G.1509₁, G.1509₂ ...). Le nombre de bocaux utilisés pour un échantillon donné, doit être noté sur la feuille de mer correspondante pour éviter toute erreur au moment où l'échantillon est dépouillé.

Les types de filets et leur mode d'emploi : pour le mésoplancton et le petit macroplancton (taille variant de 200 μm à 10 mm), le modèle type de filet à plancton adopté est le filet standard WP₂, testé par TRANTER à Sidney en 1966, adopté et décrit selon les normes UNESCO (UNESCO, 1968). Ce filet est un engin quantitatif aisé à manier, très utilisé dans les différentes parties du monde, en particulier sur le plateau continental. C'est un filet cylindroconique dont l'ouverture est de 0.25 m², ce qui correspond à un diamètre interne de 56.4 cm environ pour le cercle en métal galvanisé ou en laiton. Le cercle est relié au câble par une patte d'oie à trois brins métalliques coulissant dans un grand anneau. Le matériel filtrant est un nylon monofilament, tissé selon un maillage dont le vide de maille est 200 μm . Quand le filet a été conçu ses propriétés hydrodynamiques ont été calculées pour obtenir un coefficient de filtration égal à l'unité (i.e. le volume filtré est égal à la valeur du produit de la surface d'ouverture par la longueur du trait dans l'eau) pour une vitesse de remontée ou de remorquage égal à 1 m/seconde et s'il n'y a pas de colmatage. Ces conditions n'ont pas toujours pu être remplies mais l'utilisation de débit-mètre a permis le calcul du volume d'eau filtrée dans tous les cas. Pour que cette méthode soit valable, il est nécessaire de placer le débit-mètre dans une position bien définie, celle où la vitesse de l'eau par rapport au filet est égale à la vitesse moyenne calculée par intégration sur la surface totale d'ouverture. Cette recommandation a été formulée quand le filet a été normalisé (UNESCO, 1968). Le débit-mètre doit être fixé dans le cercle d'ouverture au milieu du rayon, c'est-à-dire à 14.25 cm du cercle. Afin de le maintenir dans le plan du cercle nous utilisons habituellement un système de trois attaches, deux de longueurs fixes et une de type sandow pour un réglage fin.

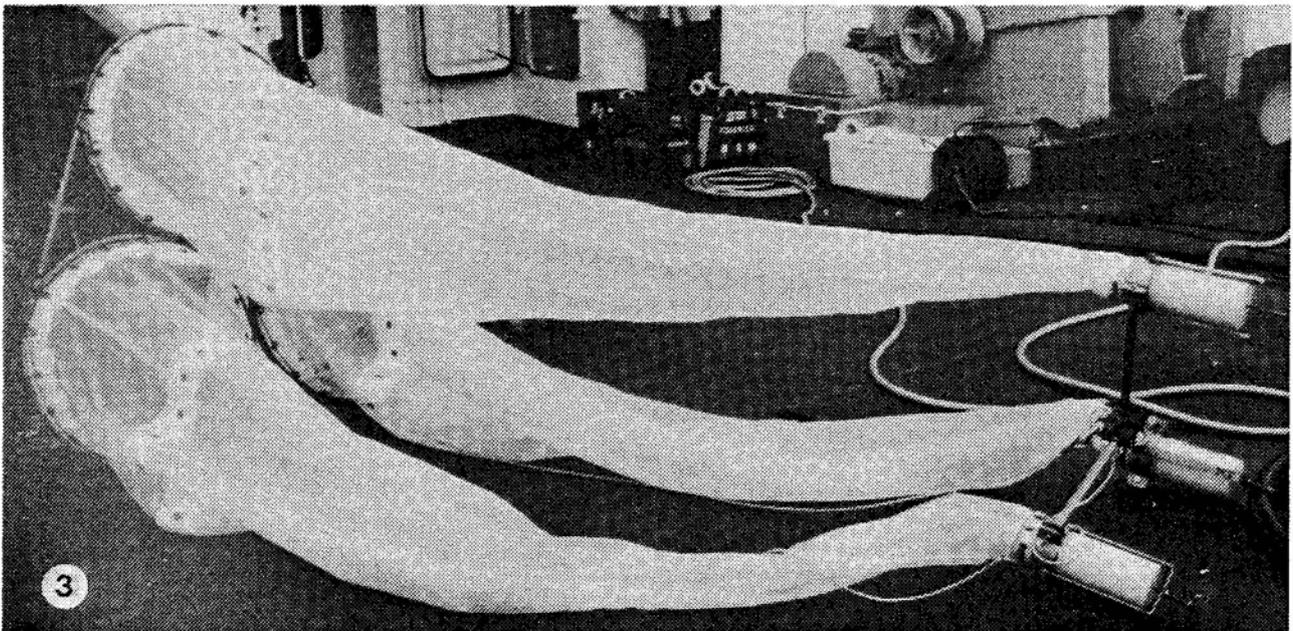
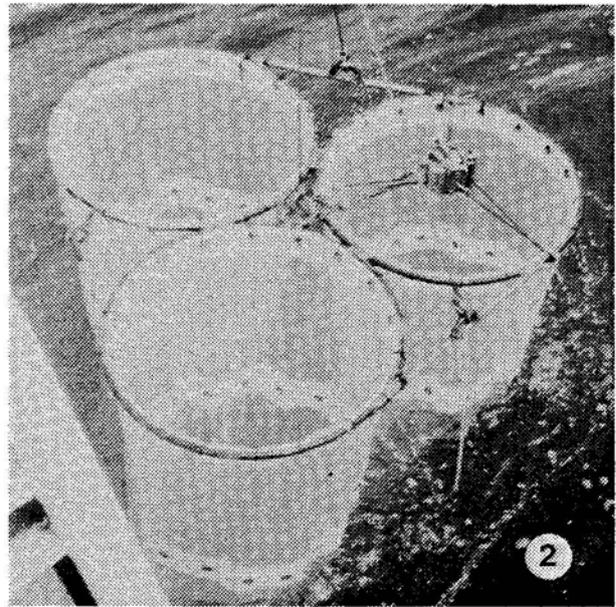
Les organismes plus petits (stades copépodites, larves de mollusques etc.) sont récoltés avec un filet de maille plus petite (80 μm) mais de même forme et avec des caractéristiques identiques à celles du WP₂. Ce filet se colmate plus facilement que le WP₂ type et ses caractéristiques de filtration sont moins bien connues. Dans certaines circonstances (e.g. Bloom phytoplanctonique), les estimations des volumes filtrés peuvent être moins précises et moins correctes.

Les deux filets WP₂ et 80 μm peuvent être utilisés pour des traits verticaux et horizontaux. Le filet peut être utilisé en filet simple ou en filets multiples montés sur une cadre commun.



1) Remontée du filet triple WP2 après un trait vertical.

2) Système d'entrée du filet triple WP2. Un débitmètre TSK est fixé dans l'ouverture d'un filet seulement. Nous considérons que les volumes filtrés sont égaux pour les trois filets.

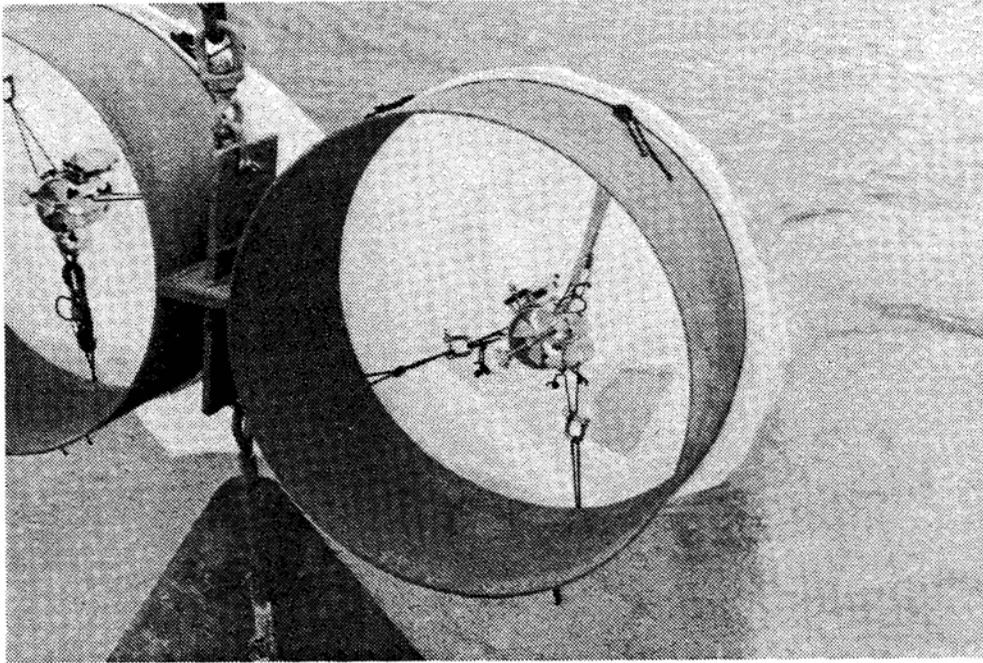


3) Filet triple WP2 posé sur le pont entre deux stations. On aperçoit les deux systèmes supérieurs (trois cercles) et inférieurs (trois collecteurs solidaires de l'étoile) et le câble qui les relie.

Trait vertical, filet simple : les particularités dans l'équipement du filet sont l'utilisation de collecteurs "à oreilles" et celles de trois suspentes mises en place pour éviter que la force de traction ne s'exerce sur le filet lui-même. Les "oreilles" se terminent par deux fenêtres filtrantes circulaires. Elles permettent un écoulement partiel de l'eau avant la collecte de l'échantillon pour éviter ainsi toute perte et par conséquent une erreur quantitative. Les fenêtres sont fermées par des disques constitués du même matériel filtrant que le filet (même vide de maille). Pour une manipulation et un nettoyage faciles ils sont collés sur des cercles de matière plastique de diamètre approprié et tenus en position par des colliers de plastique qui se vissent sur les extrémités des "oreilles". Le collecteur lui-même est vissé par un collier en plastique sur un manchon, attaché à l'extrémité inférieure du filet par un collier métallique. Les suspentes sont attachées à leurs extrémités supérieures au cercle, et attachées ensemble à leurs extrémités inférieures en formant une boucle qui est utilisée pour attacher un poids de 25 kg, 10 à 15 cm en-dessous de l'extrémité du collecteur. Elles sont tenues le long du manchon de l'extrémité inférieure du filet par un second collier en métal. Leurs longueurs entre ce collier et l'ouverture supérieure du filet doivent être réglées légèrement plus courtes que le filet de telle manière qu'elles supportent le poids. Ce réglage des suspentes se fait au moment du gréement du filet, celui-ci étant suspendu verticalement sur un portique.

Trait vertical, filet triple : l'idée de regrouper trois filets identiques dans une même armature a été proposée par le professeur A. BOURDILLON pendant un congrès qui s'est tenu à Roscoff en 1967. Il s'agissait de résoudre le problème suivant, à savoir la nécessité de récolter et de comparer deux types d'échantillons destinés l'un à la mesure de la biomasse, l'autre au comptage des espèces. On ne peut effectuer, le plus souvent, de division par le sous-échantillonnage d'un seul échantillon, à bord, dans de bonnes conditions, ni effectuer un double échantillonnage dans un temps très court, particulièrement en milieu océanique profond. Le filet multiple résout ce problème, de plus un filet triple présente l'avantage d'être mieux équilibré dans l'eau qu'un filet double. Les avantages d'utiliser un filet triple ne se limitent pas à l'échantillonnage en milieu profond. On peut par exemple l'utiliser pour effectuer 3 prélèvements simultanés pour une étude de variabilité sur la même catégorie de prélèvements. On peut également utiliser les trois échantillons pour trois types d'analyses différentes (e.g. : biomasse, comptage et analyse biochimique). Le filet triple est constitué de deux systèmes, un système supérieur d'ouverture et un système inférieur. Le système supérieur d'entrée est formé de trois cercles solidaires. L'ensemble est consolidé par des barres rigides, tangentes extérieurement aux trois cercles et solidaires de ceux-ci. Le système supérieur est attaché au câble du treuil par une patte d'oie à 4 brins. Un seul des trois filets est équipé d'un débit mètre ; on suppose que les deux autres filets filtrent de la même manière. Le système inférieur est constitué d'une étoile à trois branches (alliage inoxydable) à laquelle les bases des collecteurs sont fixées par des colliers de serrage. Cet assemblage rigide permet un maniement plus aisé des collecteurs que dans le cas du filet simple. Les collecteurs sont cylindriques avec une simple fenêtre carrée munie de matériel filtrant, remplaçant les "oreilles" des collecteurs précédemment décrits. Les collecteurs cylindriques glissent sur les manchons d'extrémités des filets et sont maintenus par des colliers à vis dans le système inférieur de l'étoile. Ce système inférieur supporte éga-

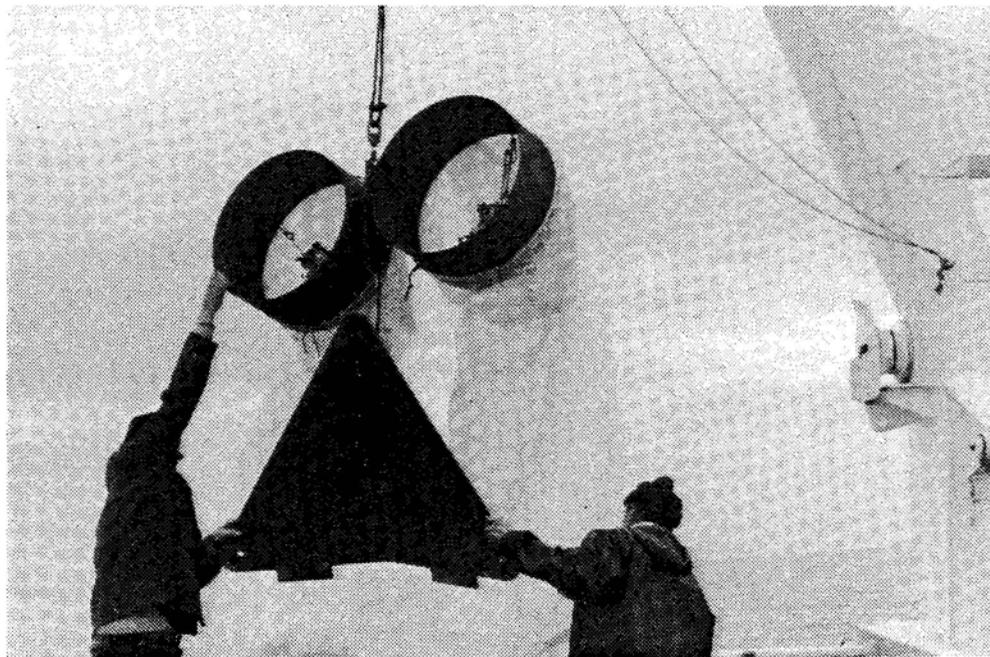
© J. Sur



A - Le grand BONGO. Chaque filet est équipé d'un débitmètre TSK.

B - Mise à l'eau du BONGO. Un lourd dépresseur est choisi pour les traits horizontaux. Le poids du dépresseur est choisi en fonction de la vitesse de remorquage prévue.

© J. Sur



lement le poids (par l'intermédiaire d'un mousqueton) sous le centre de l'étoile et est relié au système supérieur d'ouverture des filets par un câble qui a le même rôle que les 3 suspentes du filet simple. Il en résulte que le filet triple est plus volumineux mais il est moins susceptible de se renverser pendant les manipulations. Dans les eaux côtières à fort courant, le maniement du triple est plus aisé, et particulièrement pendant le rinçage en intercalant un émerillon entre le câble de traction et la patte d'oie. Ceci est à déconseiller quand les efforts de traction sont très importants et irréguliers, ce qui est le cas en trait horizontal ou en trait vertical en grande profondeur, ce qui pourrait entraîner une rupture du câble.

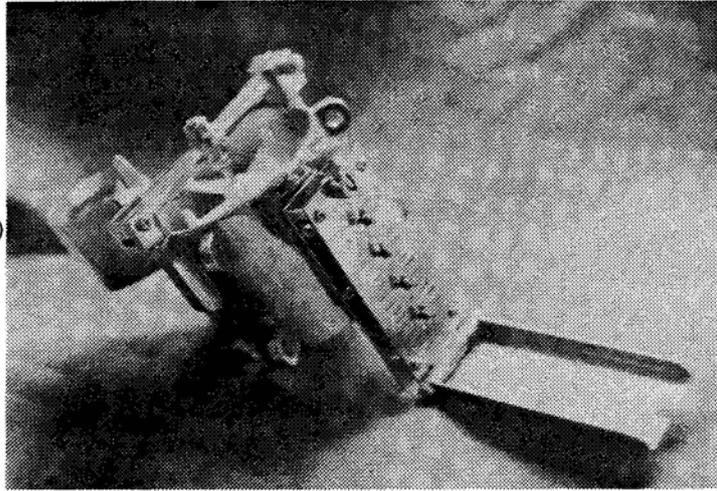
Trait horizontal : on utilise des filets simples. La différence de gréement avec les filets utilisés pour des traits verticaux est que l'on n'utilise ni suspente, ni poids. Parfois un dépresseur est attaché sous le cercle d'ouverture afin de maintenir l'horizontalité du filet, pendant la traction quand la vitesse est assez rapide (plusieurs noeuds).

Macroplancton (i.e. : en particulier les oeufs et les larves) : il est pêché en utilisant une des versions du filet Bongo qui est un filet standard utilisé dans les laboratoires des pêches. Il a été tout d'abord utilisé comme un filet standard des programmes MARMAP et la description originale a été donnée par Mac GOWAN et BROWN (1966). Des modifications ont été ensuite introduites et décrites par SMITH (1974). Cet échantillonneur est utilisé uniquement pour des traits obliques et horizontaux. L'engin est formé de deux tambours reliés par une barre rigide. Deux filets sont fixés sur les tambours desquels ils pendent librement sans structure rigide. Deux versions existent, le grand Bongo (diamètre des tambours : 61 cm) et le petit Bongo (diamètre des tambours : 20 cm). Les deux sont équipés en routine de filets dont les vides de maille sont 505 μm et 333 μm . Pendant nos campagnes, seul le grand Bongo a été utilisé, muni de filets de 475 μm et 315 μm de vide de maille. La taille (et le poids) du depresseur a été choisie en fonction de la vitesse de traction prévue et des conditions météorologiques. Le débit mètre T.S.K. utilisé pour le Bongo est le même que celui du WP₂.

Méthode de pêche : des traits verticaux et horizontaux font tous deux partie de travail mené en station. Le lieu et l'heure sont des références de routine de la station. Quelques caractéristiques de station, par exemple la profondeur d'eau, cependant, peuvent changer rapidement surtout dans les eaux côtières en fonction du cycle de marée ou de la dérive du bateau due aux courants de marée. Nous tenons compte des procédures spécifiques au trait vertical ou horizontal mais dans tous les cas et indépendamment du mode de pêche certaines étapes doivent être suivies :

- lire l'indication du sondeur et le noter,
- mettre le débit mètre à zéro,
- mettre le chronomètre à zéro,
- déclencher le chronomètre au moment où le filet commence à pêcher et lire l'heure (G.M.T.),
- arrêter le chronomètre quand la pêche se termine (moment où l'ouverture du filet sort de l'eau) et noter la durée du trait,
- soulever l'engin suffisamment au-dessus de l'eau afin que les filets soient copieusement rincés du haut en bas avec une manche à eau pour entraîner tout le plancton dans le(s) collecteur(s),
- amener le ou les filet(s) sur le pont en maintenant le ou les collecteur(s) en position verticale,

© G. Le Faivre - Lehoëuff



Débitmètre TSK.
Quatre aiguilles indiquent le nombre de tours de l'hélice (unités, dizaines, centaines, milliers).

Appareil de filtration MILLIPORE.
(Photo extraite du catalogue Millipore).



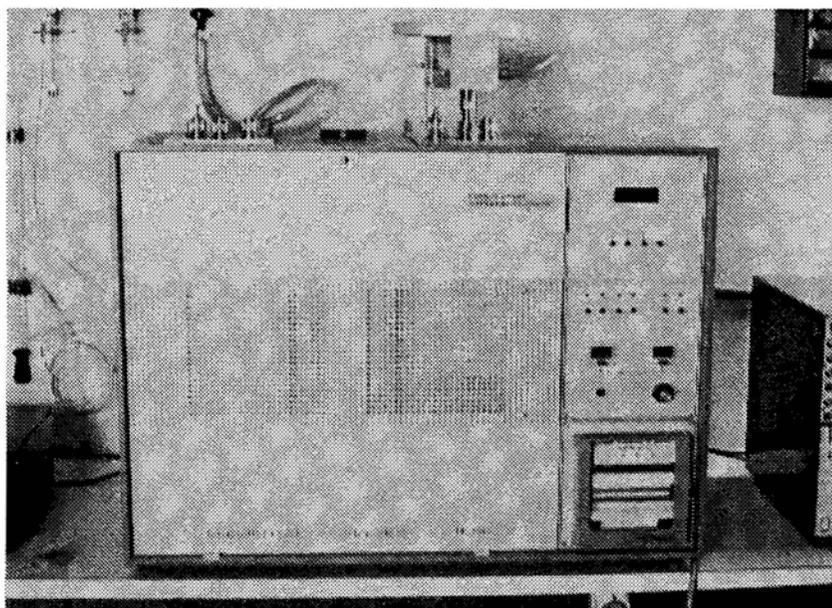
- lire le débit mètre et noter le nombre de tours,
- pencher les collecteurs pour concentrer le plancton, rincer les fenêtres filtrantes avec soin une ou plusieurs fois pour être certain de recueillir tout le plancton,
- transférer les échantillons des collecteurs dans les bocaux. A cette étape, le rinçage des collecteurs et des fenêtres ou oreilles des collecteurs est nécessaire une ou plusieurs fois encore. Les échantillons de biomasses sont filtrés immédiatement (à partir du collecteur ou du bocal). Les autres échantillons sont conservés dans les bocaux, le plus souvent, par addition de formol (30 % - 40 % de formaldéhyde) égal à 10 % environ du volume de l'échantillon (pour donner une concentration finale de 3 % - 4 % environ). Dans d'autres cas, les échantillons peuvent être conservés avec de l'éthanol 70 % par exemple,
- noter les références de l'échantillon (lettre, nombre, numéro de série de la soie utilisée pour la filtration de la biomasse).
- rincer abondamment le(s) filet(s) et le(s) collecteur(s). De cette manière les étapes décrites ci-dessus garantissent normalement un échantillonnage quantitatif satisfaisant, et évite le plus possible des erreurs de contamination entre échantillons récoltés successivement,
- remettre en place les collecteurs sur les filets, ramener le débit mètre à zéro et le chronomètre à zéro ; ainsi, le matériel est prêt pour la nouvelle station.

Pour un trait vertical (WP₂ ou filet 80 µm) la poulie compteuse est mise à zéro quand le cercle d'ouverture est descendu et affleure la surface de l'eau. Le filet est descendu jusqu'à 2-3 m au-dessus du fond (longueur du filet). Puis, la remontée du filet doit se faire à vitesse constante (1 ms⁻¹) comme le recommande l'UNESCO (1968). Il est essentiel de ne pas effectuer d'arrêt pendant la remontée pour éviter une perte de récolte. Si cela arrivait, par hasard, il faudrait jeter l'échantillon et recommencer entièrement au début. Les traits horizontaux se font en général en utilisant une force de traction de 1.5 à 2 noeuds pour le WP₂ et 2-3 noeuds pour le Bongo. Il est important de maintenir la vitesse de trait aussi constante que possible. Autrement, des changements dans la profondeur de pêche et une perte de pêche pourrait se produire. Les poids et les dépresseurs doivent être calculés en fonction des conditions de travail.

Stockage des échantillons : aucune procédure spéciale n'est exigée pour stocker les échantillons dans le formol ou dans l'alcool. Les échantillons de biomasses sont stockés dans des congélateurs portatifs qui peuvent fonctionner sur 220 volts C.A. ou 12 volts C.C. Ainsi les congélateurs peuvent-ils être en marche, sans arrêt depuis le bateau jusqu'au laboratoire, même pendant un transport par route.

METHODES UTILISEES AU LABORATOIRE

Les données sont obtenues sous des formes variées depuis les biomasses en poids sec, la composition en carbone et azote organique, le nombre d'individus ; pour différentes catégories de taille d'organismes correspondant aux différents filets utilisés. Toutes ces données quantitatives sont exprimées relativement à un volume ou une surface donnée qui exige la connaissance du volume d'eau filtré. Les débit-mètres utilisés sont de type T.S.K. (Tsurumi - Seiki - Kosakusho) muni d'un certificat d'étalonnage. La formule donnée dans le certificat d'étalonnage comprend un nombre de tours de l'hélice par seconde et



Analyseur CHN CARLO ERBA modèle 1106 muni d'un échantillonneur pour 50 échantillons.



Intégrateur DP 110.

une constante. Pour une estimation du volume, il faut faire intervenir le temps de trait et l'aire de l'ouverture du filet. La formule finale peut être résumée ainsi :

$$V = S (aN + kt) \text{ où :}$$

V est le volume d'eau filtrée (m^3)

S est la surface d'ouverture (m^2) : ex. : $0.25 m^2$ pour WP_2

N est le nombre de tours

t est le temps de trait (secondes)

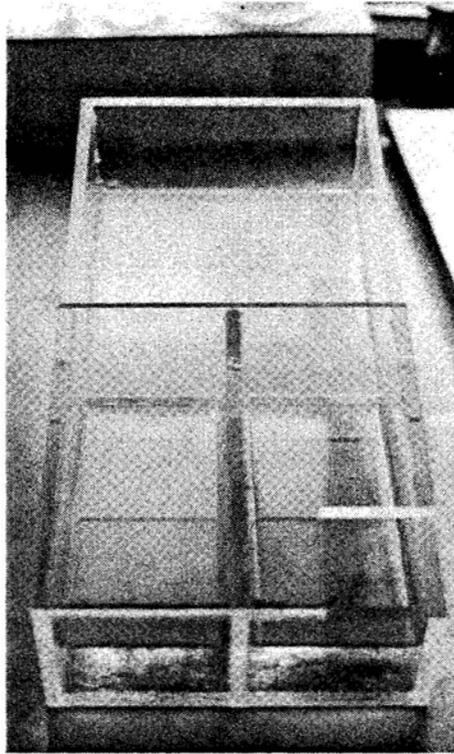
a est un facteur de proportionalité donné dans le certificat

k est une constante du même certificat

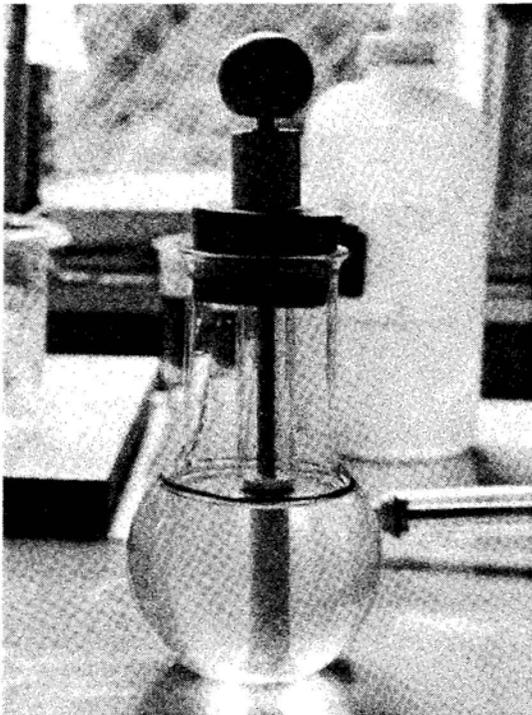
Données quantitatives globales : elles comprennent le poids sec (biomasses), la matière organique totale, la composition en carbone et azote organiques. Toutes ces variables sont obtenues par le même type de filet (le plus souvent $200 \mu m$) que celui utilisé pour la récolte de l'échantillon destiné au comptage des individus des différentes catégories taxonomiques. L'échantillon est filtré à bord sur un filtre en nylon prépesé et numéroté. Pour éviter toute perte de plancton le filtre est souvent d'une maille plus fine que le filet ($100 \mu m$ pour une récolte avec un filet $200 \mu m$) mais la sélectivité de l'échantillon est celle du filet et non du filtre, quand il est plus fin. Comme il a été mentionné ci-dessus, le filtre et sa charge en plancton sont immédiatement congelés à bord et gardés congelés jusqu'aux mesures de laboratoire. Elles comprennent plusieurs étapes qui fournissent des expressions différentes du plancton total. Selon le programme et les conditions de la mission seulement quelques-uns des paramètres ont été mesurés. La première étape des mesures est la mesure du poids sec et a été obtenue dans tous les cas. Dans les zones où la matière particulaire en suspension est très abondante, il peut arriver qu'une importante fraction minérale puisse entraîner un biais dans l'estimation du poids sec. Dans ce cas, il est souhaitable de connaître la matière organique totale dans le poids sec. Le carbone et l'azote organiques sont utiles pour l'étude des transferts le long des chaînes trophiques. Ils ne peuvent être estimés dans le même échantillon que la matière organique totale. Il est par conséquent souhaitable de faire les mesures sur plusieurs échantillons ou sur des fractions d'un seul échantillon. Dans le dernier cas, la valeur du poids sec est utilisée comme référence pour calculer à la fois la matière organique totale et le carbone et l'azote organiques.

Poids sec : l'échantillon congelé est séché à $60^\circ C$ pendant 48 heures, refroidi et pesé avec une précision de ± 0.1 mg avec une balance Mettler. Le poids du filtre en nylon est soustrait pour obtenir la valeur du poids sec.

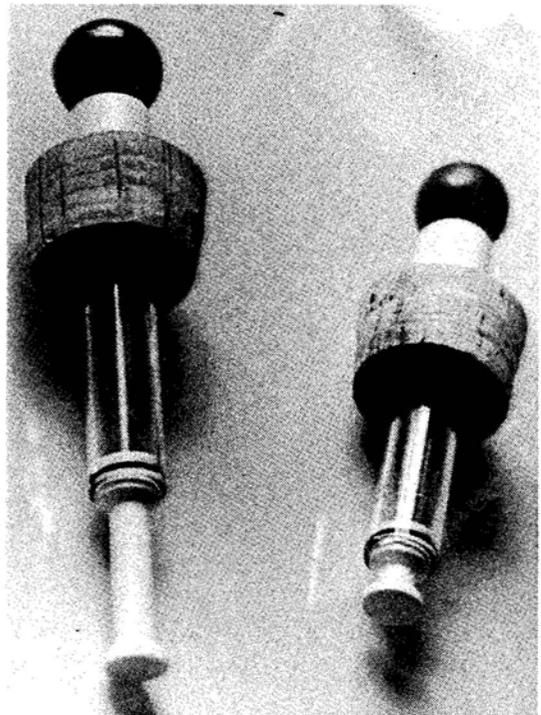
Matière organique totale : après la mesure du poids sec, le contenu de matière sèche contenue sur le filtre est récupéré par grattage du filtre et déposé dans un creuset. Toute la biomasse sèche n'est pas retrouvée, une petite fraction étant restée sur le filtre. Une pesée doit permettre de connaître la quantité exacte de matière sèche contenue dans le creuset. Cette quantité est utilisée soit en totalité, soit en partie pour l'estimation de la matière organique. La matière sèche dans le creuset est brûlée dans un four dont la température s'accroît par palier pendant 24 heures jusqu'à $550^\circ C$. Le four est ensuite maintenu à cette température pendant 48 heures et refroidi par palier pendant 48 heures. Le poids de la matière organique est la différence entre le poids de matière sèche initiale et le poids de cendres final.



Boite de MOTODA.



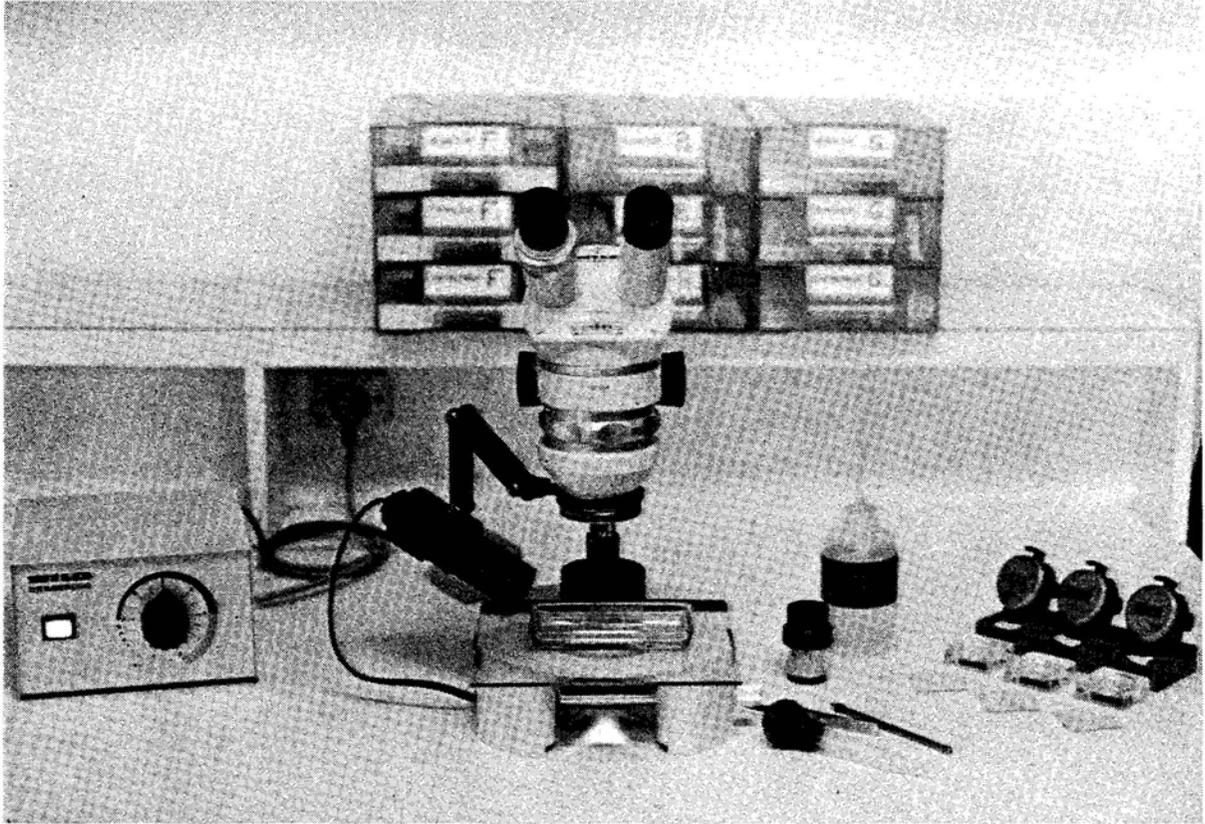
Pipette de Stempel dans un ballon jaugé (250 ml).



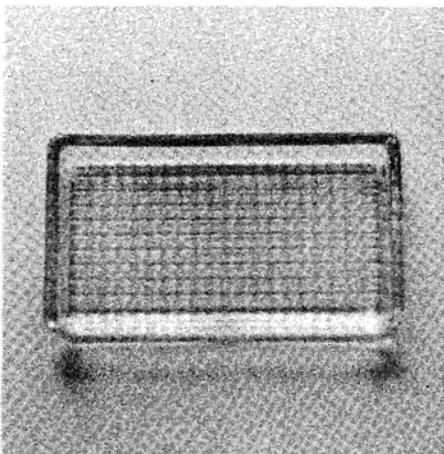
Deux pipettes de Stempel de 5 ml et de 1 ml.

Carbone organique et azote organique : ils sont obtenus à partir d'un poids sec connu de plancton par l'utilisation d'un analyseur C.H.N. Ce type d'appareil permet d'analyser de très petite quantité de matière sèche. L'échantillon est préalablement homogénéisé par broyage et une petite quantité de celui-ci est pesée avec une microbalance. Cette fraction est oxydée par combustion à haute température (environ 1000°C) en utilisant un catalyseur. Les gaz résultant sont ensuite réduits à température plus basse (400°C à 700°C), puis séparés (N₂, CO₂, H₂O) sur une colonne à chromatographie à une température encore plus faible (100°C ± 10°C). Ils sont enfin détectés par un système sensible aux variations de conductivité thermique, le signal est enregistré et est visualisé sous forme de pics. Les valeurs obtenues sont proportionnelles à l'aire sous les pics et sont automatiquement calculées par un intégrateur. Les résultats obtenus sont cependant relatifs et doivent être calibrés par l'analyse d'échantillons de références constitués d'une quantité précise de substance organique pur et de composition élémentaire connue (i.e. acétanilide). Deux types d'analyseurs ont été utilisés, un Hewlett Packard modèle 185 B avant 1984 et un Carlo-Erba modèle 1106 après. Les deux utilisent un flux de gaz inerte (hélium) à travers le circuit d'analyses mais ils diffèrent par un certain nombre de détails techniques. Dans l'analyseur Hewlett-Packard par exemple, les échantillons sont déposés dans des nacelles d'aluminium avec le catalyseur (MnO). Dans l'analyseur Carlo Erba, les échantillons sont introduits dans des capsules de métal oxydable (étain) qui sont brûlés avec leur contenu. Le catalyseur est différent (Cr₂O₃) et est contenu dans une partie du circuit d'analyse où les gaz chauds sont entraînés. Dans les deux appareils, des échantillons standard ont été analysés mais aussi des blancs par exemple dans le Hewlett Packard deux ou trois analyses de Nacelles contenant uniquement le catalyseur permet de vérifier qu'il ne contient pas d'azote ou une quantité infime. Pour le Carlo-Erba, parfois utilisé pour doser le phytoplancton sur filtre en fibre de verre une vérification dans le même souci peut-être faite en analysant une partie de filtre seul. Dans tous les cas des précautions rigoureuses doivent être prises pour éviter toute contamination des échantillons par un apport extérieur de matière organique. Ainsi, il est nécessaire de nettoyer les nacelles d'aluminium préalablement aux pesées avec de l'éthanol et de les stocker avant usage dans un four à 400°C. Des mesures identiques doivent être prises avec chaque instrument (spatules, pinces) nécessaire aux manipulations des échantillons qui ne doivent jamais venir en contact avec les mains. Ne pas fumer est, bien entendu, absolument indispensable.

Analyse taxonomique : elle consiste dans l'examen de l'échantillon ou d'une partie de l'échantillon sous loupe binoculaire (ou stéréomicroscope) pour identifier les catégories taxonomiques (les espèces si cela est possible dans chaque catégorie). Ce travail est fait sur les échantillons formolés, récoltés avec des filets différents (80 µm, 200 µm, 315 µm, 515 µm). Avant que cette analyse soit entreprise (de quelques jours à plusieurs mois après la récolte), l'examen des échantillons à l'oeil nu, à bord même, peut parfois apporter des informations avec possibilité éventuelle de modifier une stratégie d'échantillonnage au cours d'une mission en tenant compte des résultats. Ceci peut se faire à bord, par un spécialiste entraîné. Ce n'est pas fréquent. On peut aussi envisager un examen immédiat des échantillons avec une loupe à bord mais cela n'a pas été possible dans les missions décrites ici, effectuées sur des petits bateaux parfois sans laboratoire suffisant mais surtout sans stabilité suffisante pour ces travaux.



Loupe binoculaire (ou stéréomicroscope) WILD M5.



Cuve de DOLLFUS.
Elle comporte 200 carrés
de 5 mm de côté.

Sous-échantillonnage : la taille du prélèvement varie selon l'endroit et le moment. La plupart des échantillons sont trop abondants pour que tous les individus soient comptés. Il est par conséquent nécessaire de faire des sous-échantillons correspondant à une fraction connue de l'échantillon total. Différentes techniques sont utilisées pour cela entre lesquelles le choix dépend des caractéristiques de l'étude en cours. Le sous-échantillonnage peut être évité si l'abondance est rapportée à une échelle "subjective" (cf. FRONTIER, 1969). Ceci aide considérablement l'analyse alors plus rapide, mais ce procédé est surtout valable si tous les échantillons peuvent être comparés par un même spécialiste. Mais, dans la mesure où les études décrites ici s'étendent sur un grand nombre d'années, concernent plusieurs zones géographiques et pour lesquelles les comptages sont effectués par plusieurs personnes il a semblé nécessaire d'utiliser une méthode de comptage "standard" qui utilise des méthodes de sous-échantillonnages simples, comme la boîte de Motoda, le Folsom splitter et la pipette de Stempel.

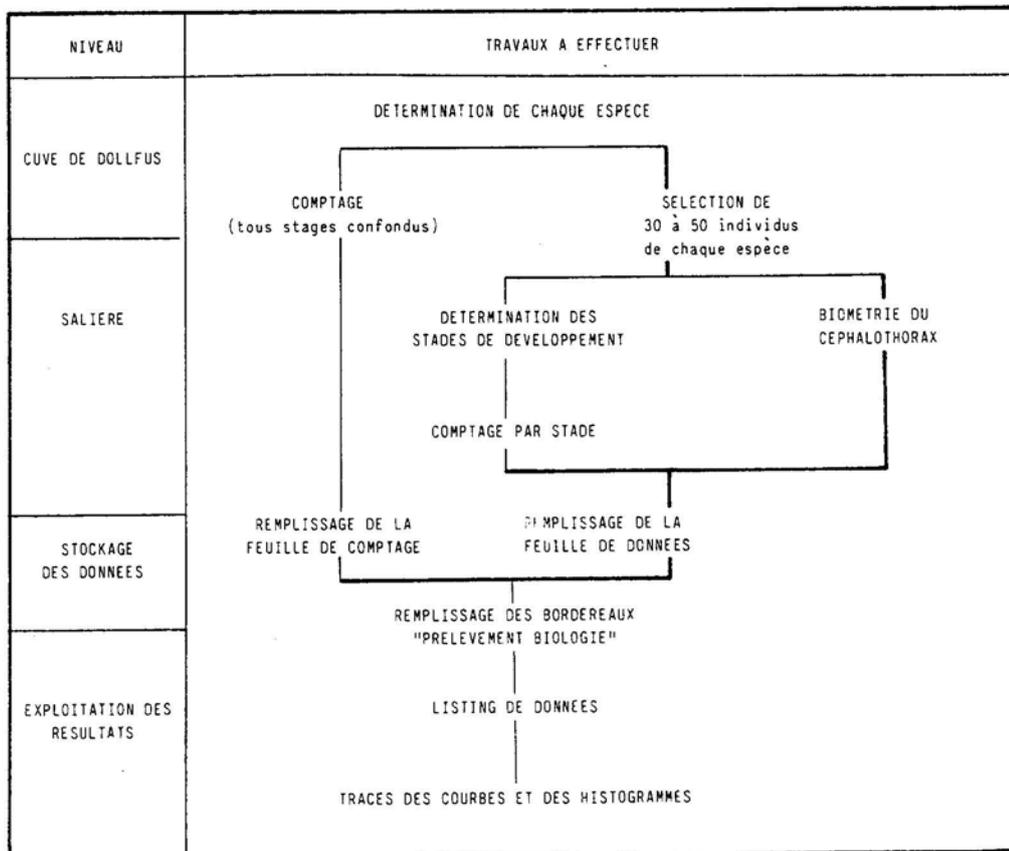
La boîte de Motoda et le Folsom splitter divisent tous les deux l'échantillon en deux moitiés. Une des deux moitiés peut, à son tour, être divisée en deux et ainsi de suite jusqu'à "n" divisions, et un sous-échantillonnage de 2^n . Le principal inconvénient est que la division n'étant jamais parfaite, chaque division entraîne une erreur qui va croître exponentiellement. La technique est cependant acceptable pour les petits échantillons qui seront, par conséquent, peu divisés. Ceci a été assez souvent le cas dans nos études, puisque un trait vertical dans les eaux côtières correspond souvent à un volume d'eau filtrée variant de 2 à 10 m³ et ne requiert pas un facteur élevé de sous-échantillonnage.

Pour l'utilisation de la pipette de Stempel, l'échantillon est d'abord dilué dans un volume connu d'un flacon. La pipette (qui est en fait une seringue à piston), est ensuite utilisée pour prélever une fraction de volume déterminé (1 ml, 5 ml ...), après avoir homogénéisé le plancton en suspension. La seringue de 5 ml est couramment employée, ce qui donne un fractionnement de 1/50 quand l'échantillon a été ajusté à 250 ml. On peut répéter la même procédure plusieurs fois (en additionnant des fractions élémentaires). Mais le procédé devient long et peu pratique. La pipette de Stempel a été utilisée pendant nos travaux, essentiellement pour prélever, en une seule fois, une très petite fraction d'un échantillon très abondant. Ceci a été le cas pour faciliter le comptage des noctiluques (dinoflagellés) à Gravelines quand les abondances atteignent, en été par exemple, 10⁵ individus/m³.

Comptage : la fraction à compter est placée dans une cuve de Dollfus, qui est une cuvette en verre rectangulaire dont le fond est divisé en 200 carrés (10 lignes, 20 colonnes), les carrés ont 5 mm de côté et ont des bords en relief. Ces caractéristiques permettent aux organismes d'être repérés dans un carré donné de la cuvette. Le comptage se fait facilement en examinant les carrés ligne après ligne, ou colonne après colonne, toujours dans un ordre fixé au début du comptage. La fourchette de confiance pour les erreurs de sous-échantillonnages devient plus étroite quand le nombre d'individus comptés pour une espèce donnée augmente. Un compromis doit être cependant trouvé entre la nécessité de faire des estimations précises, ce qui demande le comptage de nombreux individus et le temps qu'il est indispensable de fournir pour ce comptage. FRONTIER (1972) a montré qu'un compromis raisonnable était trouvé quand 100 individus étaient comptés pour une

Clé de détermination des Para-Pseudocalanidae communs en Manche et Atlantique. Les critères morphologiques utilisés sont les pattes natatoires. (D'après Le Fèvre J. 1971).

	<i>Paracalanus parvus</i>	<i>Pseudocalanus elongatus</i>	<i>Clausocalanus sp.</i>	<i>Ctenocalanus vanus</i>
P₁				
P₂	Re ₃ B ₂ 	Re ₃ B ₂ 	Re ₃ B ₂ 	Re ₃ B ₂
P₃	Re ₃ Comme P ₂ B ₂ Comme P ₂	Re ₃ Comme P ₂ B ₂ Comme P ₂	Re ₃ Comme P ₂ B ₂ Comme P ₂	Re ₃ Comme P ₂ B ₂ Comme P ₂
P₄	Re ₃ Comme P ₂ & P ₃ B ₂ Comme P ₂ & P ₃	Re ₃ Comme P ₂ & P ₃ B ₂ Comme P ₂ & P ₃	Re ₃ Comme P ₂ & P ₃ B ₂ Comme P ₂ & P ₃	Re ₃ Comme P ₃ B ₂ Comme P ₂ & P ₃
P₅	 	♀: La présence d'une P ₅ (fig.3) est une anomalie. 	 	

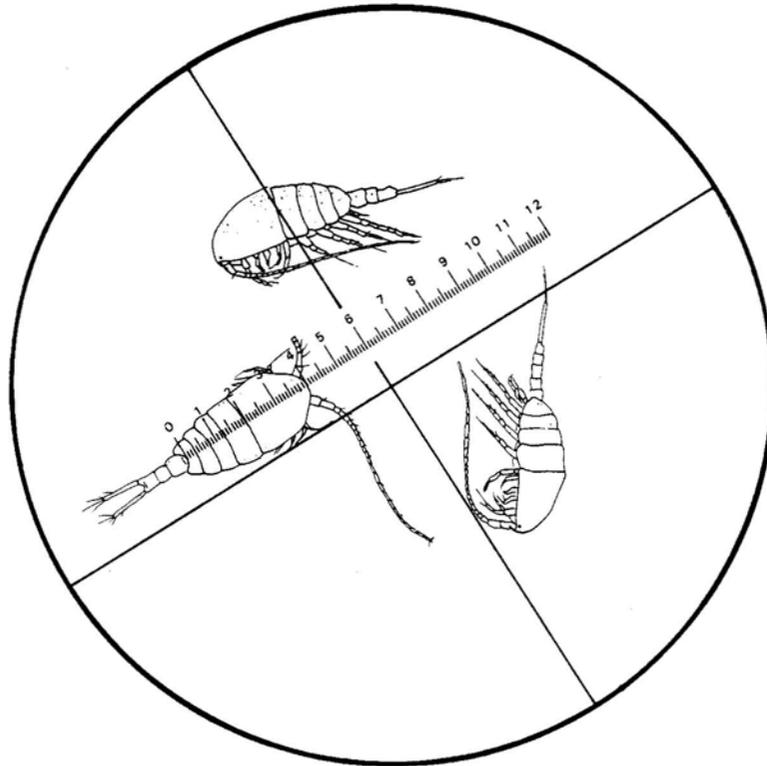


catégorie taxonomique donnée. Le sous-échantillon nécessaire à ce comptage est par conséquent d'autant plus petit que l'espèce est plus abondante. Les sous-échantillons les plus petits doivent donc être comptés les premiers, puis les sous-échantillons de plus en plus grands. Le comptage peut être fait, pas à pas, jusqu'à ce que le seuil pour chaque taxon soit atteint, les espèces rares étant comptées dans l'échantillon total. Cette procédure scrupuleusement suivie demande encore trop de temps dans le cas de nos missions où un très grand nombre d'échantillons doit être exploité dans un temps déterminé et limité. Les espèces les plus abondantes, celles de plus grand intérêt écologique, sont par conséquent comptées en appliquant strictement la méthode de FRONTIER, les autres espèces dans des fractions variables ($1/2$, $1/4$, $1/8$...). L'échantillon total est examiné à l'oeil nu et au binoculaire, mais rapidement pour repérer et compter les individus rares mais de grande taille : Mysidacés, larves de Poissons, Chaetognathes, qui représentent une large biomasse ou apporte une information quantitative supplémentaire. Le désavantage de cette méthode est que les espèces rares et très petites peuvent ne pas être vues. Quand elles sont repérées cependant en nombre très faible dans un grand échantillon, l'estimation quantitative est mauvaise et il est parfois préférable de donner les résultats sous forme de présence et absence (+, -). Pour les organismes dont l'estimation quantitative est possible, le nombre dans l'échantillon est obtenu en multipliant le nombre compté par le facteur de fractionnement et le résultat est ensuite donné en unité de volume ou de surface.

De temps en temps, on trouve dans la cuvette de comptage des individus qui ne peuvent être identifiés immédiatement. Ces individus sont prélevés et mis de côté pour les déterminer après le comptage ; ensuite ils sont examinés au microscope et disséqués si nécessaire en utilisant des clefs de détermination. Un problème particulier a été posé, par exemple, pour la détermination des copépodes des familles Paracalanidae et Pseudocalanidae qui sont toujours très abondants dans les échantillons dont les espèces (i.e. Paracalanus parvus, Pseudocalanus minutus, Ctenocalanus vanus et Clausocalanus sp. dans la région considérée et les deux premiers vraiment très communs) sont presque impossible à distinguer sous loupe binoculaire (sauf pour un spécialiste très entraîné à ce type de détermination). Leur identification est un travail long et fastidieux qui ne peut concerner tous les individus. Cependant, on peut obtenir quelques informations compte tenu de l'abondance de certaines espèces qui ont des caractéristiques écologiques différentes, et pour lesquelles le comptage de la somme totale n'a pas de sens. Le groupe Para-Pseudocalanidae est identifié selon les critères décrits par J. LE FEVRE (1971). Dans un premier temps, l'ensemble des espèces est compté comme un taxon dans un comptage de routine. Les 30 ou 40 premiers individus sont prélevés dans l'ordre où ils sont rencontrés sans sélection, sont examinés au microscope puis déterminés grâce aux critères morphologiques des pattes natatoires. Les espèces, les sexes et leur stade de maturité (femelles ovigères) sont distingués. Dans l'ensemble du comptage de l'échantillon tous les organismes ne sont pas déterminés au niveau de l'espèce mais parfois au niveau du genre ou même de la famille ou groupe ; ce niveau de détermination d'un individu n'est pas toujours fonction de son importance dans l'écosystème. Malheureusement, force est de constater qu'un individu peut être déterminé avec peu de précision pour la seule raison de la difficulté et du temps de travail. Il peut y avoir un compromis entre qualité de l'information fournie et du temps exigé pour l'obtenir.

Etude de la dynamique de population des copépodes : elle utilise les échantillons récoltés au filet de 80 μ m (vide de maille). Trois espèces considérées comme importantes sont étudiées : Temora longicornis, Centropages hamatus et Acartia clausi. Comme pour le comptage taxonomique les échantillons

**Biométrie du
cephalothorax de
Temora longicornis
vu dans le plan
longitudinal, face
dorsale.**



 unité micrométrique

Stades de développement de 3 espèces de Copépodes : *Temora longicornis*, *Centropages hamatus*, *Acartia clausi*.

Stade	Nombre de paires de pattes	Nombre de segments abdominaux	Critères de sélection	Remarques	Développement		
					Exemple <i>Temora longicornis</i>		Descriptif
					Abdomen ♀	P ₅ ♂	
1 2 3	2 3 4	2	a) nombre de paires de pattes b) nombre de segments thoraciques			- Sexes non distingués - Tous les appendices de la région céphalique sont présents, - développement du thorax par mues successives avec une nouvelle paire de pattes à chaque fois.	
4♀ 4♂	5 5	3	a) nombre de segments abdominaux. b) stade de maturité du segment génital ♀ (1er segment abdominal),	♀ segment génital peu renflé, ♂ légère dissymétrie de la P5			♀ et ♂ - les sexes sont distinguables. ♀ début du renflement du génital. ♂ apparition de la dissymétrie de la P5 droite.
5♀ 5♂	5 5	3 4	c) différenciation morphologique de la P5 ♂ et de la A1 ♂ (A1 droite).	♀ segment génital renflé ♂ Dissymétrie de la P5 marquée.			Les caractères adultes s'accroissent.
Adulte ♀ Adulte ♂	5 5	3 4		♀ segment génital très renflé, ♂ P5 complètes, ♀ et ♂ état définitif de l'individu.			♀ segment génital très renflé, ♂ dissymétrie très nette de la P5 et de l'A1 (droites). ♀ et ♂ - l'individu a terminé sa croissance.

in SARS (1903) - KRAEFFT (1910) - GAUDY (1962) - Légende : ♀ = femelle ♂ = mâle A₁ = première antenne P₅ = 5ème patte

sont vus sous loupe binoculaire, dans une cuve de Dollfus. Les 30 ou 40 individus de chaque espèce sont comptés par stade (copépodites et adultes) et leur céphalothorax est mesuré, en utilisant un micromètre oculaire. Les résultats sont extrapolés à tous les individus de la population de l'échantillon de la même façon que pour l'analyse taxonomique des Para-Pseudocalanidae. Ce travail fournit des données qui peuvent servir aux études de dynamique de population depuis l'analyse des variations dans le temps de la structure de la population d'une espèce donnée, la reconnaissance des générations ou cohortes, leur temps de renouvellement, l'influence des facteurs d'environnement sur la taille et la durée de l'intermue, ceci dépend de la qualité des données et de la fréquence des prélèvements.

Traitement des données et stockage : toutes les données (biomasses, composition élémentaire et spécifique, stades comptés) sont exprimées par unité de volume ou par unité de surface (pour des traits verticaux). La référence de l'unité de volume est 10 m^3 pour une analyse taxonomique (pour éviter des nombres fractionnaires pour les espèces rares) et le m^2 pour les autres types de données. On utilise les formules suivantes pour un taxon compté :

$$N_V = n_i \times f_i \times 10/V$$

$$N_S = n_i \times f_i \times h/V$$

où N_V est le nombre d'individus par unité de volume (10 m^3)

N_S est le nombre d'individus par unité de surface (m^2)

n_i est le nombre d'individus comptés pour le taxon i

f_i est le fractionnement correspondant

V est le volume filtré (m^3) calculé comme il a été indiqué précédemment

h est la hauteur de la colonne d'eau (sonde, m)

Les données sont enregistrées sous une forme normalisée, pour être stockées et exploitées par ordinateur afin de fournir des tableaux, des figures ... Les données taxonomiques sont entrées dans un certain ordre, sous forme de code alphanumérique faisant référence au genre et à l'espèce (e.g. TEMO LON pour Temora longicornis) et ceci pour les comptages spécifiques ou tous les stades sont confondus. Le code est modifié pour archiver les données de dynamique de population (e.g. TEMO 002 pour le stade copépodite 2 de Temora longicornis) et l'espace prévu permet de noter la longueur du céphalothorax correspondante. Les graphes et les histogrammes peuvent être obtenus automatiquement et tracés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUGIS P., 1974 - Ecologie du Plancton Marin. Vol. 2 : Le Zooplancton. Masson et Cie, Paris, 200 p.
- CASSIE R.M., 1963 - An experimental study of factors inducing aggregation in marine plankton. New Zealand Journal of Science, 2, 339-365.
- FRONTIER S., 1969 - Sur une méthode d'analyse faunistique rapide du zooplancton. Journal of experimental marine Biology and Ecology, 3, 18-36.

- FRONTIER S., 1972 - Calcul de l'erreur sur un comptage de zooplancton. Journal of experimental marine Biology and Ecology, 8, 121-132.
- GAUDY R., 1962 - Biologie des copépodes pélagiques du golfe de Marseille. Recueil des Travaux de la Station marine d'Endoume, 27, 93-184.
- KRAEFFT F., 1910 - Uber das Plankton in Ost- and Nordsee und den Verbindungsgebieten, mit Berücksichtigung der Copepoden. Wissenschaftlich Meeresuntersuchungen Abteilung Kiel, 11, 29-99.
- LE FEVRE J., 1971 - Evaluation des caractéristiques d'emploi d'un échantillonneur de plancton haute vitesse, suivie d'exemples d'application à l'étude du zooplancton de la pointe de Bretagne. These de Doctorat de Spécialité (Oceanographie Biologique), Université de Paris 6, 179 p.
- Mac GOWAN J.A. & BROWN D.M., 1966 - A new opening closing paired zooplankton net. Scripps Institution of Oceanography, Reference Series, 66-23, 56 p.
- OMORI M. & IKEDA T., 1984 - Methods in Marine Zooplankton Ecology. John Wiley and Sons, New-York, 331 p.
- SMITH P. & RICHARDSON S.L., 1977 - Standard techniques for fish egg and larvae surveys. FAO Fisheries technical Papers, 175, 100 p.
- SARS G.O., 1903 - An account of the Crustacea of Norway. Vol. 4 : Copepoda Calanoida. The Bergen Museum, Bergen, 171 p., 108 pl.
- UNESCO, 1968 - Zooplankton sampling. UNESCO Monographs on Oceanographic Methodology, 2, UNESCO Press, Paris, 174 p.

