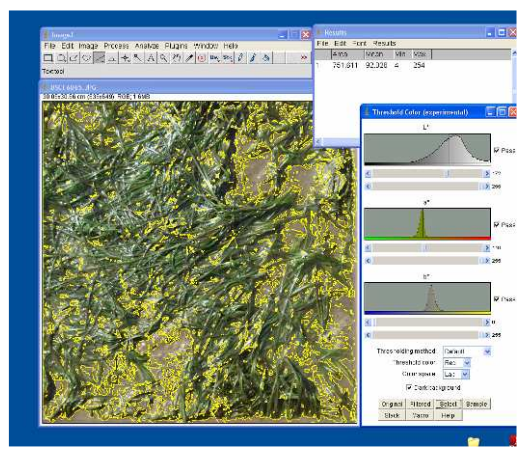
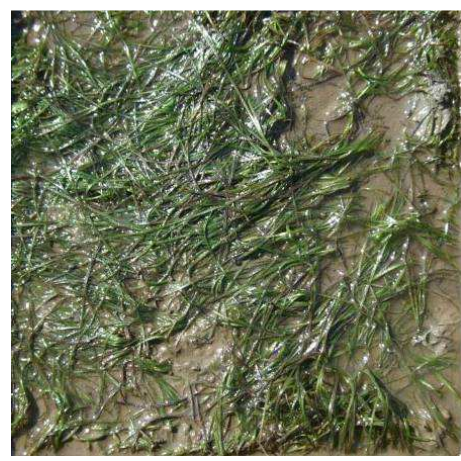


Isabelle Auby – Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources d’Arcachon  
Pierre - Guy Sauriau - LIENSs, CNRS, Université de La Rochelle  
Hélène Oger-Jeanneret – Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources Morbihan Pays de la Loire  
Christian Hily – UBO, Institut Universitaire Européen de la Mer - Laboratoire de l’Environnement MARin (LEMAR)  
Sébastien Dalloyau – LPO  
Claire Rollet, Laboratoire Environnement et Ressources de Bretagne nord  
Gilles Trut- Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources d’Arcachon  
Mireille Fortune – Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources Morbihan Pays de la Loire  
Martin Plus- Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources d’Arcachon  
Loïc Rigouin- Ifremer, Laboratoire Environnement et Ressources d’Arcachon

Mars 2014. RST/LER/AR/14.01

# Protocoles de suivi stationnel des herbiers à zostères pour la Directive Cadre sur l’Eau (DCE) *Zostera marina - Zostera noltei*

Version 2



**REBENT**  
réseau benthique



**Protocoles de suivi stationnel des  
herbiers à zostères pour la Directive  
Cadre sur l'Eau (DCE)**

***Zostera marina - Zostera noltei***



*Nous remercions tous les collègues qui ont testé les protocoles sur le terrain, participé à l'interprétation des photos et à l'amélioration du protocole. Leurs remarques et commentaires nous ont permis d'améliorer la version précédente de ce rapport et de rédiger les protocoles d'échantillonnage définitifs.*

**Ifremer LER/BN Dinard** : Daniel Gerla, Patrick Le Mao, Aurore Lejolivet.

**Ifremer LER/MPL La Trinité-sur-mer et Nantes** : Jean-Pierre Allenou, Sandra Fauré.

**Ifremer LRH Anglet** : Marie Noëlle de Casamajor, Florence Sanchez.

**Ifremer DYNECO Nantes** : Alice Lamoureux, Anaëlle Pothier.

**CNRS LIENSs** : Pauline Cajeri, Cécile Curti.



# sommaire

<b>Protocole de suivi stationnel de l'herbier de <i>Zostera marina</i> dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Echantillonnage sur le terrain</b> .....	<b>1</b>
1.1. Date et fréquence d'acquisition .....	1
1.2. Station et points .....	1
1.3. Matériel.....	2
1.4. Zostères et macroalgues.....	2
1.5. Epiphytes et wasting disease .....	2
1.6. Sédiment.....	3
<b>2. De retour au laboratoire</b> .....	<b>3</b>
2.1. Zostères.....	3
2.1.1. Densité mesurée <i>in situ</i> .....	3
2.1.2. Densité et biométrie sur l'échantillon prélevé.....	3
2.1.3. Biomasses .....	4
2.1.4. « Wasting disease » et épiphytes .....	4
2.2. Macroalgues .....	5
2.3. Sédiment.....	6
2.3.1. Granulométrie .....	6
2.3.2. Matière organique .....	6
<b>Proposition pour un nouveau protocole de suivi stationnel de <i>Zostera noltei</i> dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Contexte et stratégie pour un protocole simplifié</b> .....	<b>7</b>
1.1. Contexte .....	7
1.2. Stratégie .....	7
<b>2. Echantillonnage sur le terrain</b> .....	<b>8</b>
2.1. Date .....	8
2.2. Station et points .....	8
2.3. Matériel.....	10
2.4. Taux de recouvrement des zostères et biomasses de macroalgues .....	10
2.5. Sédiment.....	11
<b>3. Au laboratoire</b> .....	<b>12</b>
3.1. Taux de recouvrement des zostères .....	12
3.2. Macroalgues .....	12
3.3. Sédiment.....	13
3.3.1. Granulométrie .....	13
3.3.2. Matière organique .....	13
<b>4. Calcul du taux de recouvrement par station</b> .....	<b>14</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>15</b>
<b>Annexe 1 : Elaboration du rapport biomasse épigée vs. taux de recouvrement</b>	<b>16</b>
<b>1. Contexte de l'action</b> .....	<b>16</b>
<b>2. Méthodes</b> .....	<b>17</b>

---

<b>3. Résultats et discussion</b> .....	<b>17</b>
3.1. Données brutes.....	17
3.2. Représentation graphique et statistiques .....	18
<b>4. Correspondances entre données acquises avec l'ancienne méthode et la nouvelle</b> .....	<b>22</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>22</b>
<b>Annexe 2 : Utilisation du logiciel Image J</b> .....	<b>23</b>
<b>Annexe 3 : Grille de suivi – Support géoréférencé Utilisation du GPS Garmin</b> ....	<b>28</b>
<b>1. Première étape : Création de la grille de suivi</b> .....	<b>28</b>
<b>2. Deuxième étape : Transfert de la grille vers le GPS pour le positionnement des stations sur le terrain</b> .....	<b>35</b>
2.1. Installation du logiciel DNRGPS (GARMIN) .....	36
2.2. Transfert de la grille vers le GPS.....	40
<b>3. Troisième étape : Valider les positions d'observation pour l'année en cours</b> ..	<b>41</b>



## Protocole de suivi stationnel de l'herbier de *Zostera marina* dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)

Ce protocole reste quasiment inchangé par rapport au précédent (Hily *et al.*, 2007), si ce n'est que les organismes herbivores ne sont plus pris en compte.

### 1. Echantillonnage sur le terrain

#### 1.1. Date et fréquence d'acquisition

- En Manche et Bretagne au printemps.
- En Aquitaine, fin août - début septembre, période de biomasse maximale.

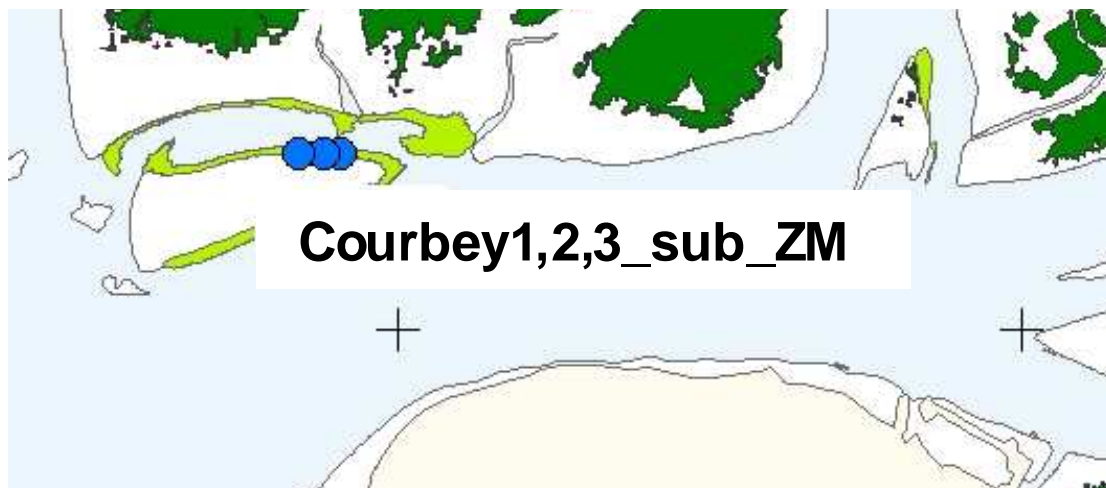
L'échantillonnage est annuel.

*NB : si nécessaire, faire une demande d'autorisation de prélèvement scientifique auprès de la DREAL.*

#### 1.2. Station et points

Selon l'étendue des herbiers, on échantillonne une à trois stations de *Zostera marina* par masse d'eau.

Chaque station est composée de trois sous-stations (dénommées points), réparties sur l'ensemble du site et situées sur un même niveau bathymétrique.



Localisation des 3 points composant la station : Exemple de la masse d'eau « Arcachon amont ».

Les trois points composant la station doivent être choisis dans un secteur homogène et représentatif de l'herbier considéré, en évitant les zones de bordures.

Il conviendra, lors de l'échantillonnage, de vérifier que le type biosédimentaire correspond bien à celui décrit lors des campagnes précédentes.

Tous les prélèvements sont réalisés dans les zones couvertes par les zostères.

Au 31 décembre 2013, les stations échantillonnées dans les masses d'eau DCE étaient les suivantes

Masse d'eau	Dernière superficie connue	Stations
Arcachon amont	105 ha	Courbey_sub_ZM
Golfe du Morbihan	1100 ha	Arradon HZM
Concarneau (large)	300 ha	Glénan HZM
Iroise (large)	50 ha	Molène HZM
Rade de Brest	65 ha	Roscanvel HZM
Les Abers (large)	190 ha	Sainte-Marguerite HZM
Baie de Morlaix	235 ha	Callot HZM
Perros-Guirec (large)	7 ha	Les Sept Iles HZM
Paimpol – Perros-Guirec	670 ha	L'Arcouest HZM
Rance Fresnaye	285 ha	Saint Malo Petit Bé HZM
Archipel Chausey	330 ha	Chausey HZM
Ouest Cotentin	160 ha	Bréhal HZM Gouville HZM

Le nombre de stations est susceptible d'évoluer par la suite.

### 1.3. Matériel

- Truelle
- Cadres 0,04 m<sup>2</sup> (20 cm de côté) ou 0,1 m<sup>2</sup> (31,6 cm de côté)
- Carottiers sédiment granulométrie (9 cm de diamètre)
- Carottiers sédiment MO (diamètre 3-4 cm)
- Poches plastique pour les végétaux
- Pots pour sédiment
- Appareil photo étanche si jugé utile

### 1.4. Zostères et macroalgues

Sur chaque point, les opérations sont les suivantes :

- Comptage du nombre de pieds de zostères in situ dans deux cadrats de 0,1 m<sup>2</sup> (ou 2 fois 2 cadrats de 0,04m<sup>2</sup> : dans ce cas, les densités dans 2 cadrats seront ajoutées).
- Prélèvement de deux cadrats de 0,1 m<sup>2</sup> (ou deux fois deux cadrats de 0,04 m<sup>2</sup>) sur 5 à 10 cm de profondeur (découpage avec une truelle). L'ensemble de la matre (pieds de zostères avec rhizomes, macroalgues, sédiment) est mis en sacs séparément si surface = 0,1 m<sup>2</sup>, deux par deux si deux fois 0,04 m<sup>2</sup>.
- Si possible, prendre quelques photos du site.

### 1.5. Epiphytes et « wasting disease »

Dix pieds de zostères sont prélevés aléatoirement autour de chaque point et mis en sac pour quantifier les algues épiphytes et le wasting disease.

Il faut veiller à prélever des pieds intacts (feuilles non-cassées) jusqu'au rhizome, et à ne pas écraser ces sacs.

## 1.6. Sédiment

- Pour la **granulométrie**, prélever 1 carotte par point, soit 3 par station (5 cm de profondeur, 9 cm de diamètre) ; les 3 carottes sont ensuite réunies dans le même pot.
- Pour la **matière organique**, prélever 3 carottes par point, soit 9 par station (5 cm de profondeur, 3 cm de diamètre) ; mettre chaque carotte dans un pot en plastique ou un sac numéroté.

## 2. De retour au laboratoire

Au retour du terrain, tamiser les prélèvements de zostères + macroalgues sur maille de 1 ou 2 mm. Séparer les zostères des macroalgues et trier ces dernières par catégorie : vertes, rouges, brunes.

Congeler à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

S'il est impossible de trier les macroalgues au retour au laboratoire, on peut congeler immédiatement les échantillons. Dans ce cas, les algues seront séparées avant l'analyse de biomasse (§2.2).

### 2.1. Zostères

#### 2.1.1. Densité mesurée *in situ*

##### **Saisie Quadrige<sup>2</sup>** :

Pour chacun des 6 échantillons (2 par point)

- Surface échantillonnée
- Nombre de pieds comptés dans les cadrats sur le terrain

#### 2.1.2. Densité et biométrie sur l'échantillon prélevé

Pour chacun des 6 échantillons (2 par point)

- dénombrer les pieds.

Réaliser des mesures biométriques sur l'ensemble des pieds :

Nombre de feuilles par pied puis, pour chaque feuille :

- longueur de la gaine (depuis le nœud basal jusqu'en haut de la gaine)
- longueur du limbe (depuis le haut de la gaine jusqu'en haut de la feuille)
- largeur de la feuille (mesurée dans la zone moyenne)

*NB : Les feuilles sont numérotées de la plus jeune (1. La plus courte, la moins épiphytée et la moins atteinte par la maladie) à la plus vieille (X : La plus longue, la plus épiphytée et la plus atteinte par la maladie).*

##### **Saisie Quadrige<sup>2</sup>** :

Pour chacun des 6 échantillons (2 par point)

- Surface échantillonnée
- Nombre de pieds

Pour chaque échantillon et chaque pied (nombre variable par échantillon)

- Nombre de feuilles

Pour chaque feuille (nombre variable par pied)

- Longueur gaine (cm)
- Longueur limbe (cm)
- Largeur limbe (mm)

A partir de ces données, on calcule une surface totale des limbes par échantillon qui sera reportée dans Quadrigé<sup>2</sup> au niveau de la saisie « échantillon ».

### 2.1.3. Biomasses

- Mesurer le poids sec (après 48 h à l'étuve à 60°C) de l'ensemble des limbes (depuis le haut de la gaine jusqu'en haut de la feuille).
- Mesurer le poids sec (après 48 h à l'étuve à 60°C) de l'ensemble des gaines (depuis le nœud basal jusqu'au sommet de la gaine).
- Mesurer le poids sec (après 48 h à l'étuve à 60°C) des rhizomes + racines.

*NB : Ces mesures permettent, entre autres, d'obtenir des rapports biomasse/surface des feuilles, qui seront ensuite utilisés pour rapporter les biomasses d'épiphytes à une biomasse de feuilles (dont on ne mesurera que la surface).*

#### **Saisie Quadrigé<sup>2</sup> :**

Pour chacun des 6 échantillons (2 par point)

- Biomasse PS limbes (g)
- Biomasse PS gaines (g)
- Biomasse PS rhizomes+racines (g)

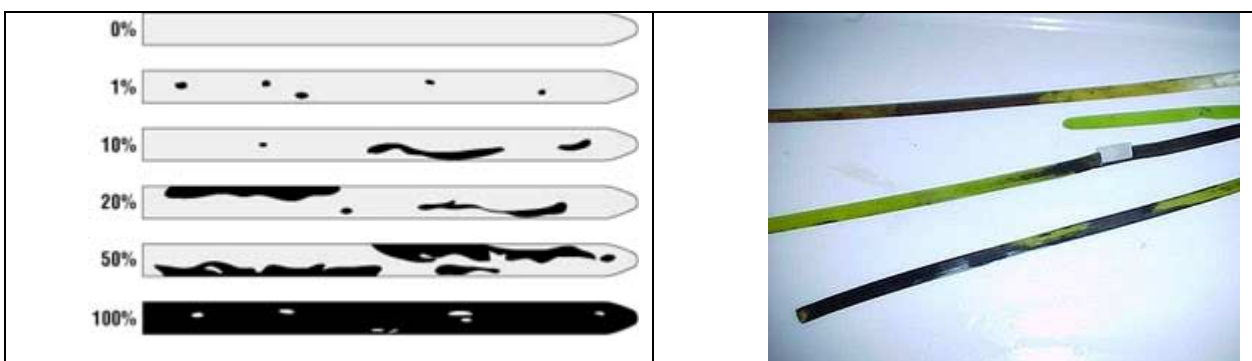
### 2.1.4. « Wasting disease » et épiphytes

**Les mêmes pieds seront utilisés pour les deux opérations.**

#### **« Wasting disease »**

Il s'agit d'estimer le pourcentage de zones noires, voire blanches, bien délimitées (à ne pas confondre avec des tâches brunes plus diffuses dues à la dégradation des pigments chlorophylliens de la feuille plus parfois nécrose blanche qui fait des entailles sur les zones noircies) sur les feuilles.

Ces pourcentages s'apprécient à partir des images suivantes :



## Epiphytes

Il s'agit d'estimer la biomasse d'épiphytes présents sur les feuilles.

Pour chaque échantillon de 10 pieds provenant de chacun des 3 points :

Nombre de feuilles par pied puis, pour chaque feuille :

- longueur du limbe (depuis le haut de la gaine jusqu'en haut de la feuille)
- largeur du limbe (zone moyenne)
- pourcentage de maladie estimé sur le limbe.

*NB : Les feuilles sont numérotées de la plus jeune (1. La plus courte, la moins épiphytée et la moins atteinte par la maladie) à la plus vieille (X : La plus longue, la plus épiphytée et la plus atteinte par la maladie)*

Conserver les limbes des 10 pieds examinés. Sur ces limbes :

- Racler les épiphytes (algues et faune). Les recueillir sur une feuille d'aluminium préalablement pesée et gravée.
- Mesurer le poids sec (après 48 h à l'étuve à 60°C) des épiphytes
- Mesurer le poids de cendres (après 4 h au four à 450°C) des épiphytes. Calculer le PSSC (=P<sub>Sec</sub> - P<sub>Cendres</sub>).

### **Saisie Quadrige<sup>2</sup> :**

Pour chacun des 3 échantillons (1 par point)

- Biomasse (PS et PSSC) des épiphytes présents sur les limbes des feuilles des 10 pieds.
- Surface des limbes des feuilles des 10 pieds
- Biomasse calculée (PS) des limbes des feuilles des 10 pieds (calculée à partir du rapport moyen « Biomasse/Surface » des limbes, issu des résultats obtenus aux paragraphes 2.1.2 et 2.1.3).

## 2.2. Macroalgues

Pour chacun des 6 échantillons de macroalgues (2 par point), les 3 catégories d'algues non épiphytes (vertes- Chlorophyta, brunes-Ochrophyta, rouges-Rhodophyta)<sup>1</sup>, sont séparées.

Les biomasses (poids sec PS) des algues par catégorie sont mesurées (à 0,1g) après séchage à l'étuve (48 heures minimum à 60°C).

### **Saisie Quadrige<sup>2</sup> :**

Pour chacun des 6 échantillons (2 par point)

- Surface échantillonnée (même valeur que 2.1.2)
- Biomasse PS de Chlorophyta, Ochrophyta, Rhodophyta. En cas d'absence, noter 0.

<sup>1</sup> Si nécessaire, se munir d'un guide permettant d'attribuer correctement les algues observées au bon phylum. On peut par exemple proposer l'ouvrage « Guide des algues des mers d'Europe : Manche et Atlantique, Méditerranée » rédigé par J. Cabioc'h, J.Y. Floch, A. Le Toquin, J.F. Boudouresque, A. Meinesz et M. Verlaque, édité en 2014 par Delachaux et Niestlé.

## 2.3. Sédiment

### 2.3.1. Granulométrie

De retour au laboratoire, réunir et homogénéiser les trois prélèvements de sédiment destinés à la granulométrie. Si nécessaire, retirer les coquilles de mollusques et les végétaux dans cet échantillon. Congeler à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

S'il est impossible d'homogénéiser les prélèvements au retour au laboratoire, on peut congeler immédiatement les échantillons, Dans ce cas, le prétraitement sera réalisé juste avant les analyses.

Par la suite granulométrie sur colonne humide en respectant la progression des tailles de tamis AFNOR : 63 - 80 - 100 - 125 - 160 - 200 - 250 - 315 - 400 - 500 - 630 - 800 - 1000 - 1250 - 1600 - 2000 - 4000  $\mu\text{m}$ .

L'interprétation des résultats pourra s'appuyer sur la procédure GRADISTAT d'analyse des résultats granulométriques développées par Blott & Pye (2001) en particulier pour calculer de façon homogène la médiane. On peut, à cet effet, utiliser le package G2Sd pour R développé récemment et accessible gratuitement<sup>2</sup> (Fournier *et al.*, 2014).

#### **Saisie Quadrige<sup>2</sup> :**

Pour l'unique échantillon

- Proportion (%) de chaque classe granulométrique
- Médiane

### 2.3.2. Matière organique

Dès le retour du terrain, congeler les échantillons à  $-20^{\circ}\text{C}$  ;

Par la suite :

- Retirer les débris végétaux et la faune du sédiment. Mesurer le poids sec (48 h minimum à l'étuve à  $60^{\circ}\text{C}$ ). Mesurer le poids de cendres (4 h au four à  $450^{\circ}\text{C}$ )
- Calculer le PSSC (= PSec - PCendres)
- Le pourcentage de matière organique se calcule de la façon suivante :  $\text{PSSC} \times 100 / \text{Psec}$ .

#### **Saisie Quadrige<sup>2</sup> :**

Pour chacun des 9 échantillons (3 par point)

- Pourcentage de MO (%)

---

<sup>2</sup> <http://cran.r-project.org/web/packages/G2Sd/index.html>

# Proposition pour un nouveau protocole de suivi stationnel de *Zostera noltei* dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)

## 1. Contexte et stratégie pour un protocole simplifié

### 1.1. Contexte

Le protocole français utilisé depuis 2007 pour le suivi stationnel des herbiers intertidaux de *Zostera noltei* est basé sur plusieurs métriques dont trois ont été retenues pour la proposition d'un indicateur de qualité DCE « Angiospermes » des herbiers de zostères (Auby *et al.*, 2010). Ces trois métriques sont 1) la composition taxinomique, 2) l'extension spatiale de l'herbier et 3) le développement de l'herbier en termes non exclusifs de densité, biomasse et taux de recouvrement des herbiers. Pour les herbiers intertidaux à *Zostera noltei*, les réflexions menées en 2010 pour aboutir à cette proposition ont cependant mis à jour plusieurs inconvénients à ce protocole inspiré de celui mis en place par le réseau REBENT, en particulier pour la troisième métrique.

Ces inconvénients sont au nombre de quatre :

- le suivi stationnel est limité dans l'espace du fait de l'acquisition d'une information trop localisée sur la masse d'eau pour les taux de recouvrement, densités et biomasses d'herbier ;
- l'acquisition des données de biométrie foliaire liées à la troisième métrique « densité des herbiers à *Zostera noltei* » est très fastidieuse et trop chronophage au laboratoire ;
- les données acquises liées à l'ensemble des métriques suivies ne sont pas toutes utilisées pour le calcul de l'indicateur Angiospermes car *in fine* pas toutes pertinentes ;
- la fréquence actuelle d'acquisition des données tous les 3 ans ne permet pas de rendre compte de la variabilité interannuelle des herbiers ni de changements brusques d'une pression pouvant être répercutées par l'herbier à *Zostera noltei* sur un laps de temps annuel.

Les attendus d'un nouveau protocole sont donc de mieux caractériser à méso échelle l'état des herbiers d'une masse d'eau et de réduire le temps et le coût de traitement des données au laboratoire.

**La contre partie d'un protocole plus simple serait sa mise en œuvre chaque année.**

### 1.2. Stratégie

Parmi les trois métriques retenues pour l'indicateur DCE à savoir 1) la composition taxinomique, 2) l'extension spatiale de l'herbier et 3) le développement de l'herbier, il est proposé de conserver les métriques 1 et 2 et de modifier, en la simplifiant, la troisième métrique.

- La métrique « composition taxinomique » s'appuiera sur un arpentage des alentours de chaque station pour déterminer si *Zostera marina var. angustifolia* (variété à petites feuilles, souvent présente dans les cuvettes) est ou non présente sur la station et ses alentours. Cette prospection s'avère nécessaire surtout dans les cas où cette variété était connue historiquement des herbiers

d'une masse d'eau. Si elle est présente, elle sera alors prise en compte dans le nombre « d'espèces et/ou variétés » afin d'assurer la cohérence avec les autres protocoles européens (voir l'analyse de Auby *et al.*, 2010).

- La métrique « extension spatiale de l'herbier » fait actuellement l'objet de travaux devant déboucher sur une harmonisation des protocoles au niveau national. Elle n'est pas développée dans ce document qui traite uniquement du suivi stationnel.
- La métrique « densité des herbiers à *Zostera noltei* » s'appuiera sur la mesure du taux de recouvrement (et non plus des densités et des biomasses), de la même façon que les protocoles d'autres pays européens (voir l'analyse de Auby *et al.*, 2010). L'utilisation de classes de recouvrement et de leurs médianes associées dans le calcul de la métrique permet alors d'être en cohérence avec les protocoles DCE français utilisés pour l'indicateur macroalgues intertidales (Ar Gall & Le Duff, 2007). Un travail spécifique, permettant d'établir une relation recouvrement vs. biomasse a été réalisé en 2011 afin de pouvoir comparer les données issues du nouveau protocole avec les données antérieures (annexe 1).

Il est également proposé de conserver l'acquisition de 3 métriques supplémentaires, qui ne rentrent pas dans le calcul de l'indicateur mais dont l'acquisition est aisée et permet une évaluation plus fine de l'état des herbiers :

- la granulométrie et la teneur en matière organique ;
- la biomasse des macroalgues par grands groupes (algues vertes, rouges et brunes) ;
- le nombre et la localisation des oiseaux herbivores consommateurs de *Zostera noltei* (bernaches, cygnes) quand ces données sont disponibles.

## 2. Echantillonnage sur le terrain

### 2.1. Date

Août-septembre, période de biomasses maximales.

### 2.2. Station et points

Une station est constituée d'une grille rectangle de 100 x 80 m, dont chaque ligne et chaque colonne sont espacées de 20 m. Une station compte donc 30 points situés à l'intersection des 6 colonnes avec les 5 lignes. Les coordonnées géographiques des points affectés à ces intersections sont codifiées par un code lettre-chiffre allant du code A1 au code F5\* (voir schéma ci-dessous). Ces coordonnées sont préalablement saisies dans le GPS, permettant si nécessaire de faire un trajet en direction de ce point par lecture du GPS.

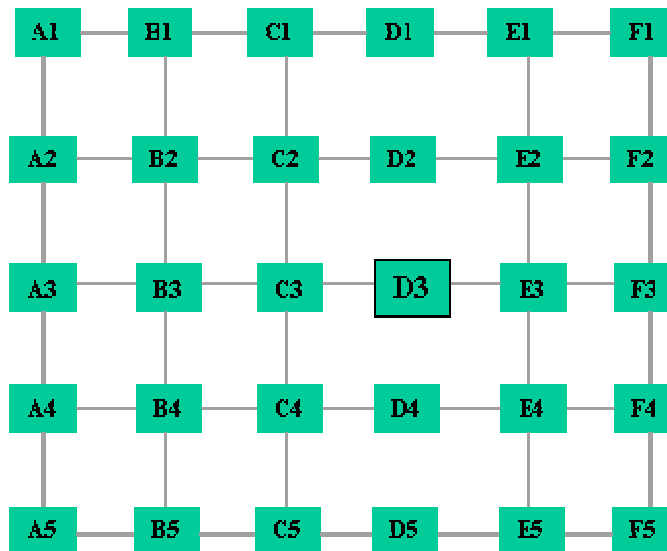
L'annexe 3 fournit la procédure permettant de créer la grille de points sur un support de référence comme l'Ortholittorale, de charger cette grille de points dans un GPS de type Garmin et enfin de valider les positions effectives des observations au retour de terrain.

Sur le terrain, afin d'avoir une vue d'ensemble de l'herbier chaque année, il faut prendre une ou plusieurs photos générales du site en associant à chaque photo un point GPS correspondant à un point de la grille ou bien à un nouveau point GPS extérieur à la grille et assurant une vue globale du site. Des informations complémentaires relatives aux prises de vue devront également être prises afin de renseigner sur l'orientation (N, N/E, S...) ou un



repère simple (clocher, château d'eau, pont, autre point de la grille...). Ces photos seront stockées dans Quadrige<sup>2</sup>.

Le point DCE « Herbière de *Zostera noltei* » défini dans la base de données Quadrige<sup>2</sup> et dans les atlas DCE est positionné au point D3 approximativement au centre de cette grille.



Cette grille de points est définie une fois pour toute en chaque station puis réutilisée telle quelle pour les suivis ultérieurs. Une telle stratégie est utilisée dans le protocole indicateur macroalgues intertidales avec retour régulier sur les points de suivi (Ar Gall & le Duff, 2007). Toutefois, lorsque l'herbier est de petite taille et/ou se déplace suite à des modifications morpho-bathymétriques, il est possible, et même souhaitable, de déplacer les points tous les 3-4 ans.

Il est possible également d'adapter la grille en fonction de la taille et de la forme de l'herbier, en conservant, dans la mesure du possible, un nombre de points égal à 30, en resserrant les mailles (jusqu'à 2 m de côté) et en adaptant la forme du rectangle à celle de l'herbier.

Le code de chaque point sera : **Code station (initiales de la station)-année-lettre-chiffre**. Par exemple, si la grille ci dessus concerne la station La Berche, pour l'échantillonnage réalisé en 2011, le point « D3 » s'appelle : **LB-2011-D3**

Lorsque l'herbier est suffisamment important pour justifier l'échantillonnage de 2 stations ou plus (Arcachon, Pertuis breton), il faut, dans la mesure du possible choisir des sites présentant différents niveaux de qualité et/ou de pressions (par exemple un site exploité par la pêche à pied et un site non exploité).

Au 31 décembre 2013, les stations échantillonnées dans les masses d'eau DCE sont les suivantes. Le nombre de stations est susceptible d'évoluer par la suite ; à titre d'exemple des missions de prospection ont été réalisées en 2013 en rivière d'Etel et dans le Traict du Croisic.

Masse d'eau	Dernière superficie connue	Stations
Estuaire Bidassoa	1,3 ha	Bidassoa int HZN
Hossegor	0,5 ha	Hossegor int HZN
Arcachon amont	4600 ha	Afrique int HZN Estey Tort int HZN Hautebelle int HZN
Pertuis charentais	1500 ha	Les Doux int HZN Bellevue-Perrotine int HZN Le Château d'Oléron int HZN
Pertuis breton	400 ha	Ars en Ré int HZN Plage de la Charge Neuve
Estuaire du Lay	17,6 ha	Lay crochon1982 int HZN
Baie de Bourgneuf	600 ha	La Berche
Golfe du Morbihan	720 ha	Kerlevenan-Sarzeau int HZN Auray ou Tascon (à définir)
Rance Fresnaye	60 ha	Saint-Jacut de la mer int HZN
Le Trieux	24 ha	Le Trieux Kergrist HZN

### 2.3. Matériel

Pour l'estimation des taux de recouvrement :

- 1 cadrat plat 50 X 50 cm soit 0,25 m<sup>2</sup> ;
- 1 appareil photo numérique et un pied ;
- Poches en plastique préalablement numérotées (pour macroalgues) ;
- 1 GPS, éventuellement programmé pour la récolte des données et dans lequel les données des points ont été préalablement saisies;
- 1 plaque en formica pour écriture en milieu humide ;
- 1 plaquette formica avec marqueur effaçable pour indiquer le code des points ;
- 1 parasol si le temps est ensoleillé (ou placer un préleveur de manière à faire une ombre uniforme sur le cadrat).

Pour le sédiment :

- Carottiers (diamètres 9 cm et 3 cm) ;
- Pots ou sacs préalablement numérotés.

### 2.4. Taux de recouvrement des zostères et biomasses de macroalgues

Une observation sur chacun des 30 points de la station comporte :

- La pose du cadrat de 50 X 50 cm
- La notation sur la feuille terrain de : présence de macroalgues ou non sur ce cadrat.
- En cas de présence des macroalgues, la réalisation d'un cliché du cadrat **AVANT** prélèvement de celles-ci . L'appareil photo est fixé sur un pied ; la photo est prise **à la verticale en plein cadre**, en prenant garde à ce que l'ombre soit répartie sur toute la photo (parasol ou opérateur) et en évitant les secteurs avec des flaques d'eau. Poser sur le côté du cadre la plaquette formica avec « **M** » **code station – année – lettre et chiffre du point**. Une résolution de 1600\*1200 pixels environ est suffisante.

- Le prélèvement des macroalgues, en collectant l'ensemble des algues ou en distinguant algues vertes (Chlorophyta), algues brunes (Ochrophyta) et algues rouges (Rhodophyta)<sup>3</sup>, avec prélèvement dans un sachet plastique différent si nécessaire, et numéroté (code A1 à F5) pour l'estimation des biomasses.

*NB : Dans les cas où les macroalgues sont très abondantes et réparties de façon homogène sur l'herbier, on effectue les prélèvements seulement sur un cadrat sur 3. On indique alors, sur la feuille terrain : prélèvement de macroalgues ou non.*

- La prise d'une ou plusieurs photos à la verticale, **APRES** le prélèvement éventuel de macroalgues, en plein cadre, en prenant garde à ce que l'ombre soit répartie sur toute la photo (parasol ou opérateur) et en évitant les secteurs avec des flaques d'eau. Poser sur le côté du cadre la plaquette formica avec **code station – année – lettre et chiffre du point**. Une résolution de 1600\*1200 pixels environ est suffisante.
- L'estimation visuelle des taux de recouvrement des zostères avec report pour chacun des 30 points sur la feuille terrain. **Cette estimation visuelle est absolument nécessaire.** En effet, dans certains cas (présence d'eau sur l'herbier, forte abondance des macroalgues dont le ramassage induit un enfouissement des feuilles), le traitement de la photo par ImageJ donne une vision très faussée du taux de recouvrement. On retiendra alors la valeur de recouvrement estimée sur le terrain.

Classe de taux de recouvrement (%)	0	1-25	26-50	51-75	76-99	100
Valeur	0	0,125	0,375	0,625	0,875	1

Les photos AVANT et APRES enlèvement des macroalgues seront stockées dans Quadrigé<sup>2</sup>.

## 2.5. Sédiment

- Pour la **granulométrie**, prélever 3 carottes sur l'emprise de la station (5 cm de profondeur, 9 cm de diamètre) ; mettre chaque carotte dans un pot en plastique ou un sac numéroté,
- Pour la **matière organique**, prélever 9 carottes sur l'emprise de la station (5 cm de profondeur, 3 cm de diamètre) ; mettre chaque carotte dans un pot en plastique ou un sac numéroté.

---

<sup>3</sup> Si nécessaire, se munir d'un guide permettant d'attribuer correctement les algues observées au bon phylum. On peut par exemple proposer l'ouvrage « Guide des algues des mers d'Europe : Manche et Atlantique, Méditerranée » rédigé par J. Cabioc'h, J.Y. Floch, A. Le Toquin, J.F. Boudouresque, A. Meinesz et M. Verlaque, édité en 2014 par Delachaux et Niestlé.

### 3. Au laboratoire

#### 3.1. Taux de recouvrement des zostères

Il s'agit de conforter le taux de recouvrement donné par l'observation visuelle sur le terrain avec une analyse semi-automatique des photos à l'aide d'un logiciel du domaine public :

- Dès le retour au laboratoire, renommer les fichiers photo (clichés sans macroalgues) par leur code de point : code station (initiales de la station) – année – lettre – chiffre. Par exemple, si les grilles des paragraphes 2-2 et 2-4 concernent la station La Berche pour l'échantillonnage réalisé en 2011, la photo réalisée sur le point D3 (page 3) s'appelle : LB-2011-D3.jpg ;
- Pour les classes extrêmes (0 et 100 %), l'estimation visuelle sur le terrain suffit. Pour les autres classes de recouvrement, valider l'estimation faite sur le terrain (valeur médiane d'une classe de recouvrement) en utilisant le logiciel Image J (annexe 2) ;
- Le calcul obtenu doit être rattaché à une classe de recouvrement et correspond à la valeur médiane de la classe selon le tableau suivant :

Classe de taux de recouvrement (%)	0	1-25	26-50	51-75	76-99	100
Valeur	0	0,125	0,375	0,625	0,875	1

*NB : le « 0 » est un vrai 0 % avec absence de zostère.*

L'intérêt de cette approche est double :

- elle est cohérente avec l'approche développée pour l'indicateur macroalgues intertidales (Ar Gall & Le Duff, 2007),
- elle permet de minimiser les biais liés à l'utilisation du logiciel Image J par plusieurs utilisateurs en ne retenant dans le calcul de la métrique que la valeur médiane d'un intervalle de classe.

**Saisie Quadrige<sup>2</sup>** : 30 valeurs/station

- Médiane des classes de recouvrement pour chaque cadrat.

*NB : stocker également dans Quadrige<sup>2</sup> la photo de chaque cadrat APRES enlèvement des macroalgues.*

#### 3.2. Macroalgues

Dès le retour du terrain :

- Renommer, quand ils existent, les fichiers photo (clichés avec macroalgues) par leur code de point : « M » - code station (initiales de la station) – année – lettre – chiffre. Par exemple, si les grilles des paragraphes 2-2 et 2-4 concernent la station La Berche pour l'échantillonnage réalisé en 2011, la photo réalisée sur le point D3 (page 3) s'appelle : M-LB-2011-D3.jpg
- Congeler les échantillons d'algues à – 20°C. Par la suite :
  - Tri en distinguant algues vertes, rouges et brunes (si non réalisé sur le terrain)
  - Lavage et séchage des échantillons à l'étuve (48 h minimum à 60°C), puis pesée à 0,1g.

**Saisie Quadrige<sup>2</sup>** : 90 échantillons/station, ou 30 si échantillonnage partiel (voir § 2.4).

- Surface échantillonnée : soit 0,25 m<sup>2</sup>

- Poids Sec = Biomasse sèche des macroalgues par phylum (Chlorophyta, Rhodophyta, Ochrophyta) collectées sur le cadrat de 0,25 m<sup>2</sup>. En cas d'absence, noter 0.

*NB : stocker également dans Quadrige<sup>2</sup> la photo de chaque cadrat AVANT et APRES enlèvement des macroalgues*

### 3.3. Sédiment

#### 3.3.1. Granulométrie

De retour au laboratoire, réunir et homogénéiser les trois prélèvements de sédiment destinés à la granulométrie. Si nécessaire, retirer les coquilles de mollusques et les végétaux dans cet échantillon. Congeler à -20°C.

S'il est impossible d'homogénéiser les prélèvements au retour au laboratoire, on peut congeler immédiatement les échantillons, Dans ce cas, le prétraitement sera réalisé juste avant les analyses.

Par la suite granulométrie sur colonne humide en respectant la progression des tailles de tamis AFNOR : 63 - 80 - 100 - 125 - 160 - 200 - 250 - 315 - 400 - 500 - 630 - 800 - 1000 - 1250 - 1600 - 2000 - 4000 µm. L'interprétation des résultats pourra s'appuyer sur la procédure GRADISTAT d'analyse des résultats granulométriques développées par Blott & Pye (2001) en particulier pour calculer de façon homogène la médiane. On peut, à cet effet, utiliser le package G2Sd pour R développé récemment et accessible gratuitement<sup>4</sup> (Fournier et al., 2014).

**Saisie Quadrige<sup>2</sup>** : 1 échantillon/station

- Proportion (%) de chaque classe granulométrique

- Médiane

#### 3.3.2. Matière organique

Dès le retour du terrain, congeler les échantillons à -20°C ;

Par la suite :

- Retirer les débris végétaux et la faune du sédiment. Mesurer le poids sec (48 h minimum à l'étuve à 60°C). Mesurer le poids de cendres (4 h au four à 450°C), Calculer le PSSC (= PSec - PCendres).
- Le pourcentage de matière organique se calcule de la façon suivante : PSSC x 100 / PSec.

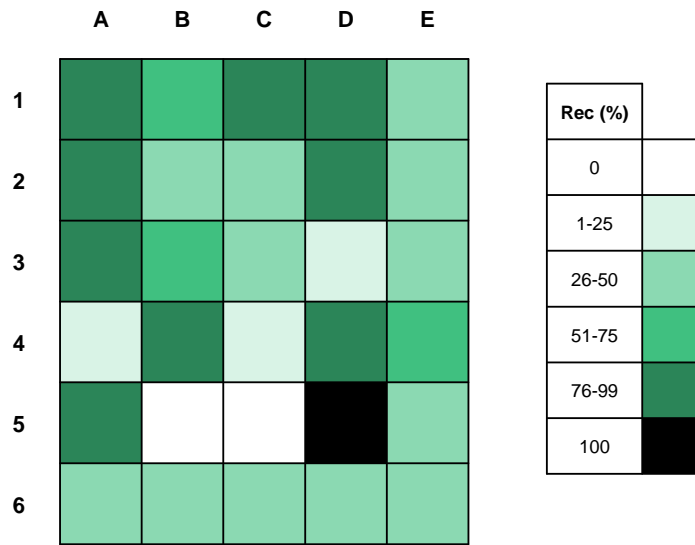
**Saisie Quadrige<sup>2</sup>** : 9 échantillons/station

- Pourcentage de MO (%)

<sup>4</sup> <http://cran.r-project.org/web/packages/G2Sd/index.html>

#### 4. Calcul du taux de recouvrement par station

Chaque station est représentée par une grille qui reprend, pour chacune des 30 mailles, le code couleur correspondant à la classe de recouvrement estimée. La grille ci-dessous représente le taux de recouvrement par *Zostera noltei* sur les 30 points de la station Afrique int HZN (bassin d'Arcachon) en 2012.



Pour chaque station, le taux de recouvrement est estimé en faisant la moyenne du recouvrement (valeur médiane pour chaque classe) des 30 mailles.

Classe de taux de recouvrement (%)	0	1-25	26-50	51-75	76-99	100
<b>Valeur</b>	0	0,125	0,375	0,625	0,875	1

Dans cet exemple, le taux de recouvrement à la station Afrique int HZN est de 52%.

Le calcul des Ratios de Qualité Ecologique (RQE) pour chaque métrique et du RQE final est précisé dans le rapport sur l'indicateur DCE Angiospermes en Manche-Atlantique (Auby *et al.*, 2011 et Auby *et al.*, in prep).

## Bibliographie

**Auby I., Oger-Jeanneret H., Sauriau P.-G., Hily C. & Barillé L.** (2011). Angiospermes des côtes françaises Manche-Atlantique, Propositions pour un indicateur DCE et premières estimations de la qualité, Ifremer, Arcachon, Rapport Ifremer: 72 pp. + annexes.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00032/14358/11646.pdf>

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00032/14358/11647.pdf>

**Auby I., Oger-Jeanneret H., Sauriau P.-G., Hily C. & Barillé L.** (*in prep.*). Directive Cadre sur l'Eau. Indicateur « angiospermes » sur les côtes françaises Manche Atlantique.

**Ar Gall E. & Le Duff M.** (2007), Protocole d'observation in situ et proposition de calcul d'un indice de qualité pour le suivi des macroalgues sur les estrans intertidaux rocheux dans le cadre DCE, Rapport non publié LEBHAM - IUEM – UBO, Brest: 14 pp.

[http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/atlas\\_DCE/upload/doc/LB/DCE\\_macroalgues\\_protocoles\\_et\\_indicateurs.pdf](http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/atlas_DCE/upload/doc/LB/DCE_macroalgues_protocoles_et_indicateurs.pdf)

**Blott S.J. & Pye K.** (2001). Gradistat : a grain size distribution and statistics package for the analysis of unconsolidated sediments. *Earth Surface Processes and Landforms*, 26: 1237-1248.

[http://www.geo.mtu.edu/~raman/Ashfall/Syllabus/Entries/2009/6/21\\_GSD\\_files/GRADISTAT.pdf](http://www.geo.mtu.edu/~raman/Ashfall/Syllabus/Entries/2009/6/21_GSD_files/GRADISTAT.pdf)

**Fournier J., Gallon R.K., Paris R.** (2014). G2Sd : un nouveau package fonctionnant sous R permettant l'analyse statistique des sédiments non-consolidés. *Géomorphologie : relief, processus, environnement*, 2014, n°1, p. 73-78.

## Annexe 1 : Elaboration du rapport biomasse épigée vs. taux de recouvrement

### 1. Contexte de l'action

En 2007, un protocole destiné à assurer le suivi stationnel des herbiers de zostères (*Zostera noltei* et *Zostera marina*) dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau a été élaboré (Hily *et al.*, 2007). Ce protocole était inspiré de celui mis en place par le réseau REBENT pour ces phanérogames.

Dans le cadre de ce protocole, un certain nombre de paramètres étaient mesurés dans les herbiers des deux espèces de zostères, notamment ceux permettant de caractériser le niveau de leur développement: densité des pieds, longueur et largeur des limbes, biomasse des différents organes.

En ce qui concerne *Zostera marina*, le plus souvent située en position infralittorale et échantillonnable, le plus souvent, exclusivement en plongée, ce protocole s'est avéré bien adapté pour caractériser au mieux l'état des herbiers.

Par contre, il est apparu inadéquat pour qualifier correctement le niveau de développement des herbiers de la zostère naine *Zostera noltei*, notamment en raison de l'hétérogénéité spatiale des herbiers, à la fois à méso et macro-échelles. Les informations recueillies étaient trop localisées vis-à-vis de l'étendue des masses d'eau. Par ailleurs, le temps passé aux analyses en laboratoire s'avérait trop important vis-à-vis de l'intérêt des informations recueillies pour l'élaboration de l'indicateur « angiospermes », qui ne prend pas en compte les paramètres biométriques (Auby *et al.*, 2010).

Pour cette raison, il a été décidé de modifier les protocoles pour *Zostera noltei* afin de prendre en compte cette hétérogénéité spatiale, le temps économisé au laboratoire permettant par ailleurs d'augmenter le nombre de stations suivies et la fréquence d'observation.

Le nouveau protocole consiste en une mesure des taux de recouvrement des feuilles de zostères sur un nombre de stations adapté à la surface des différentes masses d'eau, 30 points étant échantillonnés sur chaque station.

Toutefois, afin de ne pas perdre le bénéfice des résultats du suivi entrepris depuis 2007, il était important de déterminer la relation entre anciens et nouveaux paramètres, en l'occurrence les résultats de biomasses interprétables à travers une relation biomasse épigée (feuilles +gaines) vs taux de recouvrement.

C'est dans ce cadre que l'action décrite dans ce document a été réalisée en septembre 2011 sur 4 sites de la façade atlantique. Cette opération a été effectuée à la même époque que celle définie pour le suivi stationnel des zostères intertidales (août-septembre).



## 2. Méthodes

.La méthode adoptée pour établir la relation biomasse épigée vs recouvrement est la suivante :

### Sur le terrain :

- Choisir 3 à 5 points pour chacune des cinq classes de recouvrement (1-25%, 26-50%, 51-75%, 76-99% et 100%) sur la base d'une estimation visuelle basée sur les observations de terrain.
- Sur chaque point :
  - si nécessaire, enlever les macroalgues présentes sur la surface du cadre à poser ;
  - poser le cadre 31,6x31,6 cm, avec, sur le côté du cadre, la plaquette en formica marquée d'un identifiant qui sera similaire à celui du sac plastique dans lequel seront placées les zostères. Estimer le recouvrement, le noter et prendre une photo ;
  - planter les 4 piquets au coin du cadrat et retirer celui-ci ;
  - prélever les zostères à l'intérieur des piquets et les placer dans 1 sac en plastique (1 par cadrat).

### Au laboratoire :

- De retour au laboratoire, rincer les prélèvements et les congeler à  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Par la suite, pour chaque sac, séparer les parties épigées (feuilles+gainés) du reste (rhizomes+racines) du matériel végétal. Laver et sécher les feuilles+gainés à l'étuve (48 h minimum à  $60^{\circ}\text{C}$ ), puis peser à 0,1g.
- De retour au laboratoire, télécharger l'appareil photo sur un ordinateur. Renommer le plus rapidement possible ces photos avec le même identifiant que celui marqué sur les sacs en plastique contenant les zostères.
- Calculer le pourcentage de recouvrement sur la photo à l'aide du logiciel Image J.

L'analyse statistique est basée sur la régression linéaire simple et l'analyse de covariance (Sokal et Rohlf 1981, Rohlf et Sokal, 1981).

## 3. Résultats et discussion

Quatre stations ont été échantillonnées en août et septembre 2011, dans les masses d'eau suivantes : Arcachon amont, Estuaire du Lay, Baie de Bourgneuf, Rance-Fresnaye.

### 3.1. Données brutes

Le tableau 1 contient les données recueillies dans les 4 stations aux dates indiquées dans la première ligne.

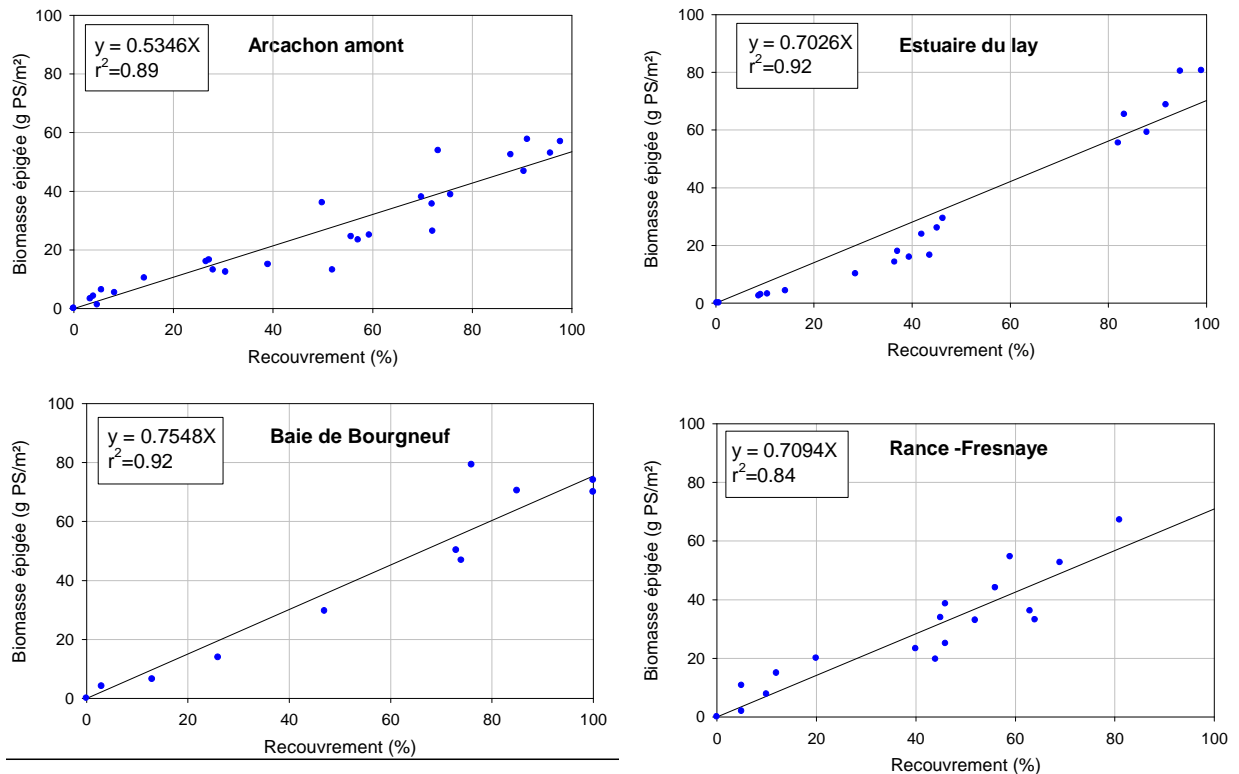
**Tableau 1** : Résultats des recouvrements évalués avec le logiciel ImageJ (Rec) et de biomasses épigées (Bio Epi) acquis sur les 4 stations en 2011.

<b>Bourgneuf</b> 12/09/2011		<b>Arcachon</b> 30/08/2011		<b>Rance-Fresnaye</b> 13/09/2011		<b>Estuaire du Lay</b> 26/09/2011	
Rec (%)	Bio Epi (g PS/m <sup>2</sup> )	Rec (%)	Bio Epi (g PS/m <sup>2</sup> )	Rec (%)	Bio Epi (g PS/m <sup>2</sup> )	Rec (%)	Bio Epi (g PS/m <sup>2</sup> )
0	0,0	0	0	0	0,0	0	0,0
3	4,0	14	10,3	44	19,6	0,64	0,0
13	6,4	3	3,2	64	33,1	9,19	2,9
26	13,8	72	26,3	12	14,9	10,54	3,1
47	29,6	59	25,0	52	32,9	8,78	2,4
73	50,2	8	5,3	46	25,0	14,23	4,2
74	46,8	90	46,7	10	7,7	43,66	16,5
76	79,2	88	52,4	69	52,6	39,47	15,8
85	70,4	4	4,2	59	54,6	28,51	10,1
100	74,0	72	35,6	45	33,8	36,51	14,2
100	70,0	76	38,7	5	1,9	42,01	23,8
		98	56,9	5	10,7	45,14	26,0
		27	15,9	46	38,5	46,35	29,3
		91	57,6	40	23,2	37,09	17,9
		57	23,3	63	36,1	83,28	65,4
		96	52,9	20	20,0	91,77	68,7
		39	15,0	56	44,0	87,89	59,1
		52	13,0	81	67,1	82,05	55,5
		27	16,5			99,00	80,6
		6	6,3			94,71	80,3
		5	1,2				
		28	13,1				
		50	36,0				
		56	24,5				
		73	53,8				
		70	37,9				
		31	12,4				

### 3.2. Représentation graphique et statistiques

Les résultats obtenus (pentes et résultats des régressions linéaires) sont reportés dans les figures 1-1 à 1-4.

Sur ces figures, il apparaît que les pentes déterminées à partir des données recueillies dans les 4 masses d'eau ne sont pas identiques. Elles varient de 0,53 pour Arcachon amont à 0,75 en baie de Bourgneuf.



**Figures 1-1 à 1-4 :** Régressions linéaires biomasse épigée vs recouvrement dans les 4 stations échantillonnées

Afin de tester la significativité de ces différences, une ANCOVA fixant le *site* comme variable qualitative a été effectuée.

Sur le jeu de données complet, cette analyse indique une dissimilarité des pentes, qui disparaît lorsque les données d’Arcachon amont sont retirées de l’analyse. La pente de la régression linéaire entre biomasse épigée et taux de recouvrement est donc significativement différente pour Arcachon que pour les autres sites testés. Cette différence indique pour un même taux de recouvrement, une biomasse plus faible sur le site Arcachon amont et suggère en première analyse des différences entre sites du rapport surface des feuilles/poids sec.

Une analyse plus fouillée de la variabilité du rapport surface des feuilles/poids sec peut cependant suggérer une autre hypothèse, comme le montrent les résultats réunis dans le tableau 2, extraits des rapports présentant les résultats du suivi stationnel dans les masses d’eau « Lac d’Hossegor » (Auby et Trut, 2011) et « Arcachon amont » (Auby *et al.*, 2011).

La variabilité du rapport surface des feuilles/poids sec s’exerce aussi bien sur les niveaux spatiaux que temporels avec des différences annuelles pour un même site et des différences entre sites pour une même année. Cette variabilité n’est pas constante comme le montre la comparaison des sites en 2009 avec aucune différence significative du rapport.

**Tableau 2** : Valeurs du rapport surface feuilles/poids sec pour *Zostera noltei* en 3 stations suivies dans le cadre de la DCE. (Source Auby et Trut, 2011, Auby *et al.*, 2011)

<b>Rapport surface feuilles/poids sec (cm<sup>2</sup>/g) - Moyenne ± ES</b>				
<b>Année</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>
<b>Hossegor</b>		728 ± 234	622 ± 95	491 ± 23
<b>Arcachon amont – Station 1</b>	241,7 ± 82,9	535,1 ± 56,3	496,5 ± 95,4	485,3 ± 30,1
<b>Arcachon amont – Station 2</b>	447,4 ± 17,6	500,9 ± 68,9	526,9 ± 83,0	502,7 ± 42,3

Il est donc suggéré que l'effet « site » mis en évidence en 2011 entre les 4 sites prospectés n'est qu'apparent et que la relation établie sur les 4 stations rend compte de l'étendue possible de la relation entre ces deux variables.

A cet égard, on peut finalement remarquer que la relation mise en évidence par Dalloyau (2008) dans les Pertuis charentais (présentée ci dessous) se rapproche de celle mise en évidence pour Arcachon amont en 2011.

$$\text{Bio. Epi} = 0,603 \text{ Rec} \quad (n = 126; r^2 = 0,834)$$

(avec Bio. Epi et Rec définis dans le Tableau 1).

En considérant que le jeu de données 2011 est homogène, la relation établie à partir du jeu complet de données acquises en 2011 est reportée dans la figure 2.

Le coefficient de détermination de la qualité du modèle est élevé :  $r^2 = 0,85$

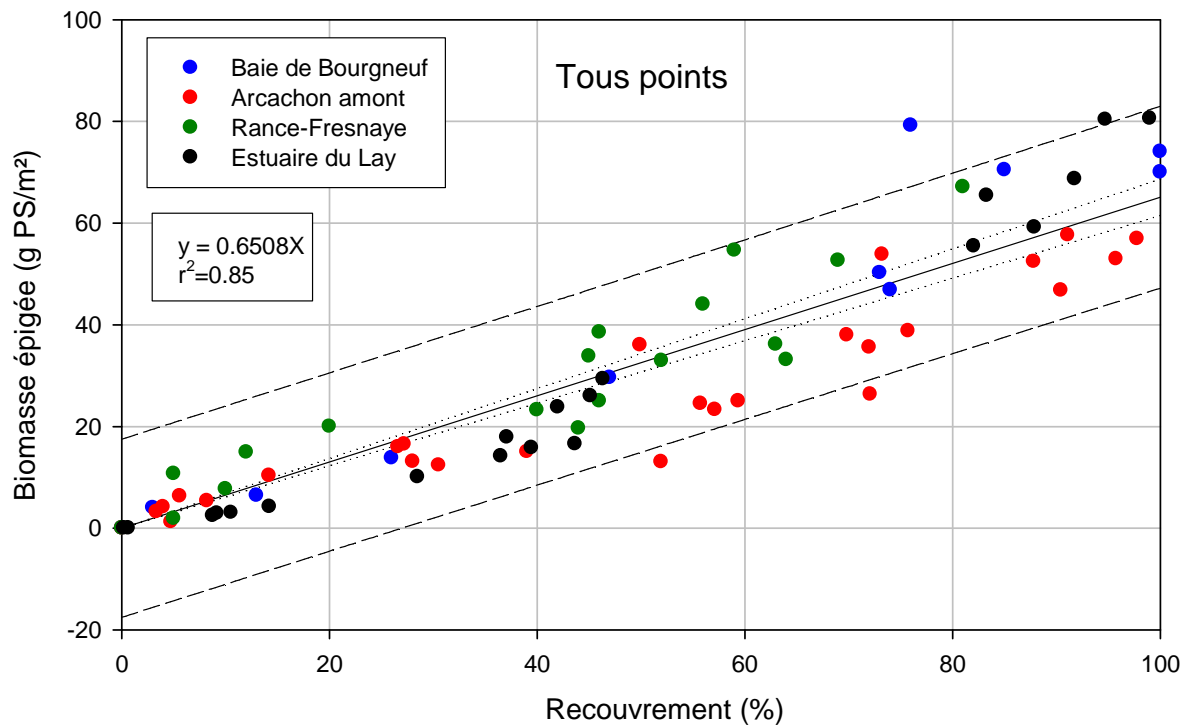
Les résultats de l'analyse de variance indiquent que cette relation est très significative avec  $r = 0,90$ ,  $n = 76$  et  $p < 0,001$  (Tableau 3).

**Tableau 3** : Analyse de variance sur le jeu complet des données 2011.

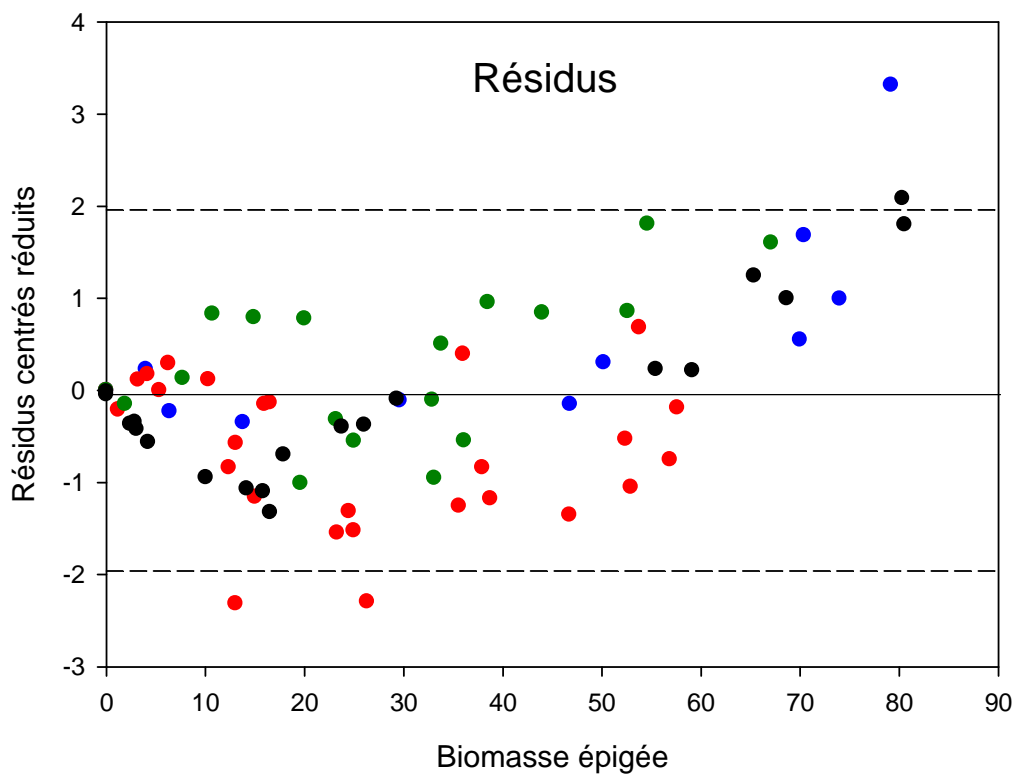
<b>Analyse de la variance :</b>				
Source	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	100572.880	100572.880	1249.289	< 0.0001
Erreur	5876.798	80.504		
Total corrigé	106449.678			

La grande majorité (72 valeurs sur 76 sont situées dans l'intervalle de prédiction. Seules 4 observations sont en dehors de l'intervalle de prédiction : elles peuvent être considérées comme suspectes.

L'analyse des résidus centrés réduits (Figure 3) met également en évidence ces 4 observations suspectes. Ce graphique indique aussi une légère tendance dans les résidus à augmenter en fonction du taux de recouvrement à partir d'un taux de 60 % mais c'est peut être un artefact lié au faible nombre d'observations (9 sur un total de 76).



**Figure 2 :** Régression linéaire entre la biomasse épigée et le taux de recouvrement pour toutes les stations échantillonnées en 2011 (ligne pleine : régression – pointillés : intervalle de confiance autour de la moyenne de l'estimateur – tirets : intervalle de prédiction à 95 %).



**Figure 3 :** Relation entre les résidus et la biomasse épigée sur l'ensemble du jeu de données

#### 4. Correspondances entre données acquises avec l'ancienne méthode et la nouvelle

En ce qui concerne les organes épigés, l'application de l'ancien protocole permettait d'acquérir des données de biomasse sur les zones végétalisées et un pourcentage de surface végétalisée.

Trois paramètres pouvaient être déduits de ces données : pourcentage de surface végétalisée sur la station, biomasse moyenne sur les zones végétalisées et biomasse moyenne sur l'ensemble de la station (en rapportant les biomasses à l'ensemble de la station).

Le nouveau protocole permet d'acquérir un pourcentage de recouvrement sur chacun des 30 points. Grâce à la relation déterminée dans ce rapport, ce taux de recouvrement peut être transformé en biomasse épigée par point.

Trois paramètres peuvent être déduits de ces données : pourcentage de surface végétalisée sur la station, biomasse épigée moyenne sur les zones végétalisées et biomasse épigée moyenne sur l'ensemble de la station.

#### Bibliographie

**Auby I., Dalloyau S., Hily C., Oger-Jeanneret H., Plus M., Sauriau P.-G., Trut G.** (2012). Protocoles de suivi stationnel des herbiers à zostères pour la Directive Cadre sur l'Eau (DCE), *Zostera marina*, *Zostera noltei*. Rapport RST/LER/MPL/12.03, 24 p.

**Auby I., Oger-Jeanneret H., Sauriau P.-G., Hily C., Barillé L.** (2010). Angiospermes des côtes françaises Manche-Atlantique. Propositions pour un indicateur DCE et premières estimations de la qualité, 72 p + annexes.

**Auby I., Trut G.** (2011). Suivi stationnel de l'herbier de zostères naines (*Zostera noltei*) de la Masse d'eau côtière FRFC09 – Lac d'Hossegor – District Hydrographique Adour-Garonne – 2007-2008-2009. Rapport RST/LER/AR/11.001, 16 p.

**Auby I., Trut G., Barbier C., Bujan S., Cordier M.-A.** (2011). Suivi stationnel des herbiers de zostères (*Zostera noltei* et *Zostera marina*) de la Masse d'eau côtière FRFC06 – Arcachon amont – District Hydrographique Adour-Garonne – 2006-2007-2008-2009. Rapport RST/LER/AR/11.002, 40 p.

**Dalloyau S.** (2008). Réponse fonctionnelle et stratégies d'hivernage chez un anséridé en lien avec la disponibilité de la ressource alimentaire. Cas de la Bernache cravant à ventre sombre (*Branta bernicla bernicla*) en hivernage sur le littoral atlantique (Île d'Oléron – Charente Maritime – 17). Ecole Pratique des Hautes Etudes : 118 pp + annexes.

**Hily C., Sauriau P.-G., Auby I.** (2007). Protocoles suivi stationnel des herbiers à zostères pour la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) - *Zostera marina* – *Zostera noltei*. Rapport LEMAR, CNRS, IFREMER, 10 p.

**Rohlf F.J., Sokal R.R.** (1981). Statistical tables, Second edition. N.J., Freeman, W.H. and Co. (eds.) : 219 p.

**Sokal R.R. & Rohlf F.J.** (1981). Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. Second edition. New York, Freeman, W.H. and Co (eds.): 859 p.

## Annexe 2 : Utilisation du logiciel Image J

### 1- Télécharger le logiciel

<http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>

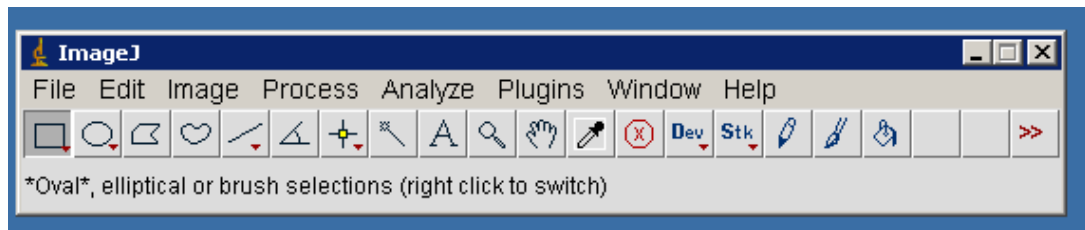
### 2- Choisir la version adaptée à votre plateforme Pour Windows

Download ImageJ 1, [bundled with 32-bit Java 1.6.0\\_20](#) (28MB), or [without Java](#) (3MB).

Par défaut, prendre la version sans Java.

### 3- Installer et valider les deux premiers écrans d'installation

le logiciel s'ouvre et fournit la fenêtre du menu suivant :



### 4- Dans ce menu « ImageJ »

#### 4.1- Ouverture d'un fichier

##### File

**Open** : choisir le répertoire et fichier (ici une image des Doux, Oléron)  
Ouvrir

#### 4.2- Choix de la surface à traiter

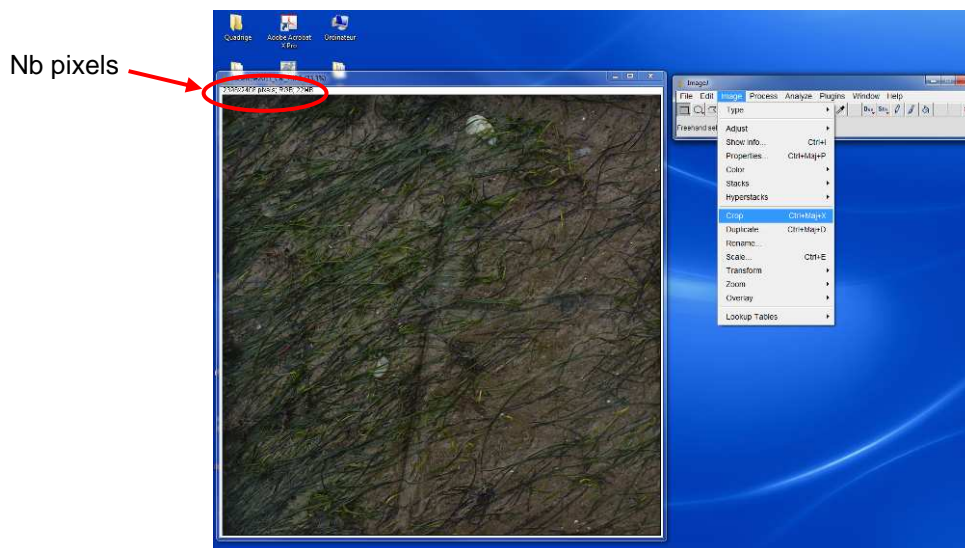
Si nécessaire, **redresser la photo** : Image/transform/rotate

**Recadrer la photo** : dans le menu, cliquer sur  (outil de sélection rectangle) et tracer le rectangle le plus près possible du pourtour interne du cadrat. Relâcher la souris



**Valider la sélection : Image/crop.** Le nombre de pixels de l'image sélectionnée s'affiche en haut de l'image et servira pour le calcul final.

Dans cet exemple, il est égal à  $2\,732 \times 2\,108 = 5\,759\,056$ .



### 4.3 - Délimitation de la surface occupée par les zostères

**Image**  
**Adjust**  
**Threshold**

Le but est de colorer sur l'image tout ce qui est de la zostère.

Si le logiciel ne le choisit pas par défaut, sélectionner :

Thresholding method : **Default**

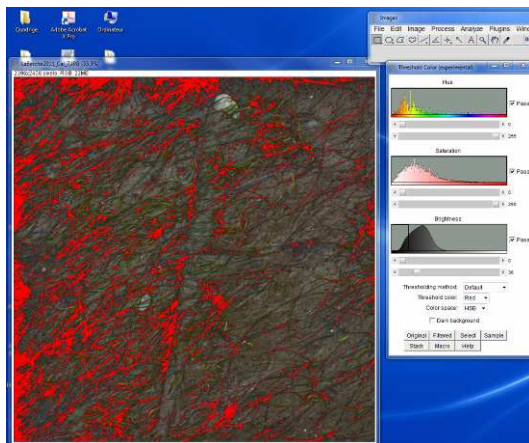
Threshold color : **Red**

Color space : **HSB**

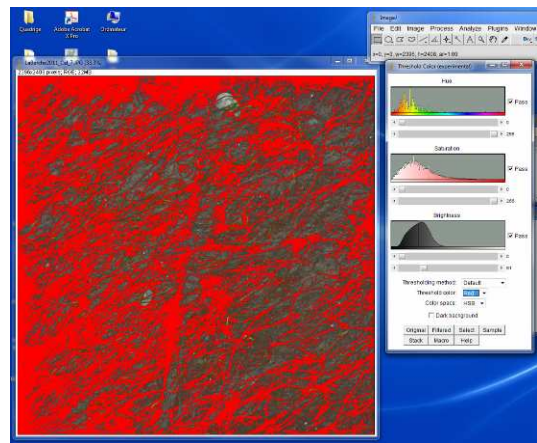
Décocher : **Dark background.**

Pour colorer les zostères en rouge, augmenter progressivement le second curseur "Brightness", soit à partir de la valeur sélectionnée automatiquement par le logiciel, soit en le mettant à 0, ce qui permet de suivre précisément l'augmentation de la surface colorée.





Brightness 38

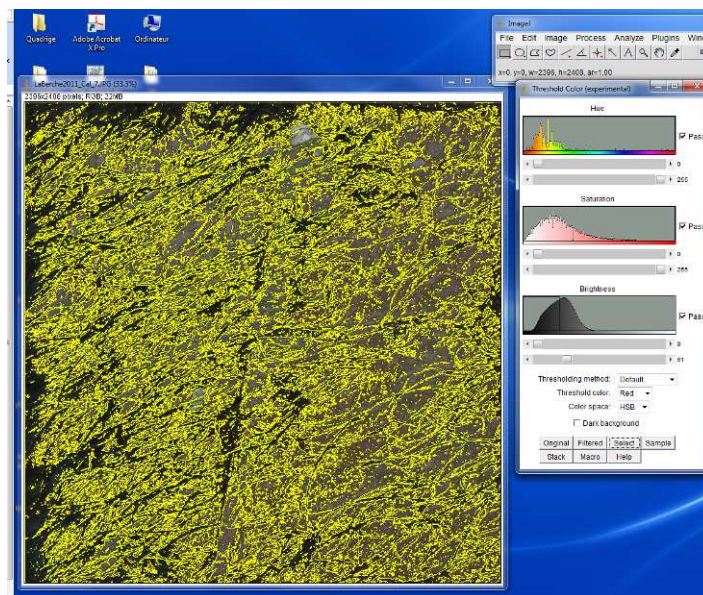


Brightness 61

Il est possible à tout moment de comparer l'image colorée en rouge avec l'image originale en cliquant sur le bouton « original ».

En revenant à l'image filtrée (bouton « filtered »), il arrive que l'image soit en noir et blanc. Dans ce cas, actionner à nouveau « Threshold color : red ».

Lorsque la sélection est proche de l'original, actionner le bouton « **select** » : les zones à exclure sont entourées en jaune.



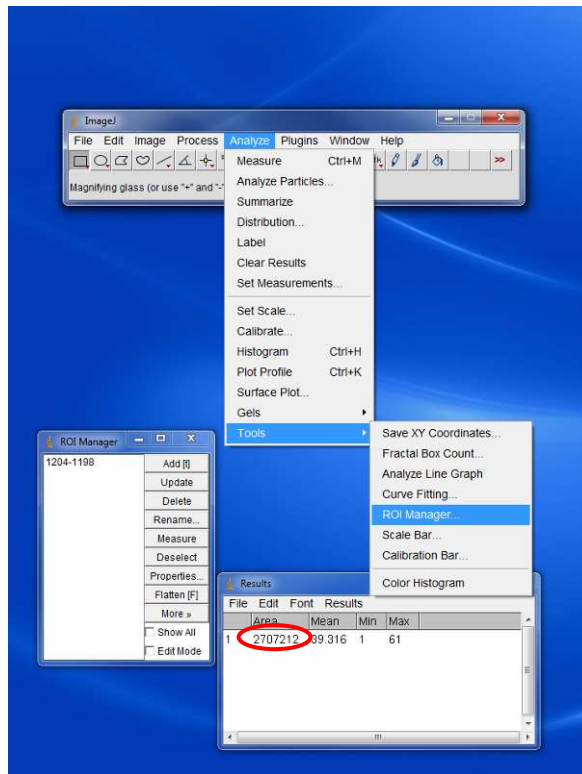
#### 4.4 – Calcul du taux de recouvrement

Dans le menu, choisir : **Analyze/Tools/ROI Manager**

Cliquer sur : **Add(t)**, puis sur **Measure**

La fenêtre « **Results** » s'ouvre : dans la colonne « **Area** », elle indique le nombre de pixels sélectionnés correspondant aux zostères.

Dans cet exemple, ce nombre est égal à 2 707 212.







Calculer le **taux de recouvrement** en divisant ce nombre par le nombre total de pixels qui apparaît en haut à gauche de l'image sélectionnée (§ 4.2 : 5 759 056).

Dans cet exemple, le taux de recouvrement est égal à :  $2\,707\,212 / 5\,759\,056 = 47\%$ .  
D'après la grille suivante, ce taux de recouvrement correspond à la valeur 0,375.

Classe de taux de recouvrement (%)	0	1-25	26-50	51-75	76-99	100
Valeur	0	0,125	0,375	0,625	0,875	1

#### 4.5 – Exemples de taux de recouvrement

Classe de taux de recouvrement (%)	Recouvrement mesuré par ImageJ	Photo	Médiane
1-25	25%		0,125
26-50	42%		0,375
51-75	61%		0,625
76-99	89 %		0,875

## Annexe 3 : Grille de suivi – Support géoréférencé Utilisation du GPS Garmin

Certains acteurs de ces suivis disposent de dGPS Trimble, matériel parfaitement adapté à ces suivis (cf Sauriau *et al.*, 2013<sup>5</sup>) mais beaucoup plus coûteux qu'un GPS Garmin. Pour cette raison, il nous a paru utile de détailler la procédure permettant d'utiliser ce matériel dans le cadre du suivi stationnel des herbiers de *Zostera noltei*.

Objectif : Création de la grille de suivi de l'herbier, adaptation (orientation et forme) si nécessaire, transfert de cette grille vers un GPS Garmin, contrôle du parcours réalisé sur le terrain.

Outils : **ArcMap** ©ESRI, **Excel** ©Microsoft, **GPS Garmin**, **DNRGPS**.

Pré-requis indispensables :

- Connaissance de base des fonctionnalités d'ArcMap ;
- Notions de projections.

Note : les exemples de fichiers sont extraits du protocole défini pour le suivi de l'herbier « Le Trieux Kergrist HZN » (FRGT03)

Note technique : Le décret n° 2000-1276 du 26 décembre 2000 a établi en France Métropolitaine le **RGF93** comme système de référence légal, avec comme projection associée le **Lambert 93**. Le décret n° 2006-272 du 3 mars 2006 rend exclusif l'usage de ce nouveau système de référence à compter du 3 mars 2009 pour les échanges de données géoréférencées dans la sphère publique au sens large, tels que décrit dans la loi n°95-115 du 4 février 1995 d'orientation pour l'aménagement du territoire. **De par le rôle de l'Ifremer, il est convenu, pour tout rendu cartographique, d'adopter le Lambert 93 (L93).**

Toutefois, pour les photos aériennes de référence telle que l'Ortholittorale, toutes ne sont pas encore disponibles dans ce nouveau système. C'est le cas en Bretagne nord, secteur où se situe l'exemple présenté dans cette annexe : les supports aériens de référence sont encore en Lambert 2 étendu (L2et), ce qui explique la référence à ce système qui ne devrait plus être en vigueur.

Cette particularité aurait pu être "gommée" en choisissant un secteur pour lequel les photos aériennes sont d'ores-et-déjà diffusées en Lambert 93. Il a été choisi par le rédacteur de cette annexe de conserver cette spécificité afin de porter l'attention à la nécessité de connaître, de renseigner le système de projection des couches utilisées (de référence –photos aériennes par exemple- et de travail) et de choisir un seul système de projection pour exploiter les données. Il est entendu, lorsque cela est possible, qu'il faudra privilégier le Lambert 93.

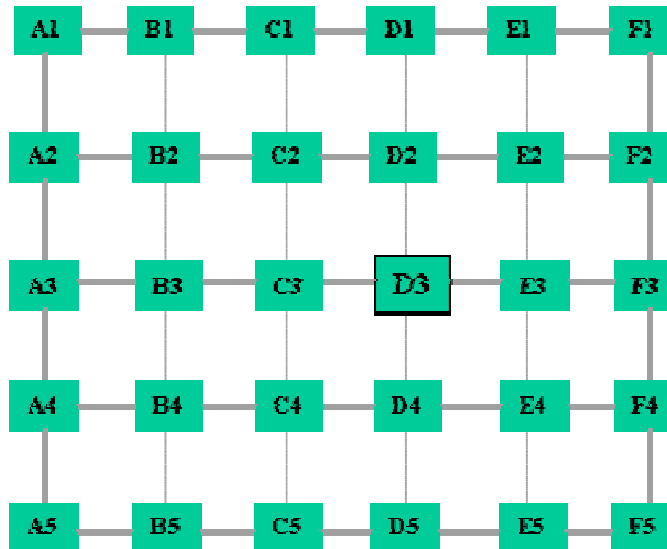
### 1. Première étape : Création de la grille de suivi

Dans un premier temps il s'agit de définir le positionnement de la grille de suivi sur l'herbier choisi dans le cadre du suivi stationnel DCE.

Dans **ArcMap**, à partir des documents de référence – souvent Ortholittorale 2000 (fournie en Lambert 2 étendu (L2et) ou Lambert 93 (L93) ou Inventaire cartographique de la localisation des herbiers (dans le même système de coordonnées) :

<sup>5</sup> [http://envlit.ifremer.fr/content/download/81682/561395/version/8/file/Rapport\\_DCE2012\\_Zostera\\_FRFC02.pdf](http://envlit.ifremer.fr/content/download/81682/561395/version/8/file/Rapport_DCE2012_Zostera_FRFC02.pdf)

Positionner le point de référence D3, noter ses coordonnées. Ce point servira de « Lieu de surveillance » dans Q<sup>2</sup>. Afin de construire une grille rectangle de 100 x 80 m , dont chaque ligne et chaque colonne sont espacées de 20 m (telle que présentée sur page 9 du protocole), il est recommandé de travailler dans un système de coordonnées projetées en mètre (I 2et ou I93).



Pour construire cette grille utiliser un tableau de type Excel :

Dans **Excel**, créer une table selon le format suivant, en prenant soin de d'ajouter ou de soustraire 20 m de part et d'autre du point de référence D3 jusqu'au l'obtention de la grille de 30 points

Dans cet exemple, D3 est défini X : 200240 m ; Y : 2433290 m.

	A	B	C
1	ID	X	Y
2	A1	200180	2433330
3	A2	200180	2433310
4	A3	200180	2433290
5	A4	200180	2433270
6	A5	200180	2433250
7	B1	200200	2433330
8	B2	200200	2433310
9	B3	200200	2433290
10	B4	200200	2433270
11	B5	200200	2433250
12	C1	200220	2433330
13	C2	200220	2433310
14	C3	200220	2433290
15	C4	200220	2433270
16	C5	200220	2433250
17	D1	200240	2433330
18	D2	200240	2433310
19	D3	200240	2433290
20	D4	200240	2433270
21	D5	200240	2433250
22	E1	200260	2433330
23	E2	200260	2433310
24	E3	200260	2433290
25	E4	200260	2433270
26	E5	200260	2433250
27	F1	200280	2433330
28	F2	200280	2433310
29	F3	200280	2433290
30	F4	200280	2433270
31	F5	200280	2433250

**Note :** Etre attentif aux entêtes de colonnes.

Sauvegarder au format .xls (compatible avec ArcGIS 10.1) [ou au format .txt ou dbase selon la version ArcGis antérieure].

Pour visualiser le positionnement de cette grille sur l'herbier faisant l'objet du suivi, retourner dans **ArcMap**.



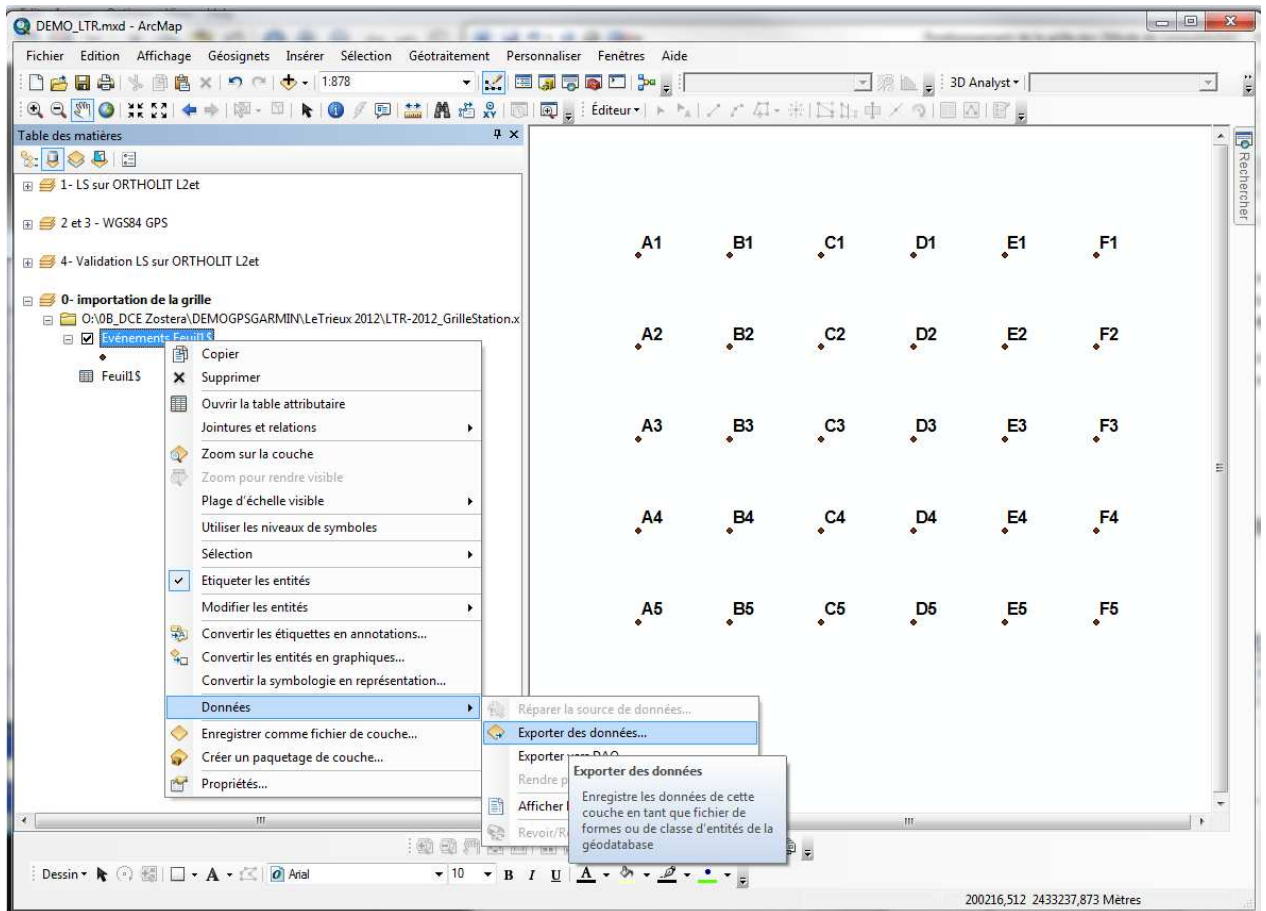
Ajouter des données, sélectionner le fichier .xls puis la feuille à importer : « Feuil1\$ ».

Dans le volet « table des matières » de ArcMap (partie gauche de l'interface), la feuille importée « Feuil1\$ » apparaît. Sélectionner cette feuille, et sur le menu contextuel « clic droit » de la souris, sélectionner « Afficher les données XY ...' »

ArcMap reconnaît automatiquement la structure du fichier tel que préparé sous Excel à l'étape précédente.

La grille s'affiche avec comme titre « Evénements Feuil1\$ ». Il est possible d'étiqueter chaque point ou entité – (choix offert par le menu contextuel « clic droit »). Chaque identifiant 'ID' renseigné au niveau du fichier Excel s'affiche pour chaque couple de coordonnées XY (voir ci-dessous).

Il sera indispensable de sauvegarder cette grille afin de la transformer en fichier shape (fichier de forme .shp). Pour cela : toujours dans le volet « Table des matières », clic droit sur « Evénements Feuil1\$ » et sélectionner « Données » / « Exporter les données » (voir ci-dessous).



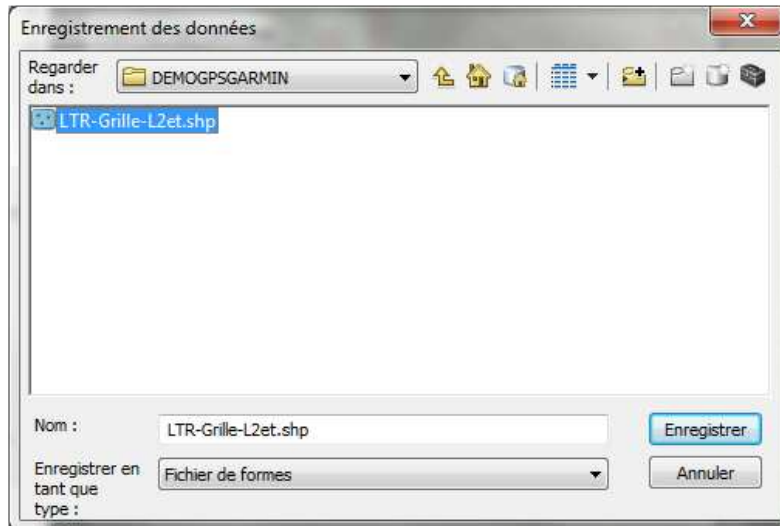
A ce niveau, nommer la grille selon le code suivant :

**Code station** (initiales de la station)-**Grille-système de coordonnées**

Note : la nomenclature à utiliser concernant l'abréviation du système de coordonnées :

- si les données sont projetées :: « **L2et** » pour Lambert 2 étendu en m, « **L93** » pour Lambert 93 en m,
- si les données ne sont pas projetées : « **WGS84** » World Geodetic System 1984 en degrés décimales).

*Exemple* : LTR-Grille-L2et.shp



Au niveau de la table des matières, pour ouvrir la table attributaire de cette couche : Clic droit sur la couche « LTR-Grille-L2et.shp' » sélectionner « Ouvrir la table attributaire »



FID	Shape *	ID	X	Y
0	Point	A1	200180	2433330
1	Point	A2	200180	2433310
2	Point	A3	200180	2433290
3	Point	A4	200180	2433270
4	Point	A5	200180	2433250
5	Point	B1	200200	2433330
6	Point	B2	200200	2433310
7	Point	B3	200200	2433290
8	Point	B4	200200	2433270
9	Point	B5	200200	2433250
10	Point	C1	200220	2433330
11	Point	C2	200220	2433310
12	Point	C3	200220	2433290
13	Point	C4	200220	2433270
14	Point	C5	200220	2433250
15	Point	D1	200240	2433330
16	Point	D2	200240	2433310
17	Point	D3	200240	2433290
18	Point	D4	200240	2433270
19	Point	D5	200240	2433250
20	Point	E1	200260	2433330
21	Point	E2	200260	2433310
22	Point	E3	200260	2433290
23	Point	E4	200260	2433270
24	Point	E5	200260	2433250
25	Point	F1	200280	2433330
26	Point	F2	200280	2433310
27	Point	F3	200280	2433290
28	Point	F4	200280	2433270
29	Point	F5	200280	2433250

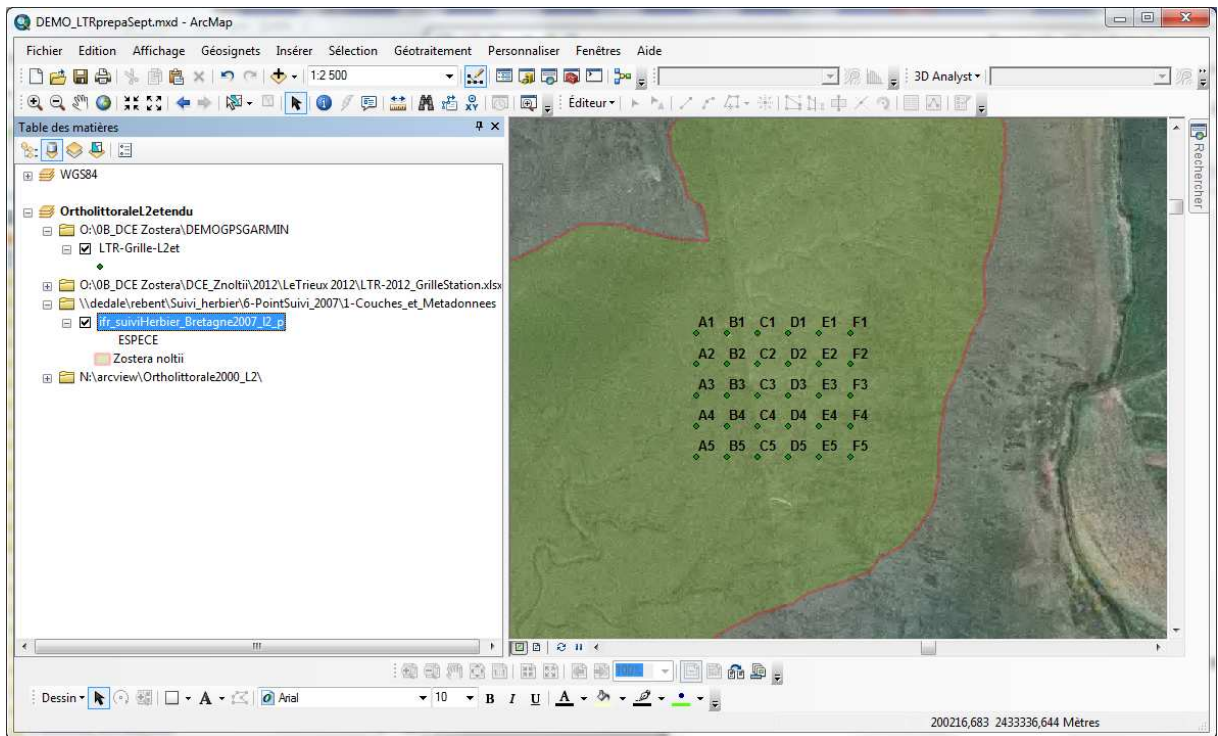
(0 sur 30 sélectionnés)

LTR-Grille-L2et

Les X et Y proviennent des données saisies sous Excel.

**Note :** Une fois que la grille est transformée en 'Fichier de forme' (.shp), les coordonnées de chaque entité sont encapsulées dans le champ FID de la couche. Toute modification de coordonnées d'entité sera enregistrée au niveau du FID sans plus aucun lien avec les champs X et Y, donc plus aucune mise à jour de ces champs). Pour obtenir les nouvelles coordonnées il faudra régénérer les valeurs de XY à partir de la table en utilisant la fonction « Calculer la géométrie... ».

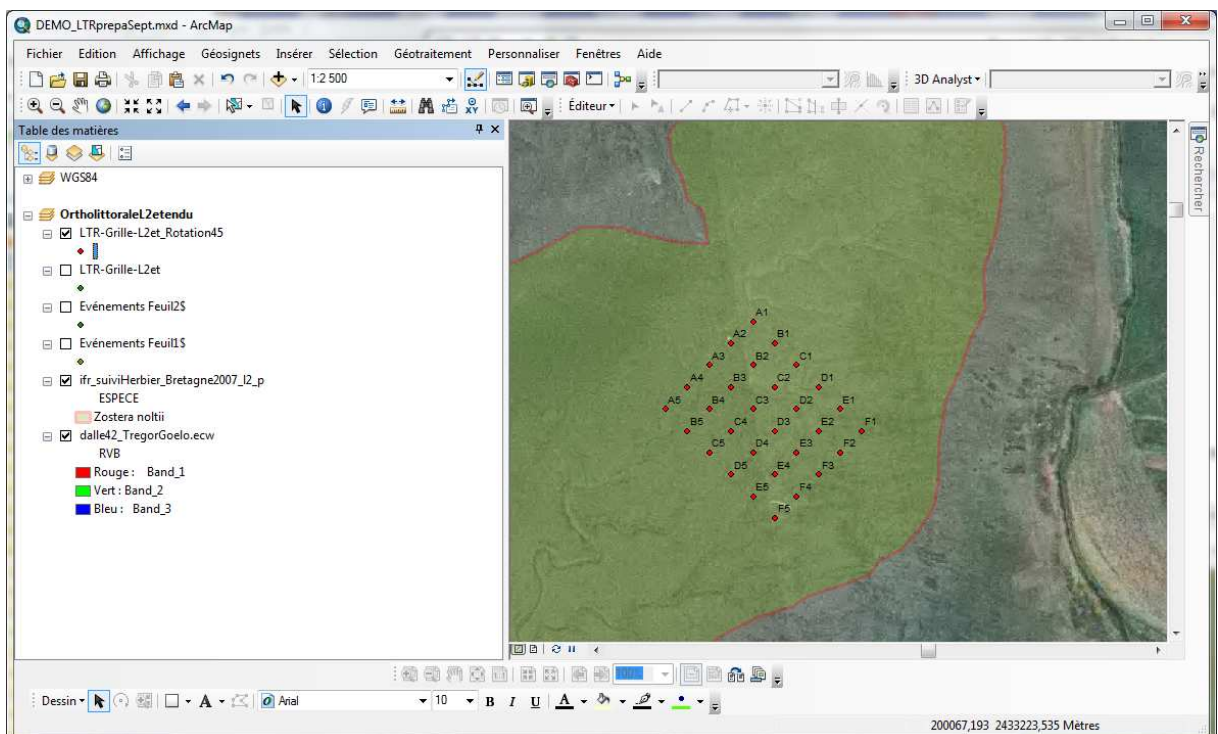
De la même façon que précédemment, pour afficher les étiquettes associées à chaque point, Clic droit sur la couche « LTR-Grille-L2et.shp », sélectionner « Etiqueter ».



Si la forme de la grille ne convient pas, par exemple si elle déborde de l'étendue connue de l'herbier, il est possible, tout en conservant les 30 points de suivi :

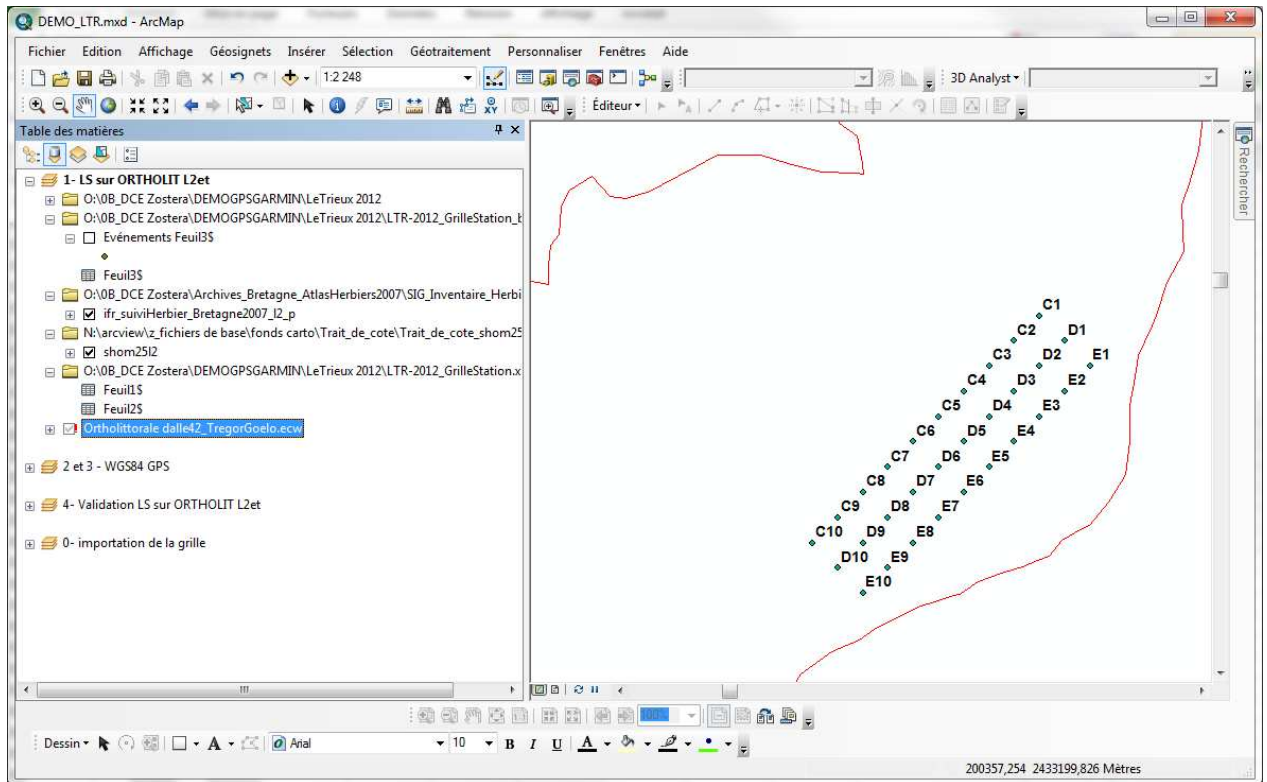
- Soit de la faire pivoter (cas le plus simple)

Dans ce cas, toujours sous ArcMap, en mode édition sur la couche Grille / utiliser la fonction « Rotation » du Menu « Edition » (possible de fixer l'angle précis de rotation en cliquant simultanément sur la lettre A).



- Soit de donner à la grille un rapport colonne/ligne différent (il faut alors repartir du fichier Excel).

Dans l'exemple suivant, la forme de la grille a été modifiée puis une rotation a été appliquée afin de s'adapter au mieux à la forme de l'herbier suivi :



Noter que dans les 2 cas, les champs X et Y de la table attributive initiale ne sont pas mis à jour car les coordonnées X et Y sont encapsulées dans le champ FID... Pour récupérer les nouvelles coordonnées des 30 points de la grille, il faut régénérer les valeurs de XY à partir de la table en utilisant la fonction « Calculer la géométrie... ».

## 2. Deuxième étape : Transfert de la grille vers le GPS pour le positionnement des stations sur le terrain

Une fois la grille positionnée correctement sur l'herbier, avant d'aller sur le terrain, il est nécessaire d'intégrer cette grille sur le GPS.

*Note : Le protocole suivant est applicable pour tout utilisateur de **GPS de type Garmin**.*

Au préalable :

(1) il faut installer le logiciel **DNRGPS** sur le poste de travail à partir duquel seront faits les échanges de fichiers entre le GPS et ArcMap. **DNRGPS** logiciel libre de droit téléchargeable sur Internet permet le transfert de données directement de ArcMap (sur PC) vers les GPS à main de la marque Garmin., autrement dit ce logiciel sert d'interface entre le PC et le GPS.

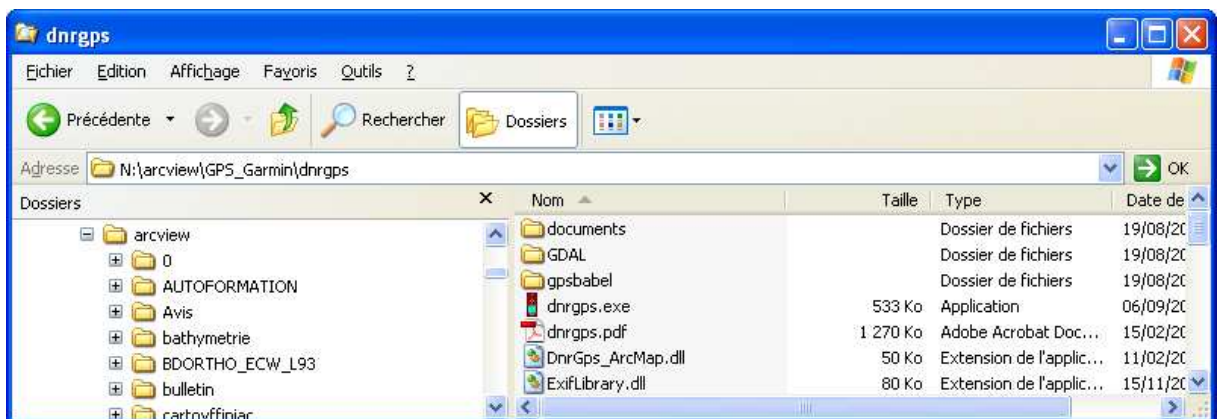
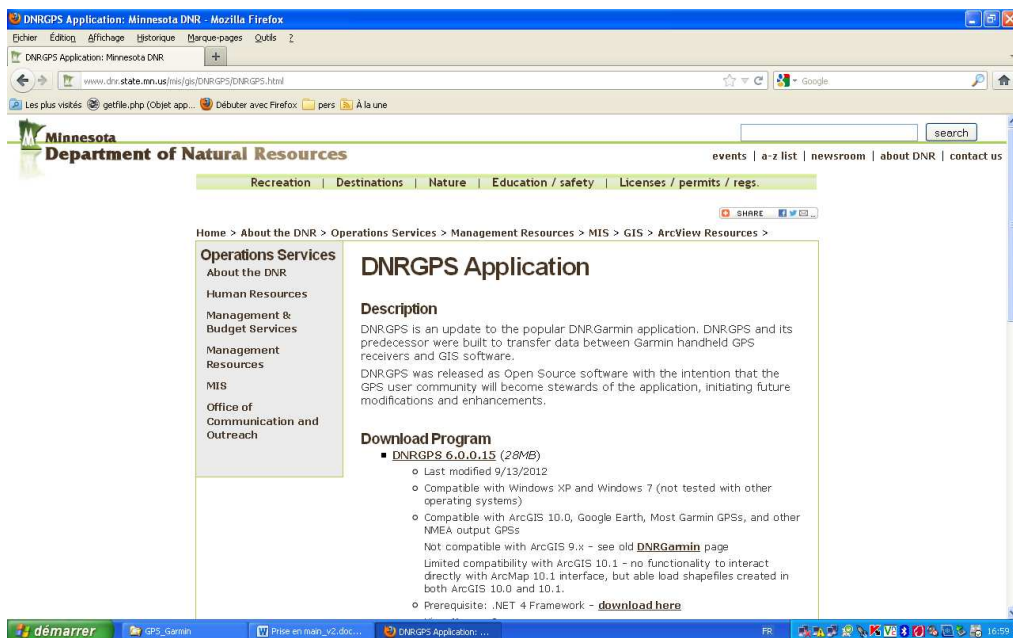
Dans le cas de cette démonstration, le GPS utilisé est le GPS Garmin 72H:

(2) Prévoir la conversion de la grille de points créée sur l'Ortholittorale support de référence livrée en L93 ou l2et vers le wgs84 (actuellement le GPS utilisé ne gère par le l2et – cette étape de transformation ou conversion est donc indispensable et devra également être réalisée au retour du terrain pour l'étape de validation du positionnement des points suivis. Les transformations de projection doivent être réalisées sous ArcMap à partir de ArcTools Box (opération non décrite dans cette annexe).

**Contrainte :** Attention aux projections ne jamais utiliser la 'projection à la volée' proposée par ArcMap mais utiliser les algorithmes de transformation proposés dans ArcTools Box.

## 2.1. Installation du logiciel DNRGPS (GARMIN)

A partir de <http://www.dnr.state.mn.us/mis/gis/DNRGPS/DNRGPS.html>



Exécuter **dnrgps.exe**

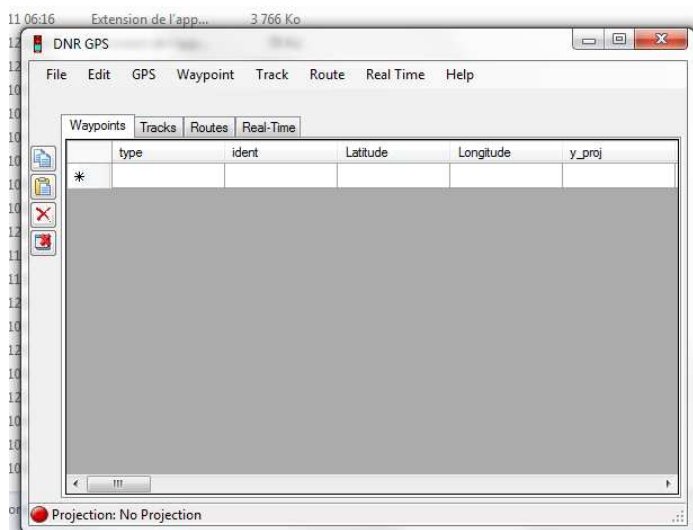
## Lire dnrgps.pdf (notice en anglais)

A l'exécution du .exe : Message d'erreur possible : Attention message : .NET Framework 4.xx a installer et à mettre à jour (cette installation prend quelques minutes) Isq ok

Exécuter **dnrgps.exe**



## Connexion du GPS au PC

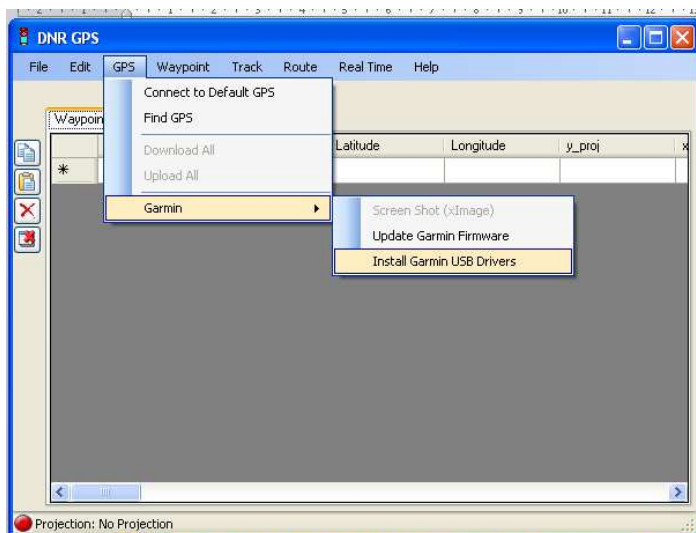


## Menu GPS/Find GPS

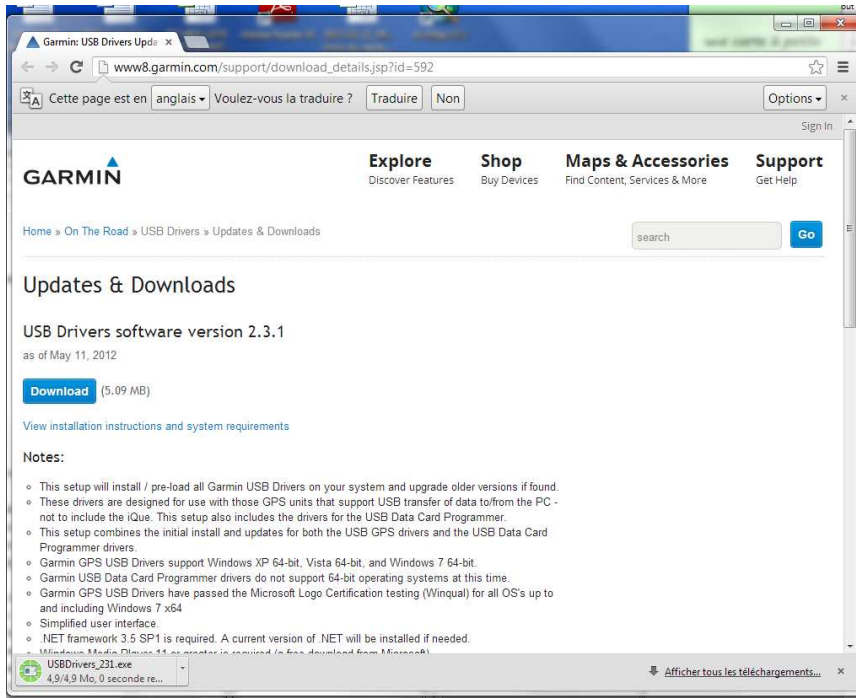


Lors de la première exécution et connexion, il est nécessaire de charger ou de mettre à jour les pilotes ou drivers ...

Pour cela : Menu GPS/Garmin/Install Garmin USB Drivers



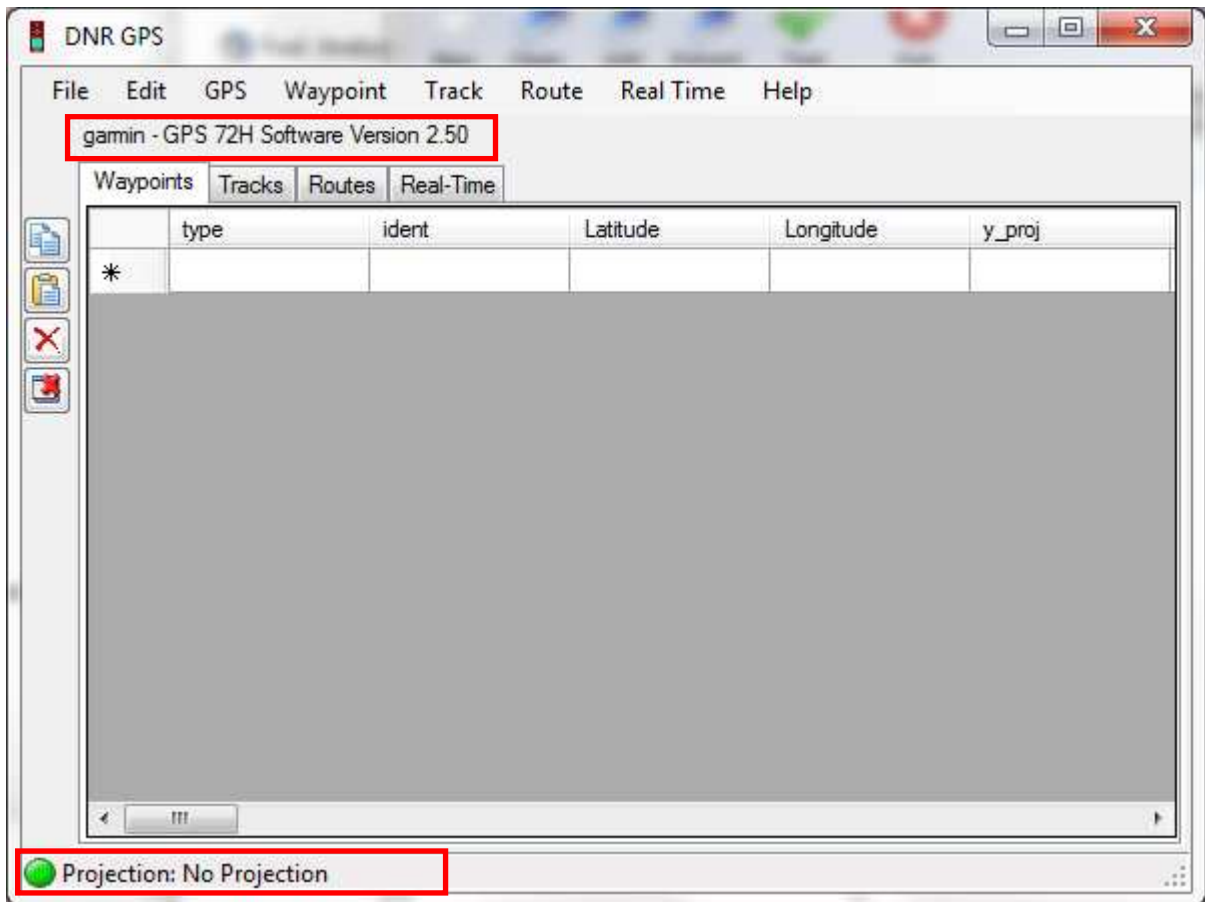
Action qui connecte directement sur un site



Download → Télécharger l'application  
Exécuter USBDrivers.exe



Relancer GPS/Find GPS



La connexion est établie !

## 2.2. Transfert de la grille vers le GPS

### **Récapitulatif des étapes précédentes sur ArcMap :**

Après avoir travaillé sur les documents de référence (Ortholittorale et Inventaires existants...) et avoir positionné la grille sur l'herbier centrée sur le D3 (se reporter à la 1<sup>ère</sup> partie de cette annexe), transformer la grille définie en projection métrique (L2et ou I93) en WGS84 pour intégrer les 30 points dans le GPS (Rappel : le GPS Garmin ne gère pas le L2et ce qui rend obligatoire cette conversion).

*LTR-Grille-L2et.shp → LTR-Grille-WGS84.shp*

### **DNR GPS Garmin**

Lancer l'exécutable dnrgps.exe.

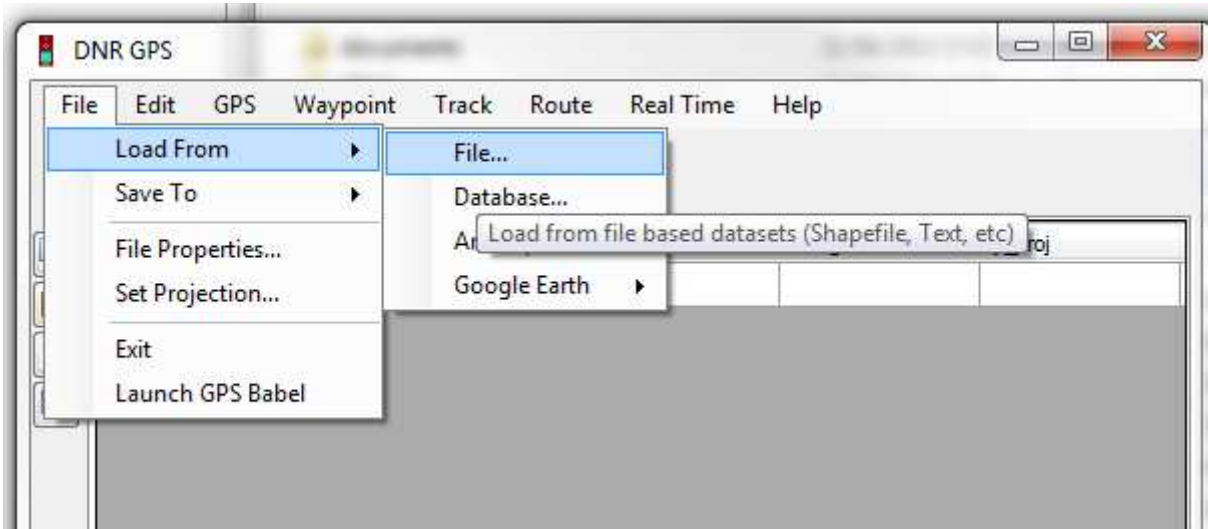
Après connexion effective entre le PC et le GPS.

Vérifier 'No Projection' sur DNR (voir illustration plus haut), ce qui confirme que la configuration de l'interface d'échange entre le PC et le GPS est bonne. Les coordonnées des points de suivis à transférer sur le GPS doivent être en format WGS84 (degrés décimaux).

Note : s'assurer que le GPS soit également configuré en WGS84



A partir du Menu **File**



Sélectionner le fichier correspondant à la grille transformée en WGS84  
**LTR-Grille-WGS84.shp**

Menu **Waypoint Upload** = téléchargement des points du **PC vers le GPS**

Tous les points de la grille sont ainsi chargés sur le GPS et pourront être sélectionnés sur le terrain à partir de la fonction « Goto » du GPS.

### 3. Troisième étape : Valider les positions d'observation pour l'année en cours

Au retour du terrain, afin de vérifier le cheminement réalisé sur le terrain, il est possible de récupérer le trajet réalisé au cours de la mission d'observation.

#### **DNR GPS Garmin**

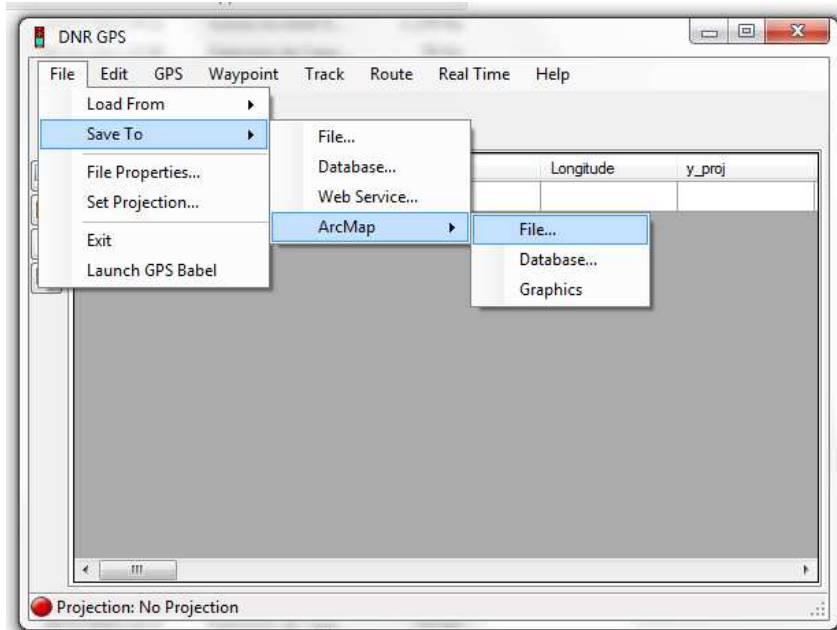
Lancer l'exécutable dnrgps.exe.

Après connexion effective entre le PC et le GPS

Menu **Track Download** = téléchargement du **GPS vers le PC** pour récupérer la trace du parcours sur le terrain ou **navigation** (terme couramment utilisé pour les campagnes embarquées et repris ici pour accorder à nos missions sur l'écran toute leur importance).

Toutes les navigations enregistrées sur le GPS apparaissent sur l'interface DNR. Il faut alors les sauvegarder en vue de les afficher sur la grille de référence.

Menu **File**



Classer et Nommer le fichier de la façon qui convient en sélectionnant le type de fichier ESRI Shapefile (\*.shp), il pourra ainsi être lu automatiquement dans ArcMap

### **LTR-Nav-Terrain-WGS84.shp**

#### **Arcmap**

Pour valider la navigation, à partir de ArcMap, charger ce fichier dans bloc de données en WGS84 et le transformer de WGS84 en L93 ou L2et (système de projection de l'Ortholittorale qui fait office de support de référence). Cette transformation doit être réalisée à partir de ArcTools Box (opération non décrite dans cette annexe).

### **LTR-Nav-Terrain-L2et.shp**

Cette nouvelle couche peut alors être affichée sur le bloc de données en L93 ou L2et ayant servi à la préparation de la campagne terrain, avec en arrière-plan l'Ortholittorale et doit se superposer sur la grille de référence de suivi avec un minimum de décalage.

