

Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton

Fascicule technique pour la mise en œuvre des suivis
"Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton
des réseaux de contrôle de surveillance DCE dans l'océan Indien



Septembre 2020
Version 5.0

Partenaires scientifiques et techniques :

Réseaux de Contrôle de Surveillance DCE en océan Indien

Suivis "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton"

CONTRIBUTION AUX TRAVAUX DES GROUPES DE TRAVAIL DCE LA REUNION ET MAYOTTE sur la thématique "Physico-chimie et phytoplancton"

Coordination :

Magali DUVAL, Michel ROPERT et Cathy TREGUIER
Ifremer Délégation Océan Indien

Expertise thématique et scientifique :

Phytoplancton :

Jean TURQUET, Alina TUNIN LEY
CITEB (anciennement ARVAM, Hydoréunion puis NEXA)
Bruno DELESALLE
EPHE Perpignan

Physico-Chimie :

Pascale CUET, Perrine MANGION
UMR Entropie, Université de La Réunion
Harold CAMBERT
ARVAM

Rédaction / mise en page du document

Magali DUVAL et Coralie VERMENOT
Ifremer Délégation Océan Indien

Mise à jour du document (v5) :

Magali DUVAL, Cathy TREGUIER et Chloé FARI
Ifremer Délégation Océan Indien

Contributeurs du Groupe de Travail DCE Réunion :

Faïçal BADAT, Léonard DURASNEL, Alexandre MOULLAMA
Office de l'eau Réunion

Franck BRUCHON, Edouard COLLIN, Ludovic HOARAU, Ronan Le GOFF, Solenn LOCHU, Laurence MAUREL, Brice MILLER, Coralie VERMENOT.
Ifremer Délégation Océan Indien

Pascal TALEC

DEAL La Réunion

Contributeurs du Groupe de Travail DCE Mayotte (depuis 2012)

Éric BRENNER, Clément LELABOUSSE
Parc Naturel Marin de Mayotte

Hairia ABDALLAH, Anil AKBARALY (jusqu'en avril 2012)
DEAL Mayotte

Référents nationaux :

Référents DCE nationaux Ifremer,
Référents Quadriga Ifremer,
Référents AFB DCE et DCE/DOM.

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

Septembre 2020

Version 5.0

Ce document doit être cité comme suit :

GTs DCE La Réunion et Mayotte "Physico-Chimie et Phytoplancton", 2020. Fascicule technique pour la mise en œuvre des suivis "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" des réseaux de contrôle de surveillance DCE dans l'océan Indien. R.RBE/DOI/2020-010, 61p.

Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : R.RBE/DOI/2020-010 N° de Version : 5.0 Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/>		date de publication : Septembre 2020 nombre de pages : 61 bibliographie : oui, dans le texte illustration(s) : oui langue du rapport : français
Titre : Fascicule technique pour la mise en œuvre des suivis "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" des réseaux de contrôle de surveillance DCE dans l'océan Indien		
Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/>		Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>
<u>Coordination :</u> Magali DUVAL, Michel ROPERT et Cathy TREGUIER <u>Expertise thématique et scientifique :</u> Harold CAMBERT Pascale CUET Bruno DELESALLE Magali DUVAL Perrine MANGION Alina TUNIN LEY Jean TURQUET <u>Rédaction / mise en page du document :</u> Magali DUVAL et Coralie VERMENOT <u>Mise à jour du document (v5) :</u> Magali DUVAL, Cathy TRÉGUIER et Chloé FARI <u>Contribution / autres membres GT DCE :</u> Membres des GT DCE La Réunion et Mayotte cités page précédente.	Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer RBE/DOI ARVAM, La Réunion UMR Entropie, Université de La Réunion EPHE Perpignan Ifremer RBE/DOI UMR Entropie, Université de La Réunion CITEB (ex HydroRéunion/NEXA), La Réunion CITEB (ex HydroRéunion/NEXA), La Réunion Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI	
Cadre de la recherche : 2010-2013 : Contrat Ifremer/DEAL de La Réunion n° 11/1219452/BF 2014-2015 : Convention Ifremer/Office de l'Eau Réunion n°14/1211501/F Conventions Ifremer/PNMM/AAMP n°14/1211747 et n°15/1212077/MF et Conventions Ifremer/ONEMA 2014 et 2015 (La Réunion et Mayotte) 2016-2017 : Convention Ifremer/Office de l'Eau Réunion n°16/1212627/F Convention Ifremer/PNMM/AAMP n°16/1212601 et Conventions Ifremer/ONEMA 2016 et 2017 (La Réunion et Mayotte) 2018-2019 : Convention Ifremer/Office de l'Eau Réunion n°18/2216642/F et Conventions Ifremer/AFB 2018 et 2019 (La Réunion et Mayotte) 2020 : Conventions Ifremer/OFB 2020 (La Réunion et Mayotte)		
Destinataires : DEAL Réunion et Mayotte, Office de l'Eau de La Réunion, Parc Naturel Marin de Mayotte, OFB		
Résumé Les travaux relatifs à la mise en œuvre de la DCE à La Réunion ont démarré au début des années 2000, avec la mise en place de 4 groupes de travail DCE experts dont les travaux ont été synthétisés au travers de 4 fascicules techniques définissant les conditions de mise en œuvre des différents suivis du réseau de contrôle de surveillance (RCS) DCE en milieu marin à La Réunion. Une première version du fascicule "Physico-chimie & phytoplancton", a été produite en 2012 et validée au niveau national par les référents DCE (Coordination "phytoplancton", Coordination "hydrologie", Coordination nationale DCE milieu Marin, responsable projet Quadrige). Le Parc Naturel Marin de Mayotte (PNMM) est chargé de la mise en œuvre de la DCE sur ce territoire depuis 2013, et s'appuie sur un groupe de travail experts "eaux littorales" animé conjointement par le PNMM et l'Ifremer. En 2018, il a été décidé d'étendre le périmètre d'application des fascicules techniques aux deux territoires. Ce fascicule a vocation à constituer le support technique des méthodes et des référentiels pour la réalisation des suivis "Physico-chimie et phytoplancton" du RCS DCE dans l'océan Indien. Il précise les protocoles des prélèvements ainsi que des analyses à réaliser.		
Mots-clés : DCE ; La Réunion ; Mayotte ; Contrôle de surveillance ; Hydrologie ; Paramètres physico-chimiques ; Phytoplancton		
Référence documentaire : GTs DCE La Réunion et Mayotte "Physico-Chimie et Phytoplancton". 2020. Fascicule technique pour la mise en œuvre des suivis "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" des réseaux de contrôle de surveillance DCE dans l'océan Indien. R.RBE/DOI/2020-010, 61p.		

Sommaire

1. CONTEXTE : LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU (DCE)	11
2. APPLICATION EN OCEAN INDIEN	13
2.1. LA DCE A LA REUNION.....	13
2.2. LA DCE A MAYOTTE.....	14
2.3. PRESENTATION DES FASCICULES	15
3. LES SUIVIS	16
3.1. SUIVI "RHLR".....	16
3.1.1. Positionnement des lieux de surveillance.....	16
3.1.2. Périodes et fréquences d'échantillonnage.....	17
3.1.3. Mesures et paramètres.....	18
3.2. SUIVI "RHLM"	20
3.2.1. Positionnement des lieux de surveillance.....	20
3.2.2. Périodes et fréquences d'échantillonnage.....	21
3.2.3. Mesures et paramètres.....	22
4. PROTOCOLES D'ECHANTILLONNAGE.....	24
4.1. MATERIEL.....	24
4.2. CONDITIONNEMENT DU FLACONNAGE	26
4.3. MESURES IN SITU ET PRELEVEMENTS	27
4.3.1. Mesures <i>in situ</i>	28
4.3.2. Prélèvement des échantillons d'eau de mer	30
4.3.3. Prélèvement de l'échantillon de phytoplancton via un trait de filet.....	36
4.4. PRE-TRAITEMENT DES ECHANTILLONS	37
4.4.1. Filtration du silicate.....	37
4.4.2. Pasteurisation des échantillons de nutriments	37
4.4.3. Filtration des échantillons de chlorophylle <i>a</i>	38
4.4.4. Filtration des échantillons pour analyse pigmentaire	39
4.4.5. Dénombrement par microscopie	39
4.4.6. Dénombrement par cytométrie en flux.....	39
4.5. CONSERVATION DES ECHANTILLONS.....	40
4.5.1. Au cours de la campagne de prélèvement	40
4.5.2. Stockage temporaire avant transfert au laboratoire d'analyses	41
4.5.3. Transfert au laboratoire d'analyses	41
4.5.4. Stockage au laboratoire d'analyses	41
4.6. ASSURANCE QUALITE	43
5. ANALYSE DES ECHANTILLONS.....	45
5.1. MESURE DE L'OXYGENE DISSOUS.....	45
5.2. MESURE DE LA SALINITE	45
5.3. MESURE DE LA TURBIDITE.....	45

5.4. ANALYSE DES NUTRIMENTS	46
5.5. ANALYSE DE LA CHLOROPHYLLE A ET DES PHEOPIGMENTS	47
5.6. ANALYSE PIGMENTAIRE	47
5.7. DENOMBREMENT DU PHYTOPLANKTON.....	47
5.7.1. Microscopie inversée	48
5.7.2. Cytométrie en flux.....	48
5.8. ASSURANCE QUALITE	49
6. BANCARISATION DES DONNEES	50
6.1. QUADRIGE ² - SI DE REFERENCE "EAUX LITTORALES"	50
6.2. CYCLE DE VIE DES DONNEES DANS Q ²	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	52
TABLES DES ILLUSTRATIONS	53
ANNEXES.....	55
ANNEXE I : MASSES D'EAU COTIERES DU BASSIN DE LA REUNION	56
ANNEXE II : MASSES D'EAU COTIERES DU BASSIN DE MAYOTTE	58
ANNEXE III : TOLERANCE D'ACCES AU LIEU "SAINT-PIERRE - RAVINE BLANCHE (LAGON)"	
60	
ANNEXE IV : FEUILLE DE MER	61

Résumé des modifications

Version	Modifications
2.0	<p>Masse d'eau LC11 "Lagon de Saint-Leu" – Modification du lieu de surveillance</p> <p>Conditions de transport des échantillons devant être conservés à -80°C - Précision des préconisations</p> <p>Analyse pigmentaire - Préconisation sur le volume à filtrer</p> <p>Bancarisation Chlorophylle <i>a</i> et Phéopigments et dénombrement du phytoplancton "trait de filet" - Ajout d'une information sur la fraction</p> <p>Intégration des données dans Quadri² / Masque de saisie QUADRILABO – Simplification de ce paragraphe compte-tenu de la mise à disposition de la version 1.0 du masque et de sa notice associée.</p> <p>+ Précisions/corrections mineures</p>
3.0	<p>Précision sur le mandat du GT DCE Réunion à compter de 2015 (§ 1)</p> <p>Mise à jour de la carte 2 et ajout du mnémonique Q² du nouveau point de la ME LC11 (§ Erreur ! source du renvoi introuvable.)</p> <p>Précisions sur l'ordre d'échantillonnage des lieux de surveillance (§ Erreur ! Source du renvoi introuvable.)</p> <p>Précisions de l'ordre de sous-tirage des échantillons et ajout de la possibilité d'effectuer l'étape de filtration des échantillons de nutriments sur le terrain et de conseils sur le conditionnement des échantillons de nutriments à bord dans les glaciers (§ 4.3.2)</p> <p>Précisions du protocole d'échantillonnage du phytoplancton (§ 4.3.2 5 et 6) : paragraphes totalement modifiés, pas de suivi de modification pour des raisons de lisibilité</p> <p>Les éléments concernant le stockage de longue durée des échantillons pour le dénombrement de phytoplancton sont déplacés du § 4.3 au § 4.4.</p> <p>Précisions des conditions de conservation des échantillons (ammonium par méthode manuelle, chlorophylle <i>a</i>, pigments ainsi que pico et nano phytoplancton) et création de 3 sous-paragrophes pour mettre en évidence les différents cas de stockage (§ 4.5)</p> <p>Précisions sur les modalités de bancarisation des résultats "douteux" et "faux"</p> <p>+ Précisions/corrections mineures</p>
4.0	<p>Fascicule élargi au Bassin de Mayotte : refonte des § 1 et 2 (pas de suivi de modification pour une meilleure lisibilité). Ajout d'un paragraphe sur les indicateurs à la place du § 8 de la version précédente.</p> <p>Suppression du § relatif aux données utilisées pour définir le suivi RCS à La Réunion.</p> <p>Description du suivi "RHLR" : précision au § 3.1.2 sur les conditions de marée pour les prélèvements et création d'un tableau synthétique (Tableau 3).</p> <p>Ajout du suivi "RHLM" (§ 3.2) (pas de suivi de modification pour une meilleure lisibilité).</p> <p>Mesures <i>in situ</i> (§ 4.3.1) : précautions pour les mesures <i>in situ</i>.</p> <p>Prélèvement des échantillons d'eau de mer (§ 4.3.2) : ajout d'un flacon pour l'échantillon de dénombrement de phytoplancton et précisions sur le fixateur.</p> <p>Prélèvement de l'échantillon de phytoplancton via un trait de filet (§ 4.3.3) : diminution du temps de traction du filet.</p> <p>Conservation et transfert d'échantillons au laboratoire (§ 4.5.2 à 4.5.4) : Précisions sur les modalités.</p> <p>Précisions sur les méthodes de dénombrement du phytoplancton (§ 5.7).</p> <p>Simplification de la partie bancarisation des données (§ 6) (pas de suivi de modification pour une meilleure lisibilité)</p> <p>Accès au lieu "Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)" : introduction d'une tolérance autour du lieu (Annexe III)</p> <p>+ Précisions/corrections mineures</p>
5.0	<p>Mise à jour des cartes aux § 3.1.1 et 3.2.1. (sans suivi de modification)</p> <p>Modification de la stratégie RHLM (§ 3.2) (augmentation de la fréquence des campagnes, ajout d'une station)</p> <p>Modification des caractéristiques de la masse d'eau "Baie de Boueni" (Annexe II)</p>

1. CONTEXTE : LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU (DCE)

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

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

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

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

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

Ces critères permettent de définir la typologie des différentes masses d'eau (Annexes I & II pour La Réunion et Mayotte). En outre, chacune des masses d'eau retenue doit être si possible délimitée par des points "naturels" (cap, pointe, limite de bassin versant ...), et doit être la plus homogène possible du point de vue de ses caractéristiques naturelles ou des pressions exercées par les activités humaines, et ce afin que l'état constaté y soit lui-même le plus homogène possible.

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

- **Le Contrôle de Surveillance**, qui doit permettre le suivi de la qualité (aspects qualitatif, et également quantitatif pour ce qui concerne les eaux de surface et souterraines) d'un ensemble de masses d'eau jugées représentatives du district hydrographique, et ce sur le long terme,
- **Le Contrôle Opérationnel**, devant être appliqué aux masses d'eau risquant de ne pas atteindre le "bon état" (ces masses d'eau, anciennement qualifiées de "RNABE" pour Risque de Non Atteinte du Bon Etat, sont aujourd'hui qualifiées de "RNAOE", pour Risque de Non Atteinte des Objectifs Environnementaux,

- **Le Contrôle d'Enquête**, à appliquer en cas de non atteinte (probable) des objectifs et en absence d'explication ou de connaissance sur les facteurs de dégradation,
- **Le Contrôle Additionnel**, concernant certaines zones protégées particulières telles que les eaux de baignade, les habitats naturels, ainsi que zones hébergeant des espèces ou des habitats protégés, notamment au niveau communautaire.

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

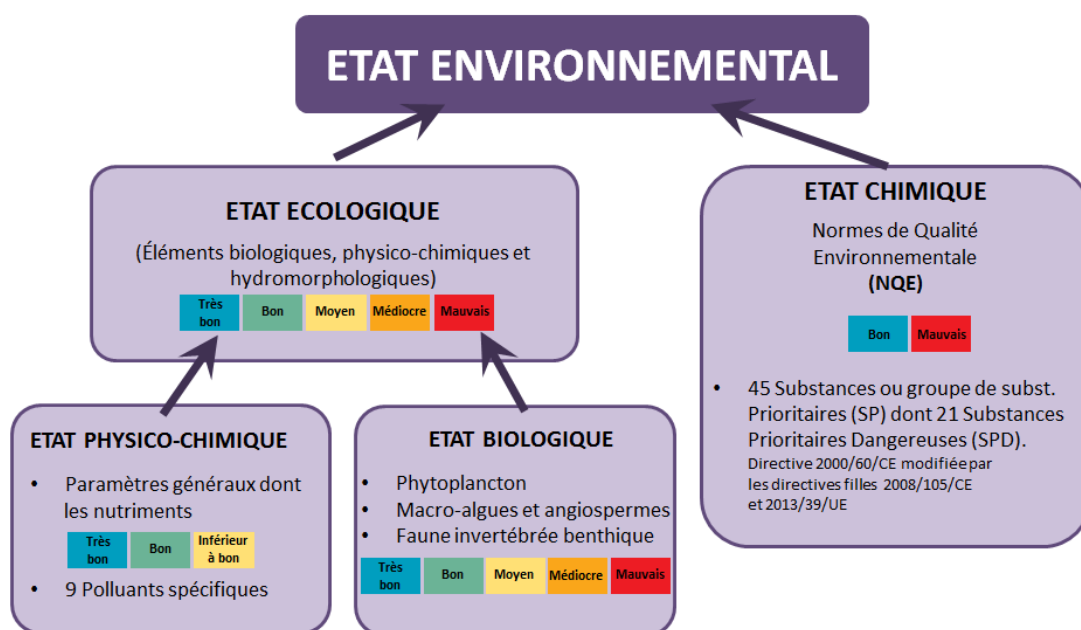


Figure 1 : Schéma de l'évaluation de l'état d'une masse d'eau imposé par la DCE

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

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

Les paramètres physico-chimiques à prendre en considération sont :

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

2. APPLICATION EN OCEAN INDIEN

Le présent fascicule technique est consacré à la mise en œuvre des suivis des RCS en océan Indien, dénommés RHLR (Réseau Hydrologique Littoral Réunionnais) à La Réunion, et RHLM (Réseau Hydrologique Littoral Mahorais) à Mayotte pour les paramètres physico-chimiques et phytoplancton.

Les § 4 et 5 de ce document sont applicables à tous les prélèvements et analyses à réaliser selon les protocoles de la DCE.

2.1. La DCE à La Réunion

A La Réunion, la DEAL, chargée de la mise en œuvre de la DCE, a initié dès le début des années 2000 différents projets visant à recenser les données existantes et en acquérir de nouvelles, en vue de mettre en place les suivis du Réseau de Contrôle et de Surveillance de la DCE.

Entre 2008 et 2013, la DEAL s'est appuyée sur la Délégation Ifremer océan Indien (DOI) qui a assumé la mission d'assistance à maîtrise d'ouvrage à travers différents projets, et en créant et coordonnant quatre Groupes de Travail thématiques (GT) associant l'ensemble des experts locaux et métropolitains concernés. En 2012, la maîtrise d'ouvrage de la mise en œuvre des suivis du Réseau de Contrôle de la Surveillance DCE a été confiée institutionnellement à l'Office de l'Eau Réunion. **De 2013 à 2019, la Délégation Ifremer océan Indien a assuré un appui au Bassin de La Réunion dans le cadre de deux conventions (AFB-ONEMA/Ifremer et Office de l'Eau Réunion/Ifremer). Depuis 2020 le soutien est encadré par une seule convention OFB/Ifremer.** Il comprend, entre autres, la mise à jour des différents fascicules techniques.

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

Ces GT, chacun dans leur domaine, ont eu pour mission entre 2010 et 2012 :

- de **définir les paramètres et indicateurs** (valeurs seuils, grilles) pertinents pour évaluer l'état des masses d'eau,
- de **bancariser** (ou faire bancariser) dans Quadrigé² (ou Q²), base nationale de référence pour l'ensemble des données environnementales marines, les données pertinentes déjà acquises localement dans le cadre de suivis ou d'études ponctuelles¹,
- **d'utiliser les grilles d'indicateurs** définies/retenues et les données pertinentes bancarisées afin de réactualiser **l'état des lieux** des masses d'eau réunionnaises,
- d'élaborer le réseau pérenne de suivi de la DCE dans le cadre du réseau de contrôle de surveillance.

¹ Ce rapatriement sous Q² permet de sécuriser ces données au sein du serveur SISMER, et de bénéficier du couplage Q²-S3E (Système d'Evaluation de l'Etat des Eaux) permettant le rapportage européen de la DCE.

A compter de 2015, le GT DCE "eau littorale" de La Réunion ne se réunit plus par thématique mais en fonction de l'actualité et à raison de deux voire trois réunions par an. Son mandat est le suivant :

- contribuer à l'optimisation et à l'adaptation des suivis du RCS, y compris les grilles/indicateurs, en fonction du retour d'expériences de la mise en œuvre des suivis, de l'amélioration des connaissances et de l'évolution de la réglementation, ...,
- valider la mise à jour des fascicules qui découlent des éléments pré-cités,
- contribuer à la définition des autres réseaux de contrôles (RCE, RCO, ...) de la DCE,
- valider à dire d'expert l'évaluation de l'état des lieux issus des scripts S3E,
- contribuer à la valorisation des données en apportant un soutien à leur qualification, à leur diffusion, ...

2.2. La DCE à Mayotte

Le contexte particulier de Mayotte (absence d'Office de l'Eau, moyens opérationnels plus limités,...) a conduit l'Etat à désigner la Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DEAL) comme opérateur de la mise en œuvre de la DCE à Mayotte. Pour le volet littoral, jusqu'en 2012, la mise en œuvre de la DCE a été assurée par la DEAL Mayotte avec l'appui du Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM). Depuis 2013, le travail se poursuit sous maîtrise d'ouvrage déléguée au Parc Naturel Marin de Mayotte sous financement de l'ONEMA (puis de l'AFB de 2017 à 2019, et de l'OFB à partir de 2020).

En 2013, le Parc Naturel Marin de Mayotte (PNMM) a engagé la mise en œuvre de réflexions sur le système d'évaluation de la qualité des eaux côtières et du programme de surveillance, en s'appuyant sur un GT experts eaux littorales (GT experts ELIT), auquel l'Ifremer contribue dans le cadre de son appui au PNMM.

Le mandat de ce Groupe de Travail est le suivant :

- Proposer des indicateurs biologiques et chimiques pertinents à mettre en place,
- Poursuivre et consolider les travaux sur le calage de certains seuils et grilles des indicateurs DCE,
- Finaliser la définition des programmes de surveillance dans le cadre de la DCE (périodes et fréquences, nombre/localisation des sites, protocole d'échantillonnages, méthodes d'analyse...),
- Adapter et optimiser les protocoles d'échantillonnage et d'analyse adaptés au contexte de Mayotte.

Par ailleurs, le GT a également pour mandat d'accompagner le PNMM dans les réflexions concernant les indicateurs du tableau de bord de son Plan de Gestion visant la qualité de l'eau.

Le secrétariat du GT experts ELIT est assuré par le PNMM, l'Ifremer apportant son soutien technique pour l'animation.

Le premier volet du RCS a été mis en place sur la partie hydrologie à partir d'octobre 2010 au travers du Réseau Hydrologique Littoral Mahorais (RHLM). Les protocoles mis en œuvre ont été adaptés de ceux du RHLR.

2.3. Présentation des fascicules

L'objectif de ces fascicules (photo 1) est d'être à la fois le document technique de référence permettant la réalisation du suivi, et une ébauche de cahier des clauses techniques particulières (document support pour le lancement d'un appel d'offres pour la réalisation dudit suivi ou d'autres suivis dans cette thématique). Ils précisent par conséquent les protocoles et procédures à respecter pour la réalisation des prélèvements et des analyses, ainsi que la stratégie spatiale et temporelle d'échantillonnage arrêtée.

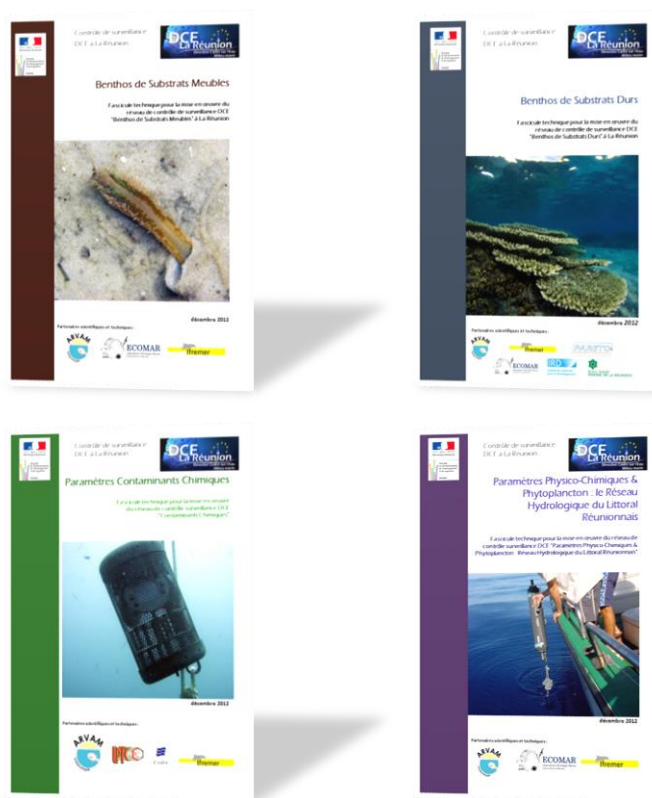


Photo 1 : Couvertures des 4 fascicules techniques de définition des suivis du réseau de contrôle de surveillance à La Réunion

Les suivis des paramètres physico-chimiques et phytoplancton décrits dans le présent fascicule reposent sur l'acquisition de données de température, de salinité, d'oxygène dissous, de turbidité et de concentrations en nutriments (éléments chimiques et physico-chimiques soutenant les éléments biologiques) ainsi que sur la détermination des teneurs en chlorophylle a et le suivi du phytoplancton (éléments biologiques). Ces paramètres sont suivis dans le cadre du RHLR ainsi que du RHLM, et permettent d'évaluer l'état des masses d'eau côtières.

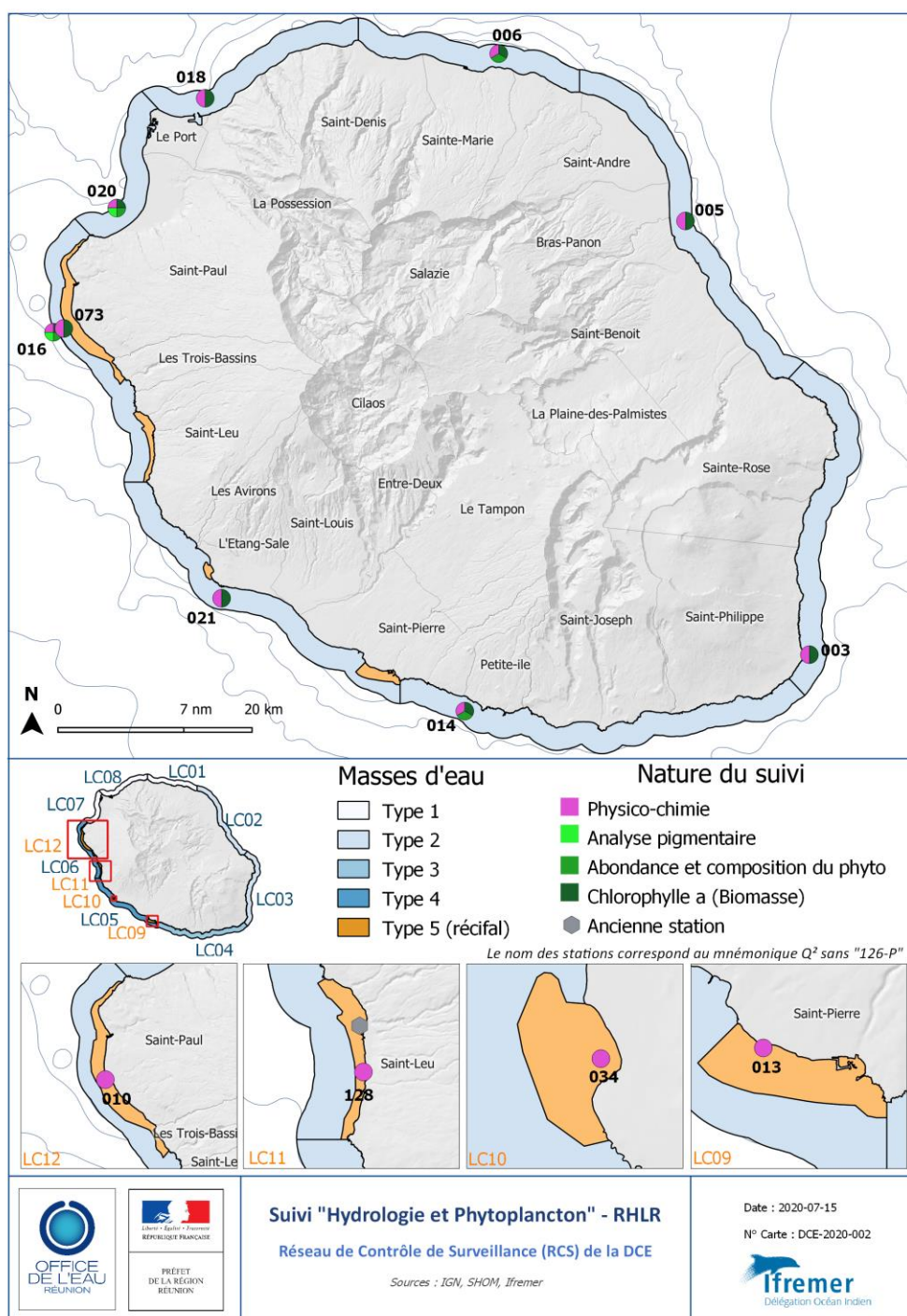
La bancarisation des données est abordée succinctement dans ce document. Elle est plus détaillée dans le "Manuel simplifié de saisie des paramètres physico-chimiques et phytoplancton dans Quadrige" (Miller Brice, Treguier Cathy, Duval Magali (2019). Quadrige – Manuel simplifié de saisie des données "physico-chimie et phytoplancton". Océan Indien. R.RBE/DOI 2019-004. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00483/59428/>).

Les indicateurs et grilles de qualité permettant d'actualiser l'état des lieux des masses d'eau sont décrits dans un document spécifique ([GTs DCE La Réunion et Mayotte, Indicateurs DCE, 2020](#)). Ils sont également disponibles dans les textes de référence DCE, et notamment ceux édités par le ministère en charge de l'Ecologie.

3. LES SUIVIS

3.1. Suivi "RHLR"

3.1.1. Positionnement des lieux de surveillance



13 lieux de surveillance ont été définis par le GT "DCE eaux littorales" de La Réunion, un par masse d'eau côtière (MEC), plus un lieu de référence situé un peu plus au large ("Large Ermitage") (Carte 1).

Les coordonnées GPS des lieux sont données dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Positionnement des lieux de surveillance du RHLR

Masse d'eau	Mnémonique Q ²	Lieu de Surveillance	Prof. (m)	Longitude WGS 84	Latitude WGS84
LC01	126-P-006	Sainte-Marie Est Port (Large)	20	55,563834	-20,882000
LC02	126-P-005	Bras-Panon Rivière des Roches (Large)	75	55,713667	-21,007667
LC03	126-P-003	Saint-Philippe Pointe de la Table (Large)	75	55,813333	-21,332333
LC04	126-P-014	Petite-Île Grande Anse	60	55,536467	-21,374733
LC05	126-P-021	Saint-Louis	60	55,341299	-21,290166
LC06	126-P-073	L'Ermitage	30	55,214410	-21,088167
LC06*	126-P-016*	L'Ermitage (Large)	75	55,206000	-21,091000
LC07	126-P-020	Saint-Paul (Large)	75	55,256967	-20,997833
LC08	126-P-018	La Possession (Large)	75	55,328017	-20,915417
LC09	126-P-013**	Saint-Pierre Ravine Blanche (Lagon)**	1	55,461100	-21,342500
LC10	126-P-034	L'Etang-Salé Le Bassin pirogue (Platier)	1	55,332920	-21,269510
LC11	126-P-128***	Saint-Leu Gendarmerie (Lagon)***	1	55,286239	-21,181000
LC12	126-P-010	Saint-Gilles (Lagon)	1	55,221408	-21,081969

* Lieu de surveillance de référence.

** Lieu pouvant présenter des difficultés d'accès. Une tolérance spatiale a été définie (Annexe III)

*** Nouveau lieu créé mi-2015 en remplacement du lieu "Saint-Leu La Corne (Lagon)" présentant des difficultés d'accès

Les paramètres listés au § 2.3 sont suivis selon les prescriptions du Tableau 2.

3.1.2. Périodes et fréquences d'échantillonnage

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

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

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

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

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

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

Les différents lieux de surveillance doivent être échantillonnés lors des marées de vives eaux :

- pour les masses d'eau côtières de type récifal : autour de la basse mer du matin (BM +/- 2 h),
- pour les autres masses d'eau côtières : dans le sens des aiguilles d'une montre, en finissant par la Possession.

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

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

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

3.1.3. Mesures et paramètres

Les mesures *in situ* et prélèvements sont réalisés pour les lieux de surveillance et aux profondeurs indiqués dans le Tableau 2.

Pour l'élément de qualité "phytoplancton", l'échantillonnage se fait toute l'année sur toutes les masses d'eau côtières de type 1 à 4 pour la biomasse (chlorophylle *a*), et de manière allégée en fréquence et dans l'espace pour la composition et l'abondance. Dans les masses d'eau côtières de type récifal (type 5), le paramètre biomasse est considéré non pertinent par le GT "physico-chimie et phytoplancton" DCE de La Réunion compte-tenu de la variabilité de ce paramètre liée aux phénomènes suivants : le broutage du phytoplancton de la part des organismes benthiques, l'intensité lumineuse très forte et une faible profondeur qui entraînent une dégradation de la chlorophylle *a*, le décrochage du microphytobenthos par exemple lors des épisodes de fortes houles.

Tableau 2 : Paramètres suivis et niveaux de prélèvement pour chaque lieu de surveillance (RHLR)

Libellé du lieu et trois derniers chiffres du mnémonique			Physico-chimie					Phytoplancton			
			Température	Salinité	Turbidité	Oxygène	Nutriments	Chlorophylle <i>a</i> (biomasse)	Analyse pigmentaire (HPLC)	Dénombrement– microscopie	Dénombrement– cytométrie en flux
Lieux en masse d'eau côtière de type 1 à 4	Sainte-Marie - Est Port (Large)	006	S/F	S/F	S	S/F	S	S		S	S
	Bras-Panon – Rivière des Roches (Large)	005	S	S	S	S	S	S			
	Saint-Philippe - Pointe de la Table (Large)	003	S	S	S	S	S	S			
	Petite-Île - Grande Anse	014	S	S	S	S	S	S		S	S
	Saint-Louis	021	S	S	S	S	S	S			
	L'Ermitage	073	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
	L'Ermitage (Large)	016	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	Saint-Paul (Large)	020	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	La Possession (Large)	018	S	S	S	S	S	S			
Lieux en masse d'eau côtière de type 5	Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)	013	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m				
	L'Etang-Salé - Le Bassin pirogue (Platier)	034	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m				
	Saint-Leu - Gendarmerie (Lagon)	128	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m				
	Saint-Gilles (Lagon)	010	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m				
Nombre de lieux			13	13	13	13	13	9	2	4	4
Nombre de fois par an (mois 02, 03, 07, 08, 11, 12)			6	6	6	6	6	6	6	3*	3*
Fréquence par cycle de gestion			6	6	6	6	6	6	6	6	6

S : Mesure en Sub-surface (0-1m)

F : Mesure au Fond/sonde - 1m

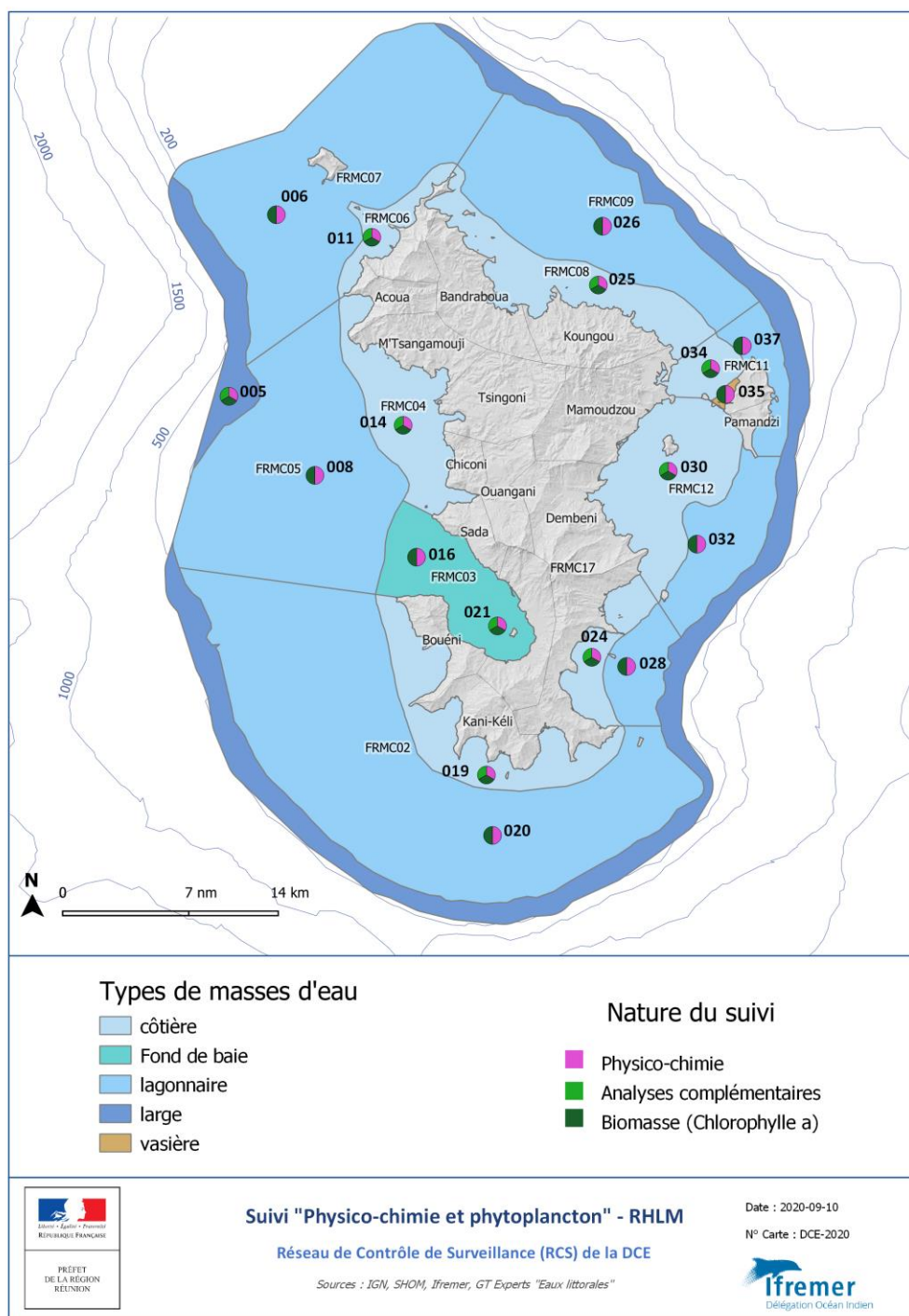
SF < 3m : Surface-Fond (profondeur < 3m)

* échantillonnage 1 seule fois par période (selon § 3.1.2)

3.2. Suivi "RHLM"

3.2.1. Positionnement des lieux de surveillance

A l'origine, 17 lieux de surveillance (un par masse d'eau) ont été définis par le GT experts eaux littorales de Mayotte. Suite à la modification des limites de la masse d'eau "fond de baie (MC03)" en 2020, une nouvelle station a été ajoutée (145-P-016). Le RHLM est désormais constitué de 18 lieux de surveillance (Carte 2).



Carte 2 : Lieux de surveillance du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE dans les masses d'eau côtière de Mayotte.

Les coordonnées GPS de ces lieux sont données dans le Tableau 3.

Tableau 3: Positionnement des lieux de surveillance du RHLM

Masse d'eau	Mnémonique Q2	Lieu de Surveillance	Prof. (m)	Longitude WGS 84	Latitude WGS 84
MC01	145-P-019	Passi Keli (Pointe) H19	31	45.12529	-13.00309
MC02	145-P-020	Mbouini (ilote centre lagon) H18	28	45.12910	-13.03830
MC03	145-P-021	Boueni (fond de baie) H17	17	45.13199	-12.91629
MC03	145-P-016	Boueni (sortie Baie2) 15	55	45.08359	-12.87610
MC04	145-P-014	Tsingoni (Baie large) H12	49	45.07540	-12.79900
MC05	145-P-008	Grande Passe Ouest (Amont Récif) H13	51	45.02269	-12.82839
MC06	145-P-011	M'Tsambo (Baie centre) H9	59	45.05669	-12.68920
MC07	145-P-006	M'Tsambo (ilote Sud-Ouest) H10	49	45.07540	-12.79900
MC08	145-P-025	Kangani (cotier) H4	36	45.19239	-12.71719
MC09	145-P-026	Prévoyante (Est nord est) H6	23	45.19490	-12.68280
MC10	145-P-034	Dzaoudzi (ilote M'Tsanga) H2	19	45.25979	-12.76610
MC11	145-P-037	Grande barrière Nord Est (ilote Ndroume) H3	10	45.27870	-12.75260
MC12	145-P-030	M'Bouzi (sud ilote) H24	34	45.23439	-12.82579
MC13	145-P-032	Hajangoua (Récif cote Lagon) H26	26	45.25140	-12.86850
MC14	145-P-024	Bambo (Anse sud) H20	31	45.18850	-12.934504
MC15	145-P-028	Bambo (ilote sud est) H21	24	45.20939	-12.93990
MC16	145-P-035	Dzaoudzi (Vasière Badamier1) H1	2	45.26859	-12.78110
MC17	145-P-005*	Grande Passe Ouest (Aval Large) H28	400	44.97119	-12.78210

* Point de référence.

Les paramètres listés au § 2.3 sont suivis selon les prescriptions du Tableau 4.

3.2.2. Périodes et fréquences d'échantillonnage

Le suivi RHLM comprend **quatre** campagnes par an :

- 1 avant la saison des pluies (Octobre),
- **1 pendant la saison des pluies (janvier OU février selon pluviométrie),**
- 1 après la saison des pluies (Avril).
- **1 pendant la saison sèche (juillet).**

Ces suivis sont à réaliser chaque année, soit six fois par cycle de gestion.

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

L'ensemble d'une campagne doit être réalisé dans un laps de temps aussi court que possible (idéalement sur une période de 5 jours) pour que l'ensemble des masses d'eau soit suivi dans des conditions météorologiques proches.

La période de prélèvement dans la journée sera préférée dans la matinée ou en milieu de journée. Les lieux de surveillance des masses d'eau côtières sont réalisées en début de marée descendante, et les lieux des autres masses d'eau plus au large sont réalisées si possible en début de marée montante. Dans tous les cas, pour un lieu donné, les mesures et prélèvements devront être faits dans des conditions identiques (horaire et conditions hydrodynamiques, mêmes heures de marée et coefficient proche) à chaque campagne afin de pouvoir comparer temporellement les résultats.

3.2.3. Mesures et paramètres

Les mesures *in situ* et prélèvements sont réalisés pour les lieux et aux profondeurs indiqués dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Paramètres suivis et niveaux de prélèvement pour chaque lieu de surveillance (RHLM)

Libellé du lieu et trois derniers chiffres du mnémonique		Physico-chimie					Phytoplancton			
		Température	Salinité	Turbidité	Oxygène	Nutriments	Chlorophylle α (biomasse)	Analyse pigmentaire (HPLC)	Dénombrement- microscopie	Dénombrement- cytométrie en flux
Passi Keli (Pointe) H19	019	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Mbouini (ilot centre lagon) H18	020	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Boueni (fond de baie) H17	021	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Boueni (sortie Baie2) 15	016	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Tsingoni (Baie large) H12	014	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Grande Passe Ouest (Amont Recif) H13	008	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
M'Tsambo (Baie centre) H9	011	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
M'Tsambo (Ilot Sud-Ouest) H10	006	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Kangani (cotier) H4	025	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Prévoyante (Est nord est) H6	026	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Dzaoudzi (ilot M'Tsanga) H2	034	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Grande barrière Nord Est (ilot Ndroume) H3	037	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
M'Bouzi (sud ilot) H24	030	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Hajangoua (Recif cote Lagon) H26	032	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Bambo (Anse sud) H20	024	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Bambo (ilot sud est) H21	028	S/F	S/F	S	S/F	S	S			
Dzaoudzi (Vasiere Badamier 1) H1	035	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m	SF<3m			
Grande Passe Ouest (Aval Large) H28	005	S/F	S/F	S	S/F	S	S	S	S	S
Nombre de lieux		18	18	18	18	18	18	9	9	9
Nombre de fois par an (mois 01/02, 04, 07, 10)		4	4	4	4	4	4	4	4	4
Fréquence par cycle de gestion		6	6	6	6	6	6	6	6	6

S : Mesure en Sub-surface (0-1m)

F : Mesure au Fond/sonde - 1m

SF < 3m : Surface-Fond (profondeur < 3m)

4. PROTOCOLES D'ECHANTILLONNAGE

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

Ces éléments méthodologiques sous forme de séquences filmées sont visualisables depuis le site Environnement Littoral de l'Ifremer à l'adresse :

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

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

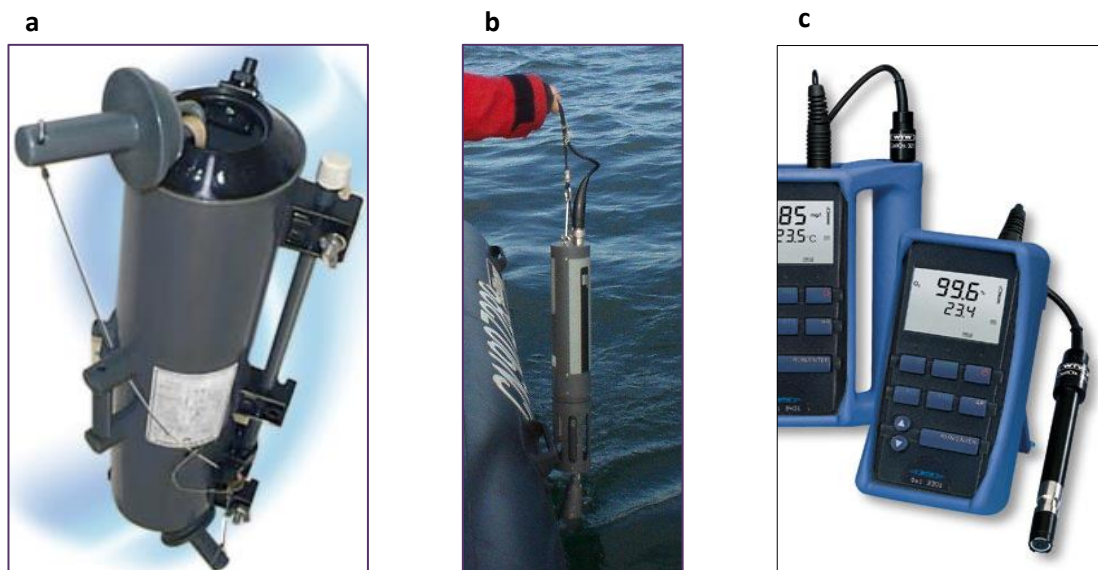
Le prestataire qui sera chargé de la réalisation des prélèvements devra se conformer aux méthodes et protocoles précités, et, via une mise sous assurance qualité de l'ensemble de ses activités relatives aux prélèvements hydrologiques et phytoplanctoniques, être à même de démontrer que ces méthodes et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

4.1. Matériel

Le matériel se compose :

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

Suivant les paramètres analysés, les flacons doivent être traités/conditionnés avant 1^{ère} utilisation et entre 2 utilisations (§4.2). Ils sont ensuite stockés avant utilisation dans un endroit propre à l'abri de la poussière et éloignés de toutes sources de contamination (produit chimique, par exemple).


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


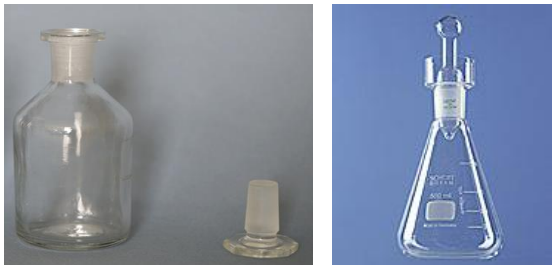


Salinité	Oxygène dissous
	
Phytoplancton et chlorophylle <i>a</i> Analyse pigmentaire (flacon plastique ou verre, éventuellement opaque dont le volume est adapté à la zone)	Nutriments (HDPE à col étroit avec capuchon fileté en PE, 60 ou 125 mL : modèle à définir avec le laboratoire d'essais)
	

Photo 3 : Exemples de flacons spécifiques

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

4.2. Conditionnement du flaconnage

Suivant le paramètre recherché, le flaconnage doit être traité avant 1^{ère} utilisation et entre chaque utilisation.

Tableau 5 : Conditionnement du flaconnage

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

4.3. Mesures *in situ* et prélèvements

Les mesures *in situ* et les prélèvements d'eau sont réalisés selon les prescriptions mentionnées aux Tableau 2, Tableau 4 et Tableau 6.

Tableau 6 : Conditions de prélèvement et d'analyses exigées pour chaque paramètre

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

Lorsqu'il y a 2 possibilités, la méthode **recommandée** est mise en évidence (**gras et fond gris**).

4.3.1. Mesures *in situ*

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

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

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

Les sondes de terrain doivent impérativement faire l'objet d'un suivi métrologique régulier. Les conditions et contraintes d'utilisation de matériels de terrain engendrent un risque d'anomalie de mesure (dérive, dérèglement) ou de panne non négligeable. Il faut donc toujours envisager l'éventualité de devoir réaliser un prélèvement.

*Il faut absolument veiller à ce que les mesures *in situ* soient représentatives du prélèvement d'eau correspondant, c'est-à-dire réalisées à proximité, à la même profondeur et au même moment.*

1) La température

La mesure de la température est réalisée *in situ* au moyen d'un capteur associé à une sonde mono ou multi-paramètre(s). Les exigences analytiques pour la température sont indiquées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Exigences analytiques pour la température

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Température	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0,5°C

2) La salinité

La mesure de la salinité est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur de conductivité associé à une sonde mono ou multi-paramètre(s). Les exigences analytiques pour la salinité sont indiquées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Exigences analytiques pour la salinité

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Salinité	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0,5

Si la mesure de salinité est faite par lecture directe sur la sonde, il convient de s'assurer que cette dernière applique un algorithme "milieu marin". Si tel n'est pas le cas, elle devra être calculée sur la base des valeurs de conductivité et de température données par la sonde.

3) L'oxygène dissous

La mesure de l'oxygène dissous est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur d'oxygène associé à une sonde mono ou multi-paramètre(s). Les exigences analytiques pour l'oxygène dissous sont indiquées dans le Tableau 9.

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

Tableau 9 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Précision
Oxygène dissous	Sonde <i>in-situ</i>	+/- 0,5 mg/l

4) La turbidité

La mesure de la turbidité est faite directement *in situ* au moyen d'un capteur de turbidité associé à une sonde mono ou multi-paramètre(s).

Tableau 10 : Exigences analytiques pour la turbidité

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

La sonde de turbidité doit répondre à la Norme ISO 7027 (cf. §4.3.2 5.3.14).

4.3.2. Prélèvement des échantillons d'eau de mer

Sur chaque lieu de surveillance, le prélèvement d'eau est réalisé obligatoirement à l'aide d'une bouteille de prélèvement (type Niskin).

Un volume de 5 L peut s'avérer insuffisant, notamment lorsque des prélèvements pour analyses pigmentaires sont nécessaires. Il convient donc de privilégier l'utilisation d'une bouteille d'un volume de 8 L dans certaines situations.

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



Photo 4 : Exemples de support de bouteille de prélèvement

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

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

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

- l'oxygène dissous,
- les nutriments (ammonium en premier), puis effectuer quelques retournements pour ré-homogénéiser le contenu de la bouteille,
- la turbidité,
- la salinité, puis effectuer quelques retournements pour ré-homogénéiser le contenu de la bouteille,
- la chlorophylle *a* et les analyses pigmentaires,
- le dénombrement de phytoplancton.

1) L'oxygène dissous

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

Les échantillons doivent être soutirés de la bouteille de prélèvement sans délai dès sa remontée et avant tout autre échantillon.

Un tuyau souple transparent de longueur suffisante pour atteindre le fond du flacon est adapté à la bouteille de prélèvement (son diamètre intérieur ne doit pas dépasser 4 mm afin qu'il ne se vidange pas spontanément lorsque l'écoulement est interrompu). Le tuyau est purgé afin qu'il n'y reste aucune bulle puis est introduit jusqu'au fond du flacon. Il est inutile de rincer le flacon.

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

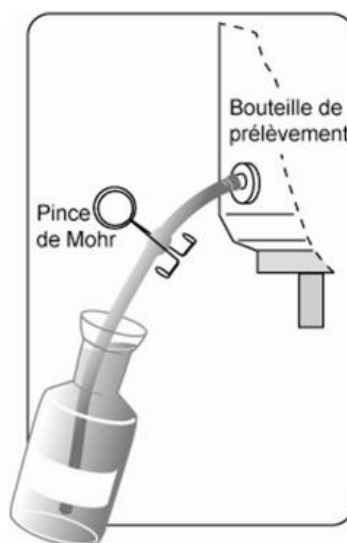


Figure 2 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement (oxygène)

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

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

2) Les nutriments

Equipement spécifique	Produits spécifiques / Flaconnage et petit matériel
Congélateur (si possible)	<p>Gants à usage unique non poudrés</p> <p>Pré-filtres montés sur des supports de filtration en ligne, par exemple de type Swinnex ou des seringues (membrane nylon, cf. ci-dessous pour le choix de la porosité)</p> <p><i>Si Ammonium / Phosphate / Nitrate / Nitrite filtré sur le terrain :</i></p> <p>Filtres en fibre de verre de porosité 0,7 µm (type GF/F)</p> <p><i>Si Silicate filtré sur le terrain :</i></p> <p>Filtre en acétate de cellulose de porosité 0,22 µm (type minisart) + seringue</p> <p><i>Si échantillon destiné à être congelé avant analyse :</i></p> <p>Flacon HDPE à col étroit avec capuchon fileté en polypropylène</p> <p><i>Si Silicate envoyé en métropole non pasteurisé :</i></p> <p>Flacon HDPE ou PE stérile</p> <p><i>Si Ammonium analysé par méthode manuelle :</i></p> <p>Flacon en verre</p> <p>+ Distributeurs de réactif (R1 et R2) adaptés directement sur les flacons, maintenus dans un portoir adéquat</p> <p>Ou tube "individuel" de réactifs (1 tube R1 + 1 tube R2 par échantillon)</p>

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

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

Si les eaux sont peu chargées en matière en suspension, les échantillons peuvent être directement filtrés lors du soutirage (pas d'étape de préfiltration).

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

Avant de partir sur le terrain, il convient de préparer

- un sachet plastique à ZIP par point contenant :
 - un système de pré-filtration/filtration : support de type SWINNEX avec membrane de porosité adaptée et équipé d'un embout de raccordement à la bouteille,
 - un filtre Minisart avec sa seringue.
- un nombre suffisant de glacières et de blocs eutectiques afin de garantir la conservation des échantillons.

Etant donné le contexte tropical, il est conseillé de procéder en deux temps pour le stockage des échantillons : les mettre dans une 1^{ère} glacière pour les faire descendre en température puis dans une 2^{nde} pour les maintenir le plus au frais possible.

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

- Positionner la bouteille de prélèvement sur le support (le cas échéant).
- Monter le support de filtration en ligne muni de sa membrane (pré-filtre) sur la bouteille de prélèvement, le cas échéant.
- Ouvrir la prise d'air de la bouteille.
- Rincer les systèmes de pré-filtration/filtration en laissant s'écouler au moins 50 mL d'eau.
- Remplir les flacons de nutriments pour **NH₄**, **NO₃ + NO₂**, **NO₂** et **PO₄**, après avoir rincé les flacons et les bouchons 3 fois avec l'eau pré-filtrée/filtrée de la bouteille. Il est possible d'utiliser une seringue préalablement rincée avec de l'eau préfiltrée/filtrée pour remplir les flacons.
- Pour le flacon de **silicate** (la seringue peut être remplie directement à la bouteille), rincer la seringue puis monter le filtre sur la seringue. Remplir la seringue puis rincer le filtre en faisant couler quelques mL d'eau de mer. Remplir le flacon de Si(OH)₄ après avoir rincé le flacon et le bouchon 3 fois avec l'eau filtrée de la bouteille. S'il est impossible de pré-filtrer/filtrer sur le terrain, il est possible d'échantillonner dans un flacon prévu à cet effet et la filtration sera effectuée au laboratoire (cf. §4.4.1).
- Remplir le flacon sans dépasser les ¾ de la capacité et reboucher aussitôt fermement.
- Pour les **analyses d'ammonium en méthode manuelle** :
 - si les réactifs R1 et R2 sont ajoutés à bord, les échantillons sont stockés à l'abri de la lumière et à température ambiante.
 - si les échantillons peuvent être conservés à l'obscurité et au frais dans une glacière, il est possible de ne pas ajouter les réactifs à bord. Les échantillons devront alors être congelés lors de leur stockage à terre.
- Stocker les autres échantillons (NO₃+ NO₂, NO₂ et PO₄ et Si(OH)₄) debout à l'obscurité et au frais dans (glacière ou congélateur).
- Vider la bouteille et la replacer fermée dans son bac de stockage.

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

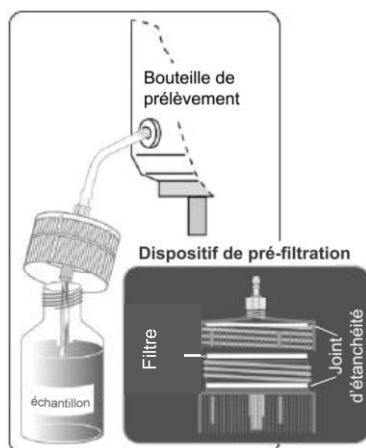


Figure 3 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement (nutriments)

3) La salinité

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Flacon de 250 ml, de préférence en verre avec bouchon hermétique.

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

Les échantillons sont conservés à l'abri de la lumière en position verticale, et de manière à ne pas subir d'écart de température (exemple : caisse isotherme).

4) La turbidité

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Flacon (pas de préférence) Filet à plancton 150-200 µm

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

Si l'échantillon est réalisé après l'échantillonnage de l'oxygène dissous et de la salinité, il faut réhomogénéiser en effectuant quelques retournements de la bouteille de prélèvement.

Afin d'éliminer les plus grosses particules (source de perturbation de la mesure), une préfiltration doit être effectuée sur filet à plancton de 150-200 µm de maille.

Les échantillons sont conservés au frais et à l'abri de la lumière avant l'analyse au laboratoire effectuée dès que possible (l'agglomération des particules dans le temps peut altérer la mesure).

5) La chlorophylle *a* et les analyses pigmentaires

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

Compte-tenu de la faible quantité de phytoplancton dans les masses d'eau, le volume prélevé doit être au minimum de 1 L pour l'analyse de la chlorophylle *a* et de 2 L pour les analyses pigmentaires.

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	<i>Chlorophylle a</i> Flacon d'un volume de 1 L minimum (cf. ci-dessous pour le choix du volume) <i>Analyses pigmentaires</i> Flacon(s) permettant de collecter un volume de 2 L minimum (cf. ci-dessous pour le choix du volume)

Le choix du volume doit se faire en concertation avec le laboratoire d'analyses en confrontant la limite de quantification de sa méthode et les concentrations habituellement rencontrées dans le milieu. Le volume doit en effet être suffisant pour garantir que les concentrations soient rendues avec des résultats supérieurs à la limite de quantification.

Les flacons "avant filtration" sont conservés au frais dans la glacière et à l'abri de la lumière.

Les filtrations peuvent être réalisées sans attendre le retour au laboratoire conformément aux §4.4.4. et §4.4.3

Si les échantillons sont filtrés à bord, les filtres sont ensuite stockés :

- de préférence dans de l'azote liquide jusqu'au retour au lieu de stockage,
- ou dans un congélateur disponible à bord du bateau,
- à défaut des équipements précédents, dans une glacière dédiée avec un nombre suffisant de plaques eutectiques.

6) Le dénombrement de phytoplancton

Le phytoplancton est échantillonné à partir de l'eau brute de la bouteille de prélèvement puis la quantité nécessaire de fixateur est ajoutée.

Pour l'analyse quantitative du phytoplancton par microscopie

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Flacon d'un volume de 1 L minimum (cf. ci-dessous pour le choix du volume) Flacon d'un volume de 250 ou 500 ml Fixateur (cf. ci-dessous pour le choix du fixateur)

Le choix du volume doit se faire en concertation avec le laboratoire qui effectuera le dénombrement sur la base de ses pratiques et des concentrations habituellement rencontrées dans le milieu.

Compte tenu de la présence fréquente de coccolithophoridés, il convient de prélever 2 échantillons de volumes différents :

- Un échantillon d'1 litre minimum d'eau brute fixé au lugol acide, ou à défaut au lugol basique ou neutre (concentration finale 1%). Il est préférable que les échantillons soient ensuite observés assez rapidement (cf. § suivant sur les effets de la post-fixation). L'utilisation d'une solution de lugol préparée au laboratoire est préférable à celle d'une solution commerciale compte-tenu du retour d'expériences de certains laboratoires. Le choix du fixateur doit se faire en concertation avec le laboratoire d'analyses.
- Un échantillon d'eau brute (250 ou 500 ml) fixé au formol neutralisé (concentration finale à 2%), afin de garantir la meilleure conservation possible dans le temps des coccolithophoridés, et une meilleure identification des taxons (ce groupe étant particulièrement sensible à la dissolution).

Les flacons sont conservés à l'abri de la lumière.

Pour l'analyse quantitative du nano et pico-phytoplancton par cytométrie en flux

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
Micropipette et cônes adaptés Bonbonne d'azote liquide	Tube spécifique pour analyse par cytométrie en flux Fixateur (cf. ci-dessous pour le choix du fixateur)

Le choix de la méthodologie doit se faire en concertation avec le laboratoire qui effectuera les analyses, sur la base de ses pratiques (volume d'échantillon, nature du fixateur, ...).

Les fixateurs peuvent être soit du paraformaldéhyde soit un mélange de Glutaraldéhyde/Pluronic.

Sur chaque lieu, 3 prises d'échantillons (triplicat) d'environ 1,5 mL au minimum sont réalisées grâce à une micropipette. Si les tubes ne contenaient pas au préalable le fixateur, ce dernier doit être ajouté.

TRES IMPORTANT : Maintenir les échantillons fixés à **température ambiante et à l'obscurité durant 15 minutes** afin d'assurer la fixation optimale des cellules.

Les échantillons sont ensuite stockés :

- de préférence dans de l'azote liquide jusqu'au retour au lieu de stockage,
- ou dans un congélateur disponible à bord du bateau,
- à défaut des équipements précédents, dans une glacière dédiée avec un nombre suffisant de plaques eutectiques.

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

4.3.3. Prélèvement de l'échantillon de phytoplancton via un trait de filet

Equipement spécifique	Produit spécifique / Flaconnage et petit matériel
/	Filet à plancton (cf. ci-dessous pour les caractéristiques) Flacon de stockage Fixateur (cf. ci-dessous pour le choix du fixateur)

Les échantillons qualitatifs sont prélevés à l'aide d'un filet à plancton de 30 à 50 cm d'ouverture et de maille comprise entre 20 et 50 μm (seules les espèces de grandes tailles sont ciblées, les espèces de petites tailles sont échantillonnées pour être analysées par cytométrie en flux, §5.3.16). Après vérification de l'état du filet (propreté, état ...), ses caractéristiques et la durée du trait sont notés sur la fiche terrain.

Le filet à plancton est descendu dans la zone des "0 / -1 m". Une faible vitesse de traction doit être maintenue à 1 m/s pendant 5 à 10 minutes.

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

Compte-tenu de l'absence de coccolithophoridés dans l'échantillonnage au filet à plancton, les fixateurs peuvent être :

- soit du lugol acide, qui ne nécessitera pas de post-fixation avec formol,
- soit du formol neutre 4 ou 5% final.

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

4.4. Pré-traitement des échantillons

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

4.4.1. Filtration du silicate

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Réfrigérateur Système fournissant une eau déminéralisée	Flacon HDPE à col étroit avec capuchon fileté en polypropylène <i>Si Silicate envoyé en métropole non pasteurisé</i> : Flacon HDPE ou PE stérile Gants à usage unique non poudrés Pissette d'eau déminéralisée Filtre en acétate de cellulose de porosité 0,22 µm (type minisart) + seringue

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

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

1. Rincer la seringue jetable avec 5 mL d'échantillon.
2. Jeter l'eau.
3. Fixer le filtre sur la seringue puis le rincer avec environ 5 mL d'échantillon.
4. Rincer 3 fois le flacon et son bouchon avec au moins 10 mL d'eau filtrée.
5. Remplir le flacon au $\frac{3}{4}$ puis le boucher.
6. Rincer la seringue avec de l'eau déminéralisée.
7. Refaire les opérations 1) à 6) pour tous les échantillons.
8. Placer le(s) flacon(s) debout au réfrigérateur.
9. Rincer la seringue avec de l'eau déminéralisée et la mettre à sécher à l'abri de la poussière.

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

4.4.2. Pasteurisation des échantillons de nutriments

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Etuve Thermomètre	

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

AVERTISSEMENT §4.4.3 et 4.4.4 => Le volume filtré doit être homogène et connu avec précision. Si le volume du flacon est connu et qu'une éprouvette n'est pas utilisée, il conviendra de correctement homogénéiser le contenu du flacon lors de chaque alimentation du système de filtration. Si l'intégralité du flacon ne peut être filtrée, il conviendra de mesurer le volume non filtré et de le noter afin de pouvoir transmettre au laboratoire le volume réellement filtré.

4.4.3. Filtration des échantillons de chlorophylle *a*

Equipement	Produit / Flaconnage et petit matériel
Rampe de filtration	Eprouvette adaptée au volume
Pompe avec manomètre	Tulipe de filtration avec embout verre fritté
Système fournissant une eau déminéralisée	1 ou 2 pinces plates
Congélateur	Filtres en fibre de verre de porosité 0,7 µm (type GF/F), Ø 25 ou 47 mm
	Système de filtration avec pompe manuelle
	Pissette d'eau déminéralisée
	Pissette d'eau de mer filtrée
	Tubes du type "hémolyse" avec bouchon
	Papier d'aluminium
	Marqueur

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

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

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

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

10. Eliminer à la pince l'éventuel zooplancton visible à l'œil nu ainsi que les débris.
11. Tout en maintenant le vide, replier le filtre à l'aide des pinces sans toucher les matières filtrées.
12. Mettre le filtre dans un tube type "hémolyse" identifié puis le placer dans du papier d'aluminium, identifié le papier avec la date de prélèvement.
13. Mettre le tube à l'obscurité.
14. Refaire les opérations 2) à 13) pour tous les échantillons.
15. Placer le tout au congélateur.

4.4.4. Filtration des échantillons pour analyse pigmentaire

Les échantillons sont filtrés comme les échantillons pour analyse de chlorophylle *a*. Pour la zone Océan Indien, le volume filtré est de 2 L minimum (voir Avertissement page précédente).

Le diamètre du filtre à utiliser est préconisé par le laboratoire d'analyses. Ainsi les premiers résultats ont montré que l'usage d'un filtre de diamètre 25 mm nécessite que le volume filtré soit de 2 L. Si un filtre d'un diamètre différent doit être utilisé, le volume devra être modifié en conséquence.

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

4.4.5. Dénombrement par microscopie

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

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

Si le fixateur est le formol, un conditionnement en flacon plastique convient mieux.

Dans certaines situations, il peut être nécessaire de conserver l'échantillon d'eau brute. Si un stockage de longue durée est envisagé, les échantillons doivent alors être post-fixés en ajoutant quelques gouttes de solution de formaldéhyde tamponnée (attention il ne faut pas dépasser 5% de formaldéhyde sur le volume final d'échantillon).

4.4.6. Dénombrement par cytométrie en flux

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

4.5. Conservation des échantillons

4.5.1. Au cours de la campagne de prélèvement

Sur le terrain et jusqu'au retour au lieu de conservation, les échantillons sont stockés conformément aux dispositions prévues aux paragraphes précédents et résumées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Conditions de stockage entre le prélèvement et le lieu de conservation avant analyse

Paramètre	Enceinte de stockage	Délai maximum
Turbidité Salinité Oxygène dissous	Frais et à l'abri de la lumière	10 h pour la turbidité la journée pour l'oxygène dissous
Nutriments <i>autre que l'Ammonium en méthode manuelle</i>	Frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible Au maximum la journée, jusqu'à l'arrivée au local de stockage
Ammonium <i>Méthode manuelle</i> <i>Sans les réactifs</i>	Frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible Au maximum la journée, jusqu'à l'arrivée au local de stockage
Ammonium <i>Méthode manuelle</i> <i>Avec les réactifs</i>	Température ambiante à l'obscurité Avec l'ajout de R1 et R2	6 h minimum (la lecture peut se faire le lendemain)
Phytoplancton fixé <i>Microscopie</i>	Température ambiante à l'obscurité Ou au frais et à l'abri de la lumière	La journée, jusqu'à l'arrivée au port
Chlorophylle a Analyse pigmentaire <i>Avant filtration</i>	Frais et à l'abri de la lumière	De préférence 5 h (au maximum 10 h)
Chlorophylle a Analyse pigmentaire <i>Après filtration</i>	De préférence azote liquide	/
	Ou congélateur	/
	A défaut frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible Au maximum la journée, jusqu'à l'arrivée au local de stockage
Pico et nano-Phytoplancton <i>Cytométrie en flux</i>	De préférence azote liquide	/
	Ou congélateur	/
	A défaut frais et à l'abri de la lumière	Le plus rapidement possible Au maximum la journée, jusqu'à l'arrivée au local de stockage

4.5.2. Stockage temporaire avant transfert au laboratoire d'analyses

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

Le plus rapidement possible après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés dans les conditions suivantes (Tableau 12) jusqu'au transfert vers un laboratoire d'analyses.

Pour les échantillons devant être conservés à -80°C et qui n'auraient pas subi de "flash freeze" lors du prélèvement, il est préférable d'effectuer ce dernier avant stockage au congélateur à -80°C.

4.5.3. Transfert au laboratoire d'analyses

Le transfert des échantillons vers le laboratoire doit se faire de façon à limiter au maximum la durée du transport et en respectant les prescriptions (température, ...) du Tableau 12.

Le transport des échantillons vers un laboratoire hors territoire peut se faire soit en utilisant un colis avec carboglace et en privilégiant les transporteurs garantissant un ajout de carboglace en cours de transport si cela le nécessite (exemple : délai d'acheminement plus long que prévu), soit par tout autre moyen autorisé en transport aérien et garantissant le maintien de la température (ex. : réservoir d'azote).

4.5.4. Stockage au laboratoire d'analyses

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

A réception au laboratoire d'analyses, les échantillons doivent être conservés dans les mêmes conditions (Tableau 12) jusqu'à analyse ou transfert vers un autre laboratoire (cas de la sous-traitance analytique).

En cas de transfert d'échantillons entre laboratoires, les prescriptions du paragraphe précédent (§ 4.5.3) doivent être respectées.

Pour les échantillons transmis au laboratoire sans stockage temporaire et qui n'auraient pas subi de "flash freeze" lors du prélèvement, il est préférable d'effectuer ce dernier avant stockage au congélateur à -80°C.

Tableau 12 : Conditions de stockage sur le lieu de conservation avant analyse

Paramètre	Enceinte de stockage	Délai maximum
Turbidité	Frais et à l'abri de la lumière	10 h
	Réfrigérateur	Quelques jours et à condition que des tests de conservation aient été faits dans les conditions opératoires
Salinité	Réfrigérateur	Quelques mois
Oxygène dissous	Frais et à l'abri de la lumière	1 journée
Phytoplancton fixé <i>Microscopie</i>	<i>si analysé dans la semaine</i> : température ambiante à l'obscurité <i>si conservé au-delà d'une semaine</i> : endroit obscur et frais (inférieur à 20°C mais protégé du givre)	12 mois mais à surveiller régulièrement et en cas de décoloration ajouter du fixateur Pour le stockage à long terme des échantillons fixés au Lugol, une solution tamponnée de formaldéhyde doit être ajoutée.
Phytoplancton <i>Cytométrie en flux</i>	Congélateur -80°C	Quelques mois
Chlorophylle a avant filtration	Réfrigérateur	De préférence 5 h (au maximum 10 h), entre le prélèvement et la congélation
Chlorophylle a filtrée	Congélateur : -20 / -25 °C	1 mois
	Congélateur : -80°C	6 mois
	Azote liquide : -196°C	1 an
Analyse pigmentaire	Congélateur : -80°C	Plusieurs années
Phosphate <i>Méthode automatique ou manuelle</i> Nitrate Nitrite Ammonium <i>Méthode automatique</i>	Congélateur Température minimale -23°C, optimale -25°C	Quelques mois
Ammonium <i>Méthode manuelle</i> Sans les réactifs	Congélateur Température minimale -23°C, optimale -25°C	Quelques mois
Ammonium <i>Méthode manuelle</i> Avec les réactifs	Température ambiante et obscurité	6 h minimum (la lecture peut se faire le lendemain)
Silicate non traité	Réfrigérateur	1 à 2 jours si uniquement pré-filtrés
Silicate filtré	Réfrigérateur 2°C et 6°C	2 mois
Nutriment pasteurisé	Température ambiante	Quelques semaines

4.6. Assurance qualité

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

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

Il décrit l'ensemble des actions liées :

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

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

Tableau 13: Exigences et bonnes pratiques

	Exigences particulières / Précisions en complément des bonnes pratiques en vigueur dans le domaine des prélèvements en milieu marin
Document	Les éléments de traçabilité, y compris ceux concernant la métrologie des équipements, doivent être archivés sans limite de temps et tenus à disposition des équipes en charge de la qualification/valorisation des données. Si les éléments sont inscrits à la main sur les feuilles de terrain. Une copie de ces dernières doit être réalisée (photocopie ou photographie).
Personnel	Les personnels intervenant doivent être habilités aux prélèvements.
Installation /Conditions ambiantes	<i>Dans le contexte tropical, une attention toute particulière doit être portée au maintien du froid dans la glacière de conservation et de transport des échantillons jusqu'au lieu de pré-traitement / conservation.</i> Les conditions de stockage doivent respecter les exigences spécifiées au paragraphe 4.5 et faire l'objet d'un enregistrement. Le mode de conditionnement et de transfert des échantillons vers un laboratoire d'analyse accrédité en métropole doit être validé par ce même laboratoire. Tout doit être mis en œuvre pour éviter tout risque de biais analytique.
Equipement	Les appareils utilisés (sondes <i>in situ</i> ou appareils d'analyse) doivent faire l'objet de contrôles réguliers des grandeurs fondamentales ainsi qu'un raccordement régulier aux étalons existants (utilisation de matériaux certifiés de référence ou étalons internes raccordés). Cette démarche doit intégrer des procédures de confirmation métrologiques, de suivi dans le temps ainsi que des opérations de maintenance.
Produit	Il est impératif de suivre les exigences qualité pour la préparation du flaconnage de conditionnement de chaque paramètre.
Méthode	Les méthodes à utiliser sont celles précisées aux différents sous-paragraphe 3. Elles sont issues de documents de référence reconnus dont l'Aminot & Kérouel 2004.
Observation/ Anomalie	Toute observation/anomalie doit être tracée (cahier de terrain/fiche de mer : un exemple est donné en annexe IV) pour être rapportée dans le cadre de la bancarisation dans Quadrigé ² .

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

Tableau 14 : Paramètres à enregistrer lors de l'échantillonnage

Métadonnées associées au lieu de surveillance	Code masse d'eau DCE
	Mnémonique (et libellé) du lieu de surveillance
	Latitude et Longitude (Degré décimaux), datum (ex: GPS non défini), système (ex: WGS84), du lieu de surveillance
	Bathymétrie (mètres)
	Observations : conditions hydrodynamiques (houle, courant ...), météo (vent, ensoleillement, ...), accessibilité, ...
Métadonnées associées au passage¹ et au prélèvement	Code prélèvement : lieu-paramètre-échantillon (le cas échéant : si utilisation d'un code)
	Paramètre : température, salinité, oxygène dissous, turbidité, nutriments, chlorophylle <i>a</i> , ...
	Date du prélèvement : jj/mm/aaaa
	Heure du prélèvement : hh:mm
	Sonde (profondeur observée au sondeur)
	Noms/coordonnées des personnes et du navire effectuant le prélèvement
	Matériel (engin) et Méthodes
	Niveau de prélèvement/immersion (surface OU fond OU surface/fond pour les hauteurs d'eau inférieures à 3 m)
	Volume prélevé
	Observations

¹ Passage = arrêt sur un lieu de surveillance à une date et une heure donnée

5. ANALYSE DES ECHANTILLONS

Les analyses seront conformes aux référentiels indiqués ci-après et seront réalisées de préférence dans un laboratoire accrédité et agréé.

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

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

5.1. Mesure de l'oxygène dissous

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour l'oxygène dissous sont regroupées dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de quantification	Précision
Oxygène dissous	Méthode iodométrique Aminot et Kérouel 2004	0,5 mg/L	< 5 mg/L +/- 0,1 mg/ L > 5 mg/ L +/- 0,5 mg/ L

5.2. Mesure de la salinité

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

5.3. Mesure de la turbidité

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour la turbidité sont regroupées dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Exigences analytiques pour la turbidité

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de quantification	Précision
Turbidité	Norme ISO 7027	0,3 NTU	+/- 10%

5.4. Analyse des nutriments

Les méthodes d'analyses recommandées et les exigences analytiques pour chacun des différents nutriments sont regroupées dans le Tableau 17.

Tableau 17: Exigences analytiques pour les nutriments [CODE SANDRE]

Paramètre	Méthode d'analyse	Limite de Quantification *	Précision **
Nitrite	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [557]	0,03 µmol/ L	Incertitude élargie minimale de 60% au niveau "LQ" Incertitude élargie ≤ 50% au niveau "3 x LQ"
	Spectrophotométrie flux 2007 Aminot et Kérouel 2007 [754]		
Nitrite+nitrate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [567]	0,2 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [755]		
Ammonium	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [554]	0,05 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [764]		
	Fluorimétrie flux Aminot et Kérouel 2007 [777]		
Phosphate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [563]	0,04 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [762]		
Silicate	Spectrophotométrie Aminot et Kérouel 2004 [560]	0,4 µmol/ L	
	Spectrophotométrie flux Aminot et Kérouel 2007 [763]		

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

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

5.5. Analyse de la chlorophylle *a* et des phéopigments

La méthode d'analyse recommandée et les exigences analytiques pour la chlorophylle *a* sont regroupées dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Exigences analytiques pour la chlorophylle *a* [CODE SANDRE]

Paramètre	Méthode d'analyse recommandée	Limite de Quantification *	Précision **
Chlorophylle <i>a</i>	Fluorimétrie Aminot et Kérouel 2004 [530]	0,5 µg/L	Incertitude élargie minimale de 60% au niveau "LQ" Incertitude élargie ≤ 50% au niveau "3 x LQ"

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

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

5.6. Analyse pigmentaire

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

Les échantillons sont analysés par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP ou HPLC) et les méthodes utilisées à ce jour sont :

- Soit la méthode Van Heukelem & Thomas, 2005. In Hooker et *al.*, 2005, NASA Technical Memorandum
- Soit la méthode décrite par Ras J, Uitz, J, et H. Claustre (2008).

5.7. Dénombrement du phytoplancton

Les méthodes de dénombrement du phytoplancton diffèrent selon la taille et les caractéristiques des populations.

L'observation de cellules au microscope consiste à identifier et dénombrer tous les taxons reconnaissables dans les conditions d'observation, c'est à dire toutes les cellules dont la taille est supérieure à 20 µm, et celles dont la taille est inférieure mais qui forment des chaînes ou colonies (microphytoplancton) ainsi que les coccolithophoridés pour partie. Elle permet de définir l'abondance des cellules dans un échantillon d'eau brute, et l'analyse qualitative du phytoplancton dans un échantillon obtenu par un trait de filet à plancton.

La cytométrie en flux permet de compter une par une les cellules d'un échantillon en suspension dans un liquide et de discriminer les sous-populations homogènes sur des critères de fluorescence, de taille, et éventuellement de leurs propriétés optiques et électriques. Elle permet donc de distinguer les groupes de nano et de picoplancton, trop petits pour être identifiés au microscope optique.

Les méthodes de dénombrement du phytoplancton utilisables selon les groupes sont présentées dans le Tableau 19. La méthode privilégiée est représentée par une croix.

Tableau 19 : Méthodes de dénombrement du phytoplancton suivant sa taille

	Microscopie Inversée	Cytométrie en flux
Microphytoplancton	X	
Nanophytoplancton	En partie	X
Picophytoplancton		X

5.7.1. Microscopie inversée

La méthode de dénombrement recommandée et les exigences analytiques sont regroupées dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Exigences analytiques pour le phytoplancton

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

5.7.2. Cytométrie en flux

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

5.8. Assurance qualité

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

Tableau 21 : Exigences et bonnes pratiques

	Exigences particulières / Précisions en compléments des exigences d'accréditation/d'agrément
Document	Les éléments de traçabilité doivent être archivés sans limite de temps et tenus à disposition des équipes en charge de la qualification/valorisation des données.
Personnel	/
Installation et conditions ambiantes	Les conditions de stockage doivent respecter les exigences spécifiées au paragraphe 4.5 et faire l'objet d'un enregistrement. Le mode de conditionnement et de transfert des échantillonneurs vers un laboratoire d'analyse accrédité en métropole doit être validé par ce même laboratoire. Tout doit être mis en œuvre pour éviter tout risque de biais analytique.
Equipement	/
Produit	Il est impératif de suivre les exigences qualité pour la préparation du flaconnage de conditionnement de chaque paramètre même si ce dernier est fourni par le laboratoire d'analyses.
Méthode	Les méthodes à utiliser sont celles précisées aux différents sous-paragraphe 5. Elles sont issues des documents de référence Aminot et Kérouel 2004 et 2007.
Observation/Anomalie	Toute observation/anomalie doit être tracée pour être rapportée dans le cadre de la bancarisation dans Quadrigé ² .
EIL	Le laboratoire doit participer à des Essais Inter-Laboratoire pour la matrice "eau de mer" dans les gammes de concentrations rencontrées et avec la méthode utilisée.

6. BANCARISATION DES DONNEES

6.1. Quadrige² - SI de référence "eaux littorales"

Pour gérer les données de la surveillance du littoral, l'Ifremer a développé le système d'information Quadrige², qui associe à une base de données, une panoplie d'outils d'interprétation et d'élaboration de produits d'information. Quadrige² constitue un élément du Système d'Information sur l'Eau (SIEau), et à ce titre, contribue aux travaux du Service d'Administration National des Données et Référentiels sur l'Eau (SANDRE).

Quadrige² assure plusieurs fonctions qui le rendent indispensable :

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

Dans les produits de diffusion/valorisation, on trouve :

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

Au niveau national, Q² est aujourd'hui désigné par le Ministère en charge de l'Environnement comme le système d'information de référence pour les eaux littorales. A ce titre, il se doit d'alimenter le SIEau et ses outils, dont le Système d'Evaluation de l'Etat des Eaux de l'OFB (S3E), d'une façon régulière et normalisée. Afin de n'avoir qu'un référentiel unique au niveau national, toutes les données DCE-utiles (milieu marin) sont à bancariser dans Q².

6.2. Cycle de vie des données dans Q²

Le cycle de vie des données dans Quadrigé comprend 4 étapes : saisie, contrôle, validation et qualification (Figure 4).

Il existe 2 manières d'intégrer les données de la surveillance dans la base de données Quadrigé² : la saisie directe des résultats dans l'application Quadrigé, et l'import de données à partir d'un fichier standardisé (reposant sur les référentiels SANDRE) type Quadrilabo.

Seules les personnes ayant reçu une formation à Quadrigé peuvent saisir les données directement dans l'application.

Une fois saisies, les données doivent être contrôlées puis validées.

Après validation, les données deviennent accessibles via l'application QUADRIGE pour tous les utilisateurs, mais également via SURVAL, outil de visualisation et de téléchargement des données accessibles par Internet, synchronisé de manière quotidienne avec QUADRIGE.

Une étape de qualification est ensuite réalisée par des experts référents et membres de la cellule d'administration Quadrigé afin de déterminer si la donnée est "bonne", "mauvaise" ou "douteuse".

Les informations sur la base de données Quadrigé sont disponibles sur le site de la cellule d'administration : https://wwwz.ifremer.fr/quadriges2_support.

Des guides d'aide à la saisie sont téléchargeables :

- Manuel "Saisie Quadrigé"
- Manuel de saisie pour les programmes REPHY, REPHY-ETUDES et REPHYTOX
- Guide simplifié d'aide à la saisie des données "Physico-chimie et phytoplancton"

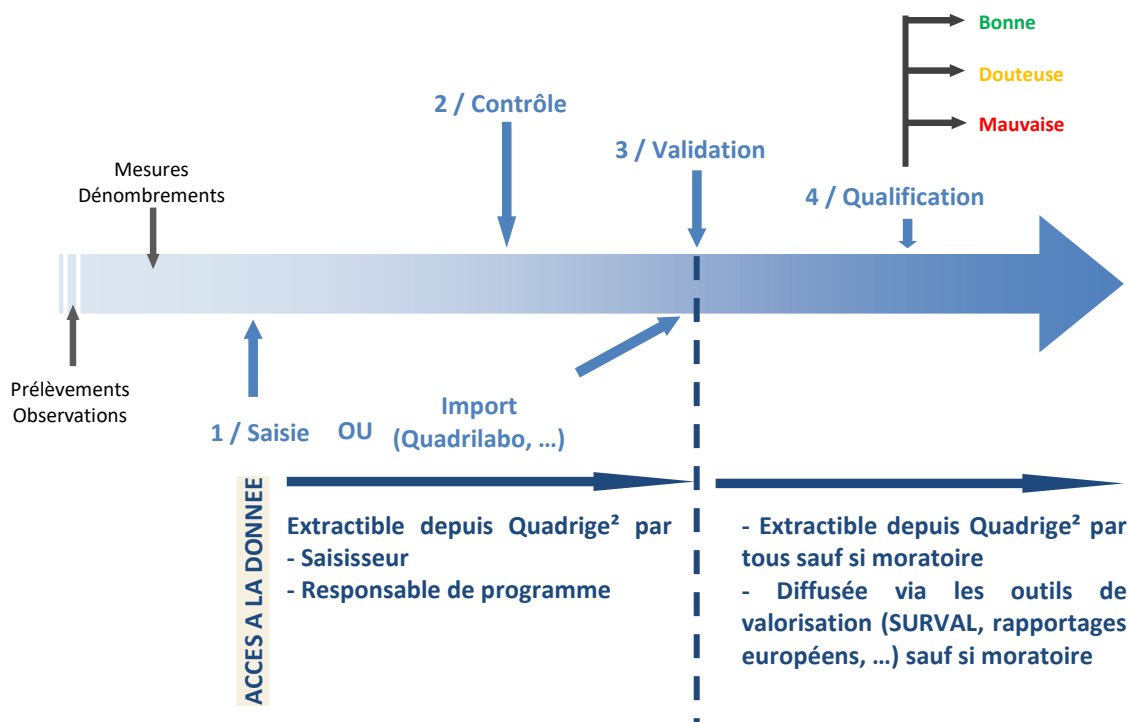


Figure 4 : Cycle de vie des données intégrées dans Quadrigé

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

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

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

ARVAM, 2010. Définition des réseaux de surveillance DCE de la qualité des masses d'eau côtières de l'île de Mayotte - Rapport final. Tome 1 synthèse et propositions, 149 p + annexes.

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

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

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

Glossaire Quadriges², mise à jour du 28/08/2009.

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

GTs DCE La Réunion et Mayotte "Indicateurs DCE", 2020. Fascicule technique pour le calcul des indicateurs DCE dans l'océan Indien". R.RBE/DOI/2020-001, 35 p.

Lazure P., 2004. Délimitation des masses d'eaux naturelles dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) : Applications aux eaux marines des Départements d'Outre-Mer : Guadeloupe, Martinique, Guyane, Réunion. RST/DEL/AO n° 04-2004. 27p.NF EN 15972 version en vigueur. Qualité de l'eau / Guide pour l'étude quantitative et qualitative du phytoplancton marin. Ropert M., Duval M., Maurel L., Vermentot C., Mouquet P., Nicet JB.,

Miller Brice, Treguier Cathy, Duval Magali (2019). Quadriges – Manuel simplifié de saisie des données "physico-chimie et phytoplancton". Océan Indien. R.RBE/DOI 2019-004.

Talec P., Le Goff R., 2012. PROJET BON ETAT II : Actualisation de l'état des lieux du SDAGE, Volet "eaux côtières réunionnaises. Rapport Final Volume 1. 228p.

Tunin-Ley A., Turquet J., Lelabousse C., 2018. Phytomayotte : Suivi mensuel du phytoplancton dans les eaux côtières du lagon de Mayotte. 89p + annexes.

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

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Cartes

Carte 1 : Lieux de surveillance du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE dans les masses d'eau côtière de La Réunion.....	16
Carte 2 : Lieux de surveillance du suivi "Paramètres Physico-Chimiques & Phytoplancton" du réseau de contrôle de surveillance DCE dans les masses d'eau côtière de Mayotte.....	20
Carte 3 : Masses d'eau côtières de La Réunion selon les typologies.....	56
Carte 4 : Masses d'eau côtières de Mayotte selon les typologies.....	58
Carte 5 : Zone d'échantillonnage tolérée pour le lieu "Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)"	60

Figures

Figure 1 : Schéma de l'évaluation de l'état d'une masse d'eau imposé par la DCE	12
Figure 2 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement (oxygène)	31
Figure 3 : Système de remplissage d'un échantillon d'eau issu d'une bouteille de prélèvement (nutriments)	33
Figure 4 : Cycle de vie des données intégrées dans Quadrigé.....	51

Photos

Photo 1 : Couvertures des 4 fascicules techniques de définition des suivis du réseau de contrôle de surveillance à La Réunion	15
Photo 2 : Exemples de bouteille de prélèvement Niskin (a), de sonde multi paramètres (b) et de sonde <i>in situ</i> (c)	25
Photo 3 : Exemples de flacons spécifiques	25
Photo 4 : Exemples de support de bouteille de prélèvement	30

Tableaux

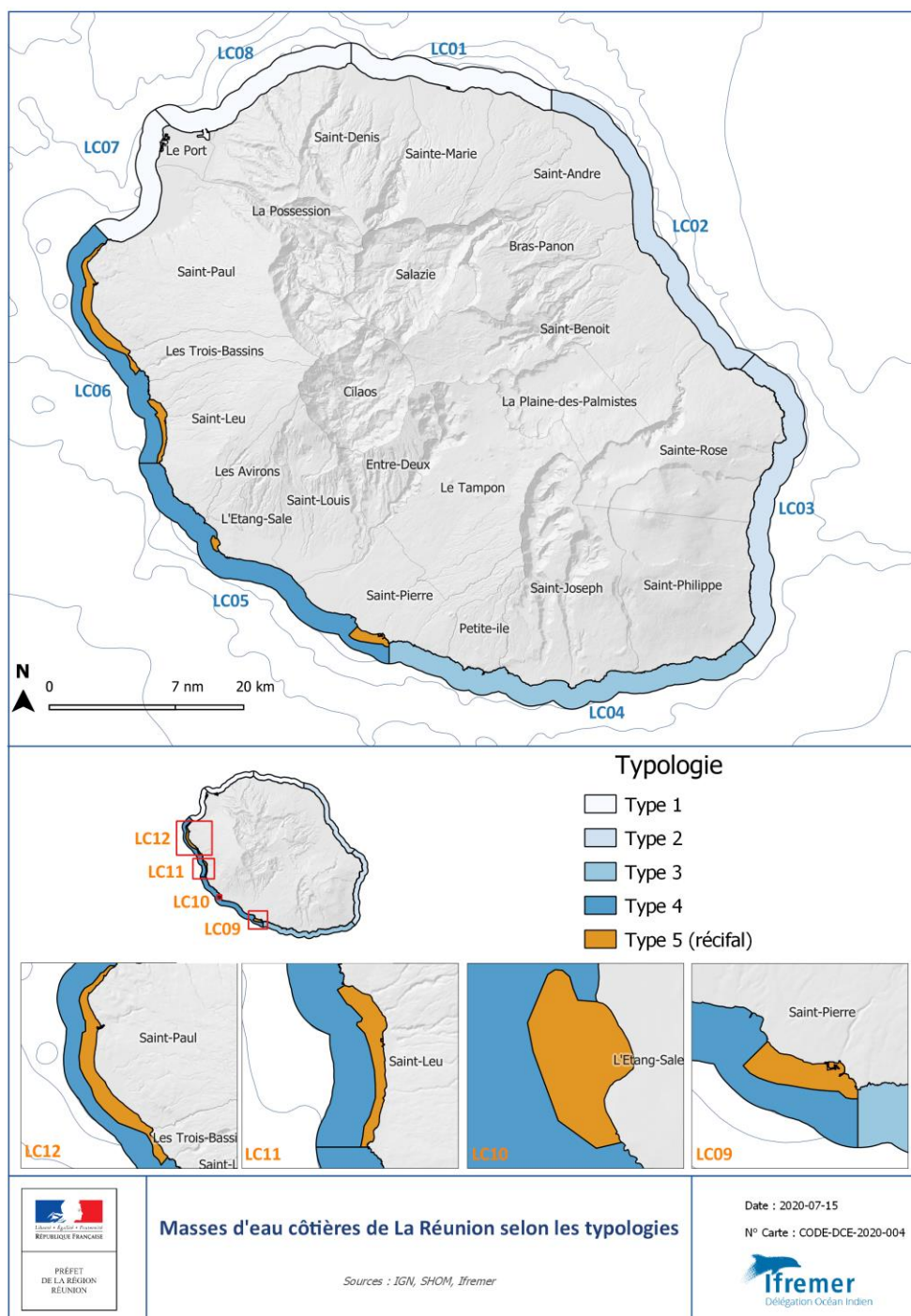
Tableau 1 : Positionnement des lieux de surveillance du RHLR	17
Tableau 2 : Paramètres suivis et niveaux de prélèvement pour chaque lieu de surveillance (RHLR).....	19
Tableau 3: Positionnement des lieux de surveillance du RHLM	21
Tableau 4 : Paramètres suivis et niveaux de prélèvement pour chaque lieu de surveillance (RHLM)	23
Tableau 5 : Conditionnement du flaconnage.....	26
Tableau 6 : Conditions de prélèvement et d'analyses exigées pour chaque paramètre.....	27
Tableau 7 : Exigences analytiques pour la température.....	28

Tableau 8 : Exigences analytiques pour la salinité	28
Tableau 9 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous	29
Tableau 10 : Exigences analytiques pour la turbidité.....	29
Tableau 11 : Conditions de stockage entre le prélèvement et le lieu de conservation avant analyse.....	40
Tableau 12 : Conditions de stockage sur le lieu de conservation avant analyse	42
Tableau 13: Exigences et bonnes pratiques	43
Tableau 14 : Paramètres à enregistrer lors de l'échantillonnage	44
Tableau 15 : Exigences analytiques pour l'oxygène dissous	45
Tableau 16 : Exigences analytiques pour la turbidité.....	45
Tableau 17: Exigences analytiques pour les nutriments [CODE SANDRE]	46
Tableau 18 : Exigences analytiques pour la chlorophylle <i>a</i> [CODE SANDRE]	47
Tableau 19 : Méthodes de dénombrement du phytoplancton suivant sa taille	48
Tableau 20 : Exigences analytiques pour le phytoplancton	48
Tableau 21 : Exigences et bonnes pratiques	49
Tableau 22 : Classement des masses d'eau côtières du bassin de La Réunion en fonction de leur typologie.....	57
Tableau 23 : Classement des masses d'eau côtières du bassin de Mayotte en fonction de leur typologie.....	59

ANNEXES

Annexe I : Masses d'eau côtières du Bassin de La Réunion

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



Carte 3 : Masses d'eau côtières de La Réunion selon les typologies

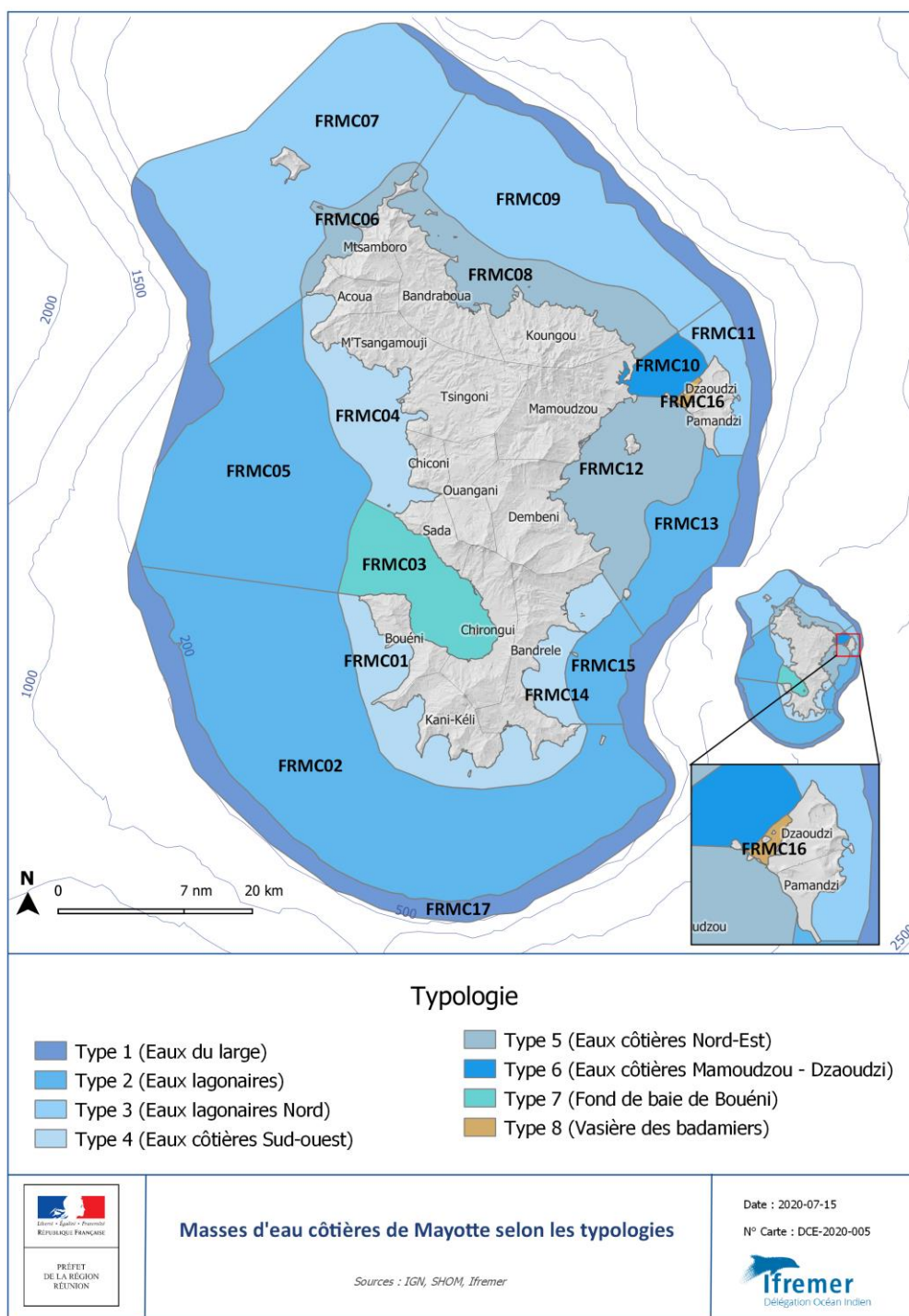
Le classement des masses d'eau côtières du bassin de La Réunion en fonction de leur typologie est présenté Tableau 22.

Tableau 22 : Classement des masses d'eau côtières du bassin de La Réunion en fonction de leur typologie

Typologie	Masses d'eau	Nom	Limites	Nature des fonds	Bathymétrie	Hauteur moyenne des vagues	Exposition particulière :	
							houles australes	houles cycloniques
Type 1	FRLC01	Saint-Denis	Barachois - Sainte-Suzanne	Meuble, sablo-vaseux	Petit fond à moyen	Faible	Faible	Forte
	FRLC07	Saint-Paul	Cap La Houssaye - Pointe des Galets					
	FRLC08	Le Port	Pointe des Galets - Barachois					
Type 2	FRLC02	Saint-Benoit	Sainte-Suzanne - Sainte-Rose	Hétérogène	Fond Moyen à Grand	Moyenne	Faible	Moyenne/ Forte
	FRLC03	Volcan	Sainte-Rose - La Porte					
Type 3	FRLC04	Saint-Joseph	La Porte - Pointe du Parc	Basaltique puis sablo-vaseux	Grand Fond	Très forte	Moyenne/ Forte	Moyenne
Type 4	FRLC05	Saint-Louis	Pointe du Parc - Pointe au Sel	Basaltique puis sableux	Fond Moyen	Moyenne à forte	Moyenne/ Forte	Faible/ Moyenne
	FRLC06	Ouest	Pointe au Sel - Cap La Houssaye					
Type 5	FRLC09	Saint-Pierre	Zone récifale - Saint-Pierre	Récif corallien	Petit Fond	Moyenne/ Forte	Moyenne	Faible
	FRLC10	Etang-Salé	Zone récifale - Etang-Salé					
	FRLC11	Saint-Leu	Zone récifale - Saint-Leu					
	FRLC12	Saint-Gilles	Zone récifale - Saint-Gilles					

Annexe II : Masses d'eau côtières du Bassin de Mayotte

A Mayotte, un état des lieux réalisé en 2006, a conduit à retenir 17 masses d'eau côtières réparties selon 8 types (typologie) distincts pour le suivi de l'état écologique et chimique des eaux littorales (internes au récif barrière). Il est important de souligner qu'à Mayotte la ligne de référence pour définir la limite des 1MN (limite DCE définie à partir du trait de côte) est le récif barrière, ce qui explique que les masses d'eau couvrent une surface pouvant aller jusqu'à 15 km de Grande-Terre.



Carte 4 : Masses d'eau côtières de Mayotte selon les typologies

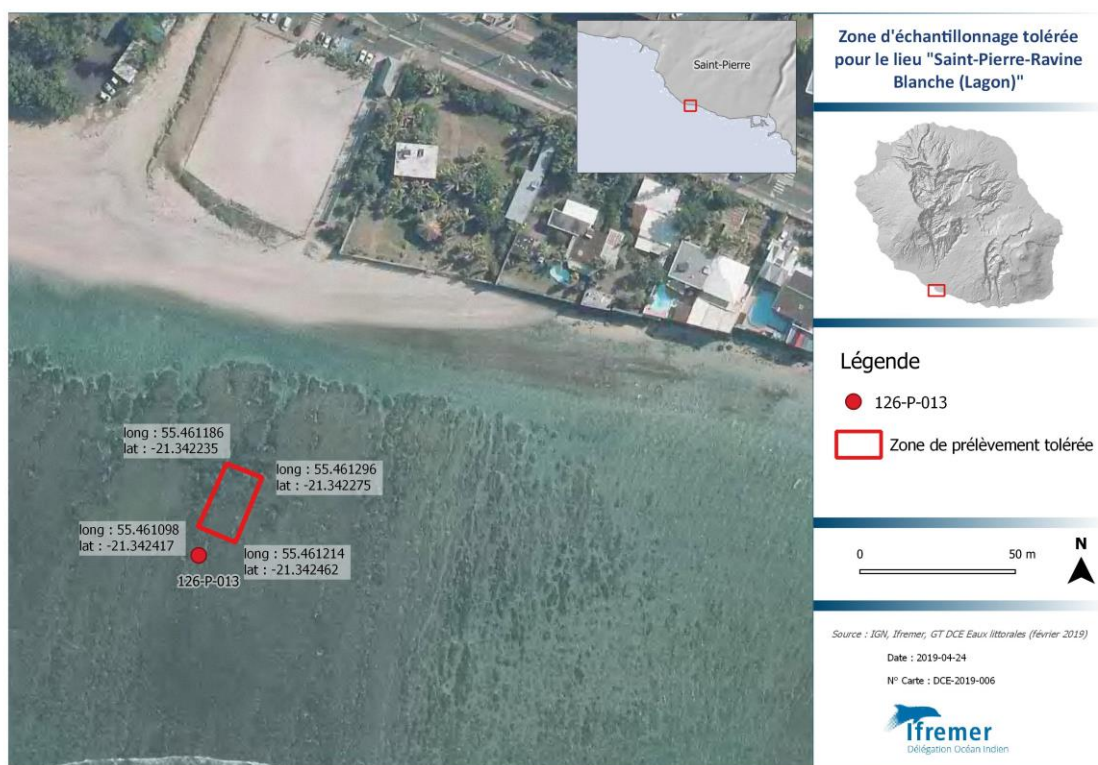
Le classement des masses d'eau côtières du bassin de Mayotte en fonction de leur typologie est présenté Tableau 23. Les facteurs de typologie des masses d'eau ainsi que l'attribution d'un type à chaque masse d'eau sont issus des travaux du groupe de travail experts de Mayotte en 2015. Une mise à jour a été validée en 2019 concernant la redéfinition des limites de la Baie de Bouéni ainsi que sa typologie.

Tableau 23 : Classement des masses d'eau côtières du bassin de Mayotte en fonction de leur typologie

Typologie	Masses d'eau	Nom	Renouvellement eau	Courant	Houle - Intensité	Houle - Nature	Topographie fond	Substrat dominant
1	FRMC17	Eaux du large	Fort	Fort	Fort	Australe et Mousson	Grand	Sable
2	FRMC02	Grand Récif Sud (lagonaire)	Moyen à Fort	Moyen à Fort	Moyen à Fort	Australe	Moyen	Sable
	FRMC05	Barrière immergée Ouest (lagonaire)						
	FRMC13	Pamandzi - Ajangoua - Bandré (lagonaire)						
	FRMC15	Bambo Est (lagonaire)						
3	FRMC07	M'Tsamboro-Choizil (lagonaire)	Moyen à Fort	Fort	Moyen à Fort	Mousson	Moyen	Sable et Sablo-vaseux
	FRMC09	Grand récif Nord Est (lagonaire)						
	FRMC11	Mamoudzou - Dzaoudzi (lagonaire)						
4	FRMC01	Grand Récif Sud (côtère)	Faible à Moyen	Faible à Moyen	Faible à Moyen	Australe	Moyen	Sablo-vaseux
	FRMC04	Barrière immergée Ouest (côtère)						
	FRMC14	Bambo Est (côtère)						
5	FRMC06	M'Tsamboro-Choizil (côtère)	Faible à Moyen	Faible à Moyen	Faible à Moyen	Mousson	Moyen	Sablo-vaseux
	FRMC08	Grand récif Nord Est (côtère)						
	FRMC12	Pamandzi - Ajangoua - Bandré (côtère)						
6	FRMC10	Mamoudzou - Dzaoudzi (côtère)	Faible à Moyen	Fort	Faible à Moyen	Mousson	Moyen	Sablo-vaseux
7	FRMC03	Baie de Bouéni	Faible à Moyen	Faible à moyen	Faible	Sans objet	Moyen	Sablo-vaseux
8	FRMC16	Vasières des Badamiers	Faible	Faible	Faible	Sans objet	Petit	Vaseux

Annexe III : Tolérance d'accès au lieu "Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)"

En raison de la difficulté d'accès au lieu "Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)" lors des marées basses de vives eaux, une tolérance sur la localisation de l'échantillonnage de ce point a été acceptée lors de la réunion du groupe de travail DCE Eaux littorales (février 2019).



Carte 5 : Zone d'échantillonnage tolérée pour le lieu "Saint-Pierre - Ravine Blanche (Lagon)"

Annexe IV : Feuille de mer

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

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

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

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

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