

## **I - RECOMMANDATIONS pour l'évaluation du BENTHOS ESTUARIEN**

Les organismes benthiques sont une composante systématiquement intégrée aux programmes d'évaluation de l'impact potentiel d'une pollution accidentelle par hydrocarbures en environnement littoral. Diverses considérations viennent expliquer cet état de fait et, demeurant valables en estuaire (ex : faune sessile potentiellement indicatrice, importance fonctionnelle, etc. ; Cf. § III.1.), elles justifient la **nécessité de mise en œuvre d'évaluations d'impact sur le benthos estuarien**.

### **I.1 – La sélection des habitats et organismes benthiques :**

Divers **domaines** (médio littoral, infralittoral), **substrats** (meubles, rocheux) ou **types d'organismes** (espèces, communautés, groupe zoologiques ou trophiques, etc.) composant le benthos peuvent faire l'objet de suivis, ciblés selon les préoccupations liées au contexte particulier de la pollution (ex : caractéristiques et devenir du polluant) et de l'environnement (ex : domaines et organismes benthiques exposés au polluant).

#### - Substrats :

En termes de substrats naturels, les sédiments meubles (vases, sables plus ou moins envasés) sont globalement largement représentés en estuaire et la faune endobenthique -sessile- peuplant ces fonds est potentiellement fortement exposée à la contamination des sédiments. Par conséquent, la **mise en œuvre systématique d'un suivi des invertébrés benthiques de substrats meubles** en cas de pollution en estuaire est recommandée.

Le cas échéant, la présence localisée d'infrastructures artificielles dans l'étage médiolittoral (ex : enrochements, notamment) peut s'avérer propice à l'installation d'une faune benthique de substrats durs. Dans l'éventualité d'interrogations ou d'enjeux locaux, et en cas de consensus d'experts à cet égard, un suivi de la faune benthique intertidale de substrats rocheux peut-être mis en œuvre.

#### - Exposition et sensibilité :

Il est recommandé **d'orienter les suivis** en effectuant un **classement des priorités** reposant notamment sur :

- L'exposition potentielle des domaines du compartiment benthique, généralement considérée comme :
  - o **Potentiellement élevée concernant l'étage médiolittoral** (intertidal) ;
  - o **Modérée concernant l'étage infralittoral** (subtidal) et se réduisant avec la distance/profondeur par rapport à l'estran (sauf circonstances particulières) ;
- Les connaissances quant à la plus ou moins grande sensibilité des organismes vis-à-vis d'un déversement significatif d'hydrocarbures. Celle-ci est reconnue pour une large gamme de taxons, notamment les crustacés, les échinodermes, ainsi que certaines espèces de mollusques bivalves et gastéropodes, d'annélides polychètes, etc. Ces éléments peuvent, selon les caractéristiques des peuplements et particularités locales (ex : espèce d'intérêt patrimonial, ou fonctionnel) contribuer à la sélection des cibles biologiques.

**En résumé :** en matière d'évaluations de l'impact sur le compartiment benthique en milieu estuarien, les points précédents amènent donc à recommander prioritairement, *en règle générale*, la mise en œuvre d'un **suivi des invertébrés benthiques** :

- **systématique** concernant l'endofaune des **substrats meubles en domaine médiolittoral** (intertidal) (Cf. § 1.2) ;

- **éventuelle** concernant l'endofaune **des substrats meubles de l'infralittoral** (subtidal) (Cf. § 1.2), en cas de risques de transfert du polluant vers les fonds sédimentaires. Ceci est à considérer dans des scénarios de pollution susceptibles de favoriser une adsorption de la fraction dissoute sur la matière en suspension (cas potentiel d'un produit léger ; ex : essence, gazole, etc.), ou une submersion dans la frange subtidale peu profonde de produits lourds et/ou vieillis et/ou éventuellement chargés en sédiment (particulièrement dans les secteurs dessalés, en lien avec la masse volumique relativement moindre de l'eau) ;
- **complémentaire** de l'épifaune de secteurs **de substrats durs dans le médiolittoral** (infrastructures, le plus souvent), si cette problématique est pressentie comme d'intérêt (ex : représentativité de l'habitat dans les secteurs souillés, importance fonctionnelle perçue, etc.) (Cf. § 1.3).

## I.2 - Méthodes d'évaluation de l'endofaune benthique de substrats meubles

### Considérations générales - difficultés

En règle générale il est recommandé, dans la conception des suivis proposés ci-après (Cf. § 1.2.1 à 1.2.3), de considérer l'ampleur attendue de la **variabilité naturelle** des phénomènes (paramètres) que l'on souhaite examiner chez les invertébrés benthiques de substrats meubles.

Celle-ci peut en effet **s'avérer modérée à relativement élevée**, spatialement et temporellement<sup>1</sup>, et rendre difficile l'assignation nette des réponses observées à la pollution accidentelle. Cette contrainte peut être partiellement réduite par :

- la sélection d'organismes dont **l'écologie et la biologie sont préalablement connues** et/ou de populations pour lesquelles des séries de **données de référence antérieures à l'accident** sont disponibles ;
- un suivi de **sites « témoins »** (non pollués) comparables, s'il en est, aux sites pollués.

**N.B.** La **collecte d'informations qualitatives dans l'urgence** (via des reconnaissances de terrain dans les premiers jours/semaines après l'accident) est recommandable dans la mesure où elles peuvent guider les processus de choix des suivis figurant dans les recommandations formulées ci-après (Cf. § 1.2.1 à 1.2.3) et d'en préciser les stratégies. Si possible, on encouragera la collecte de données visant :

- à caractériser les espèces benthiques *visiblement* affectées (ex : observations, reconnaissances visuelles de phénomènes de remontées de bivalves endogés, d'échouages massifs, etc.) ;
- à estimer, grossièrement et en première instance, l'ampleur et la localisation/extension des phénomènes.

### ❖ I.2.1 Approche écologique, au niveau de populations d'espèces ciblées

#### Le choix des espèces :

Applicable aux étages médiolittoral (intertidal) et infralittoral (subtidal), l'approche consiste à réaliser un suivi de la **dynamique de populations d'espèces macrobenthiques ciblées** en fonction :

- de leur **sensibilité** aux pollutions par hydrocarbures :
  - connue à partir de l'expérience (ex : Crustacés amphipodes) ou ;
  - potentiellement significative du fait de leur exposition et cycles de vie, s'agissant d'organismes à **cycle long, sessiles et endogés** (vivant enfouis dans les sédiments) au premier rang desquels figurent les **mollusques bivalves** de grande

<sup>1</sup> Ex. : distribution agrégative des effectifs chez certaines espèces (dans une moindre mesure en sédiments meubles qu'en habitats rocheux -plus complexes) ; fluctuations saisonnières à pluriannuelles des populations ou de paramètres biologiques, etc.

taille. A noter qu'une sensibilité intermédiaire aux hydrocarbures est, théoriquement, plus adaptée à la réalisation de suivis écologiques, par rapport à une tolérance aux hydrocarbures (pas d'effet sur les populations) ou à une sensibilité très élevée (cas –extrême- de quasi disparition, temporaire et localisée, de la population) ;

- de leur **représentativité** des fonds sédimentaires affectés (ex : typiques de vasières intertidales, au contraire d'espèces 'accidentelles' par exemple en limite de distribution géographique), laquelle favorise en outre la collecte répétée d'un nombre satisfaisant d'individus.

Dans les estuaires ici visés (nord-est atlantique), quelques espèces d'invertébrés de la macrofaune sont *a priori* des **candidats potentiels** pour ce type de suivis ; on citera, par exemple :

- les bivalves :
  - o *Scrobicularia plana*, espèce de Vénéridé essentiellement dépositore, de sédiments intertidaux (méditerranéen) envasés (ex : vases, sables vaseux) et présente en estuaires du fait de sa tolérance aux faibles salinités ;
  - o *Macoma balthica*, espèce de Vénéridé suspensivore et dépositore, commune dans les environnements estuariens dessalés, présente dans les sédiments de l'étage médio- à infralittoral (i.e. subtidal).
- l'annélide *Hediste diversicolor*, espèce (suspensivore et dépositore) de Polychète la plus commune dans les vases intertidales estuariennes du nord-ouest de l'Europe -bien que peut être trop peu sensible pour être utilisée dans le présent contexte ;
- le Crustacé amphipode *Corophium volutator*, espèce dont les spécimens, enfouis dans des tubes en U, sont également bien représentés en estuaires du fait d'une tolérance pour une large gamme de salinité ;
- ...

D'autres espèces macrobenthiques sont connues pour être potentiellement présentes dans les systèmes estuariens tidaux de la région géographique considérée (ex. de bivalves : *Cerastoderma edule*, *Mya arenaria*, *Abra tenuis*, ...), et, localement, il va de soi que l'identification et la sélection des espèces-candidates pour un éventuel suivi de populations s'appuiera sur les **connaissances existantes** (ex : inventaires, suivis en cours...) quant aux espèces macro benthiques (représentativité, biologie, etc.) au sein de l'aire affectée.

#### **Les paramètres à mesurer :**

Les mesures à effectuer au sein de ces populations sont essentiellement l'**abondance** et la **taille** (plus aisée à mesurer chez les bivalves) des individus au sein des populations ciblées, de sorte à estimer l'évolution (i) des densités, (ii) de la structure démographique (distribution des fréquences de taille/classes d'âge), et à calculer, le cas échéant, des taux de survie et de croissance entre les divers événements d'échantillonnage.

Notons qu'il convient de **s'assurer de l'acquisition et de la disponibilité de données pertinentes relatives à la contamination des sédiments** sur les stations suivies –soit en intégrant ce volet dans l'étude écologique, soit en bénéficiant de résultats produits dans le cadre d'une étude distincte mais **coordonnée**<sup>2</sup> et faisant partie du programme d'évaluation.

#### **La stratégie :**

- on comparera les résultats obtenus sur des stations polluées :
  - o avec des données analogues/comparables (i) antérieures à la pollution (références) ou (ii) issues, s'il est possible d'en établir, de sites « contrôle » (non pollués), et/ou ;

---

<sup>2</sup> (Cohérence des sites et des fréquences d'échantillonnage).

- entre des points (stations) présentant des niveaux de contamination différents (examen des relations avec les teneurs en HAPs, par exemple) et ;
- entre les dates successives d'échantillonnages, réalisés **tous les 2 à 3 mois durant au moins 1 année** (intégration d'un cycle reproductif), de manière à identifier à moyen terme d'éventuels impacts, ou la survenance de processus de restauration (ex : comparaison des données à  $t_{+1an}$ ).
- on rappellera la nécessité de suivre, en parallèle de ces paramètres populationnels, **les paramètres sédimentaires de base** (teneurs en Matière Organique et granulométrie) pour chaque station ;
- dans l'hypothèse d'une mise en œuvre dans l'étage infralittoral (risque pressenti de transfert de la pollution vers le fond) :
  - la définition des stations de suivis bénéficiera, pour l'identification de sites potentiellement pollués, de l'expertise de scientifiques spécialisés dans la dynamique des transports sédimentaires (ex : position et évolution du bouchon vaseux, si un risque d'adsorption du polluant sur la MES est identifié) ;
  - l'établissement de sites « contrôle » non pollués en subtidal peut s'avérer problématique dans la mesure où les processus à l'œuvre dans le transfert de pollution vers les fonds (hydrologie, sédimentation de particules fines) introduisent probablement une variabilité naturelle de l'édaphisme en général.
- La poursuite de ce type de suivi au-delà d'1 année est à envisager en fonction des résultats obtenus, moyennant d'éventuelles adaptations (réduction de la fréquence d'échantillonnage, sélection d'un certain nombre de sites, etc.) à considérer au cas par cas.

#### **Les protocoles d'échantillonnage :**

- Le choix des outils (carottiers à main, prélèvements manuels au sein de quadrats, etc.) et du plan d'échantillonnage (surface unitaire, nombre de stations et de réplicats satisfaisant à la collecte d'un nombre significatif d'individus et à réalisation d'épreuves statistiques, etc.), est à **préciser au cas par cas en lien étroit avec les caractéristiques des populations sélectionnées**. La prise en compte de ces éléments (ex : dimension, distribution, abondances des individus)<sup>3</sup> dans **la définition des modalités d'échantillonnage** est un aspect connu des experts en écologie benthique ;
- On rappellera que, si un volet analytique (i.e. contamination des sédiments) est intégré à l'étude, il est nécessaire de veiller au respect des pratiques en vigueur pour un prélèvement et une conservation *ad hoc* d'échantillons dans ce but.

#### **Les avantages :**

L'approche présente l'avantage d'une **mise en œuvre relativement aisée** (logistique réduite – notamment en intertidal), qui ne réclame pas de mesures ou d'analyses complexes des données, ni d'une expertise par trop élevée (tri et détermination d'un cortège d'espèces, par exemple). De ce fait, elle peut permettre d'obtenir des résultats à relativement moyen-terme (quelques mois après son lancement).

*Les spécificités en estuaires de la Seine, de la Loire et de la Gironde (à développer ultérieurement)*

#### **❖ I.2.2 Approche écotoxicologique, au niveau d'espèces ciblées**

Dans le cadre d'évaluations de l'impact post-accidentel sur le compartiment benthique, il est possible de mettre en œuvre des approches visant à rechercher l'apparition d'effets sub-létaux chez les

<sup>3</sup> (Ex : de l'ordre de plusieurs mm, de l'ordre du cm ; etc. ; de quelques spécimens à plusieurs dizaines -voire centaines- au m<sup>2</sup> ; distribution régulière ou agrégative ; etc.)

individus d'une espèce donnée : ces effets peuvent se manifester à différentes échelles (ex : organique à subcellulaire, voire moléculaire) et sont plus ou moins spécifiques du polluant incriminé.

Par conséquent, les techniques (ex : biomarqueurs d'effet génotoxique, histopathologie, etc.) potentiellement employables sont nombreuses, diverses, et leur pertinence peut varier selon les spécificités de la pollution (caractéristiques du déversement, composition et devenir de l'hydrocarbure, etc.).

Ainsi, les recommandations formulées dans ce paragraphe :

- portent sur **les grands traits d'une approche générale a minima** ;
- sont en partie fondées sur l'expérience identifiée à ce jour en termes de pollutions pétrolière, elles ne se veulent par conséquent **ni exhaustives ni restrictives**.

### **Le choix des espèces :**

En dehors des recommandations générales à observer (Cf. plus haut **Considérations générales - difficultés**), les critères de sélection des organismes sont similaires à ceux évoqués dans la section précédente (Cf. **I.2.1**) à savoir :

- leur **sensibilité** connue aux pollutions par hydrocarbures (induction probable d'une réponse) ;
- l'**exposition potentielle** de l'espèce au polluant (ex : bivalve endogé et filtreur) ;
- leur **représentativité** de l'aire affectée ;
- éventuellement leur **statut** d'espèce consommée/commerciale et/ou patrimoniale.

Dans les sédiments des estuaires du nord-est atlantique, quelques espèces d'invertébrés de la macrofaune présentent ces caractéristiques et sont *a priori* des **candidats potentiels** pour les suivis écotoxicologiques, par exemple :

- les bivalves Vénéridés endogés, à cycle de vie long, *Scrobicularia plana* (déposivore), *Macoma balthica* (suspensivore et déposivore) communs dans les sédiments fins estuariens ;
- l'annélide *Hediste diversicolor*, Polychète suspensivore et déposivore très commun dans les vases intertidales estuariennes ;
- le Crustacé amphipode *Corophium volutator*, espèce également bien représentée en estuaires ;
- ...

A l'évidence, d'autres espèces-candidates<sup>4</sup> peuvent être sélectionnées sur la base des **connaissances existantes** (ex : inventaires, suivis en cours...) quant au macro benthos de l'aire affectée (représentativité, biologie, etc.).

Si elles sont présentes, le suivi d'**espèces sentinelles** peut être recommandé, s'agissant notamment chez les invertébrés benthiques du bivalve filtreur *Mytilus* sp., espèce souvent présente en estuaire (tolérance aux salinités réduites) bien que sur des substrats durs (le cas échéant sur des infrastructures en métal, en béton, en métal, etc.).

### **Les paramètres à mesurer :**

En premier lieu, si des **séries de données** collectées dans le cadre d'un suivi en routine de la qualité du milieu estuarien, concernant un biomarqueur et une espèce particuliers, sont disponibles dans l'aire affectée, il est recommandé d'examiner rapidement après l'accident la survenance éventuelle d'**anomalies dans les fluctuations de base** dudit biomarqueur, même si ce dernier n'est *a priori* pas spécifique d'une pollution accidentelle par hydrocarbures.

---

<sup>4</sup> Espèces de la mégafaune benthique endogée, communes dans les sédiments fins et tolérantes aux eaux saumâtres, par exemple (chez les bivalves) : *Mya arenaria*, *Cerastoderma edule*, éventuellement *Ruditapes* sp., etc.

L'évaluation de l'effet biologique d'un polluant sur des mollusques bivalves sentinelles (moules, *Mytilus* sp.) ou d'autres espèces potentiellement candidates (citées précédemment) peut être appréhendée *via* l'**étude croisée d'une batterie de biomarqueurs**, spécifiques ou non de l'impact lié aux HAPs.

Lorsque possible, et en fonction du contexte de l'accident (ex : applicabilité aux espèces présentes), on sélectionnera préférentiellement ces biomarqueurs sur la base des **recommandations** formulées par des groupes d'experts internationaux (ex : *Joint Assessment Monitoring Programme*, de la Convention OSPAR ; *Conseil international pour l'exploration de la mer* (CIEM/ICES), etc.).

Dans cet esprit, on suggèrera l'application en priorité d'une batterie de biomarqueurs (consignés dans le tableau ci-dessous)<sup>5</sup> :

- d'**exposition** reconnus comme témoins d'un contact avec les contaminants majeurs des systèmes aquatiques, dont les hydrocarbures ;
- de **génétoxicité** ;
- d'**effets** (non spécifiques, néanmoins, d'un type de contaminant). ;
- et associant l'investigation d'effets à **court-terme** (heures, jours), et à **moyen/long-terme** (semaines, mois).

	Biomarqueurs	Signification biologique	Recommandations (JAMP ou CIEM)	Application sur les groupes taxonomiques		
				Bivalves	Crustacés	Polychètes
Exposition	Benzo(a)Pyrène Hydroxylase (réponse à court terme)	Activité enzymatique de détoxification des HAPs (phase 1 des activités de métabolisation)		X	X	X
	Acétyl Choline Estérase (réponse à court terme)	Effet neurotoxique : marqueur de stress général indiquant le statut physiologique de l'organisme	Oui	X	X	X
Génétoxicité	Micronoyaux (réponse à long terme)	Formation suite à la cassure de brins d'ADN par exposition à des substances clastogéniques et aneugéniques	Oui	X	X <sup>6</sup>	X
	Test comètes (réponse à long terme)	Cassures de brins d'ADN	Oui (méthode additionnelle)	X	X <sup>7</sup>	X

<sup>5</sup> Bien que plus particulièrement décrite chez la moule, l'application de ces biomarqueurs peut être raisonnablement envisagée chez les espèces potentiellement candidates citées dans ce paragraphe (du fait de réponses biologiques *a priori* similaires).

<sup>6</sup> A priori applicable, réalisé sur des crabes (Nudi et al, 2010), même si peu de recul sur ce taxon.

<sup>7</sup> A priori applicable, réalisé sur des daphnies (Den Besten et Tuk, 2000) et des gammarès (Lacaze, 2011), même si peu de recul sur ce taxon.

Effets	Stabilité lysosomale (réponse à court et long terme)	Dommages subcellulaires. Bon prédicteur de pathologies : propose un lien entre exposition et effets pathologiques	Oui	X	X <sup>8</sup>	X
	Activités enzymatiques antioxydantes (CAT, SOD, GPx...) (réponse à court terme)	Réponse cellulaire au stress oxydant		X	X	X
	MalonDiAldéhyde (réponse à long terme)	Produit de dégradation des lipides (péroxydation lipidique : réponse cellulaire au stress oxydant)		X	X	X
	Histopathologie (réponse à long terme)	Réponses générales témoins d'un effet pathologique (ex : glandes digestives, gonades)	X	X	X <sup>9</sup>	?

*Récapitulatif des recommandations des biomarqueurs principaux pour les invertébrés benthiques (N.B. : indications établies sur la base de l'expérience, suggérant leur adaptation à la problématique présente. Cette liste est moins restrictive qu'indicative.*

### La stratégie

- on comparera les réponses biologiques obtenues :
  - o avec des données analogues et comparables : (i) antérieures à la pollution (références) ou ; (ii) issues, s'il est possible d'en établir, de sites « contrôle » (non pollués), et/ou ;
  - o entre des stations présentant des niveaux de contamination différents (examen des relations avec les teneurs en HAPs, par exemple) et ;
  - o entre les dates d'échantillonnages successifs, réalisés à une fréquence adaptée à l'échelle temporelle du processus biologique examiné (i.e. élevée pour des biomarqueurs de réponses initiales à court-terme, plus faible pour des réponses à long terme)
- on rappellera l'intérêt de s'assurer de l'acquisition et de la disponibilité de données pertinentes relatives à la **contamination des sédiments, de la masse d'eau** et également du **biota** sur les stations suivies –soit en intégrant ce volet dans l'étude écotoxicologique, soit en bénéficiant de résultats produits dans le cadre d'une étude distincte mais coordonnée et faisant partie du programme d'évaluation ;
- de même, on rappellera également l'intérêt de combiner les réponses des biomarqueurs aux données environnementales acquises sur les stations suivies (température, salinité, oxygène dissous...) ;
- la poursuite au-delà d'un premier cycle annuel du suivi écotoxicologique est à envisager selon les résultats (ex : réponse effective et persistante), moyennant d'éventuelles adaptations (réduction de la fréquence d'échantillonnage, suivi de certains biomarqueurs 'chroniques', sélection d'un certain nombre de sites, etc.).

<sup>8</sup> A priori applicable, réalisé chez des daphnies (Den Besten & Tuk, 2000), isopodes terrestres (Nolde et al, 2006) et crevettes (Bechmann et al, 2010), même si peu de recul sur ces taxons.

<sup>9</sup> A priori applicable, réalisé chez *Carcinus maenas* (Morales-Caselles, 2008).

## Remarques additionnelles :

### - Les biotests

Dans un cadre post-accidentel, la réalisation en laboratoire de biotests (ou bioessais) peut être souhaitée dans le but de fournir rapidement des éléments (i) d'évaluation du risque posé par la substance déversée/matrice sur l'environnement affecté, ou (ii) d'interprétation des résultats obtenus par les études d'impacts<sup>10</sup>.

Le cas échéant (et en complément de la recherche *in situ* d'impacts sur les organismes, populations ou communautés), on recommandera la mise en œuvre d'une batterie de bioessais :

- permettant de dresser un premier **screening** du potentiel toxique de la substance ou de la matrice ;
- dont les protocoles, communément acceptés et décrits, font l'objet de **recommandations** et/ou reposent sur des **protocoles normalisés** (ex : norme ISO).

Le tableau ci-dessous propose un aperçu des bioessais d'intérêt potentiel en cas de déversement accidentel d'hydrocarbures.

Méthode recommandée	Matrice testée	Organismes	Signification biologique	Références
DR-Calux (test <i>in vitro</i> )	Eau, WAF, éluviats de sédiments, extraits du biota	Lignée cellulaire hépatique de rat	Mesure de l'exposition à des composés planiaires (HAPs, PCBs...)	Klamer et al. (2005)
Test Microtox (test <i>in vitro</i> )	Matrices liquides : Eau, WAF, éluviats de sédiments	Bactérie luminescente marine <i>Vibrio fischeri</i>	Mesure d'une toxicité aigüe	Norme ISO 11348 <sup>11</sup>
Développement embryo-larvaire (test <i>in vivo</i> )	Eau, WAF, éluviats de sédiments	Oursins, huîtres	Mortalité et déformation des embryons	Beiras et al (2012). <sup>12</sup> , ou Quiniou <sup>13</sup> et al. (2005)
Bioessais sédiments (test <i>in vivo</i> )	Sédiments, éluviats de sédiments	Amphipodes et/ou polychètes,	Mortalité et comportement	norme ISO 16712 <sup>14</sup> et/ou Thain & Bifield (2001) <sup>15</sup>

<sup>10</sup> Rappelons que la vocation des bioessais n'est pas d'en extrapoler les résultats en termes d'effets induits *in situ*.

<sup>11</sup> International Organization for Standardization. 2007. Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria. EN ISO 11348-3.

<sup>12</sup> Beiras, R., Durán, I., Bellas, J., and Sánchez-Marín, P. 2012. Biological effects of contaminants: *Paracentrotus lividus* sea urchin embryo test with marine sediment elutriates. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No. 51. 13 pp. Consultable sous : <http://www.ices.dk/pubs/times/times51/TIMES%2051%20Final%20120522.pdf>

<sup>13</sup> Quiniou F., His É., Delesmont R., Caisey X., 2005. Bio-indicateur de la toxicité potentielle de milieux aqueux : bio-essai « Développement embryo-larvaire de bivalve ». Éd. Ifremer, Méthodes d'analyse en milieu marin, 24p.

<sup>14</sup> International Organization for Standardization. 2005. Water quality - Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods. EN ISO 16712

<sup>15</sup> Thain, J. & Bifield, S. 2001. Biological effects of contaminants : Sediment bioassay using the polychaete *Arenicola marina*. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No.29. 16 pp. Consultable sous: <http://www.ices.dk/pubs/times/times29/TIMES29.pdf>

Scope for growth (test in vivo ou mésocosme)	Matrices liquides : Eau, WAF, éluviats de sédiments. Applicable sur le site du déversement.	Utilisé sur les moules, transposable à d'autres bivalves	mesure subléthale de l'énergie disponible pour la croissance	Widdows & Staff (2006) <sup>16</sup>
--	---	--	--	--------------------------------------

*Récapitulatif des recommandations des biomarqueurs principaux pour les invertébrés benthiques (N.B. : indications établies sur la base de l'expérience, suggérant leur adaptation à la problématique présente. Cette liste est moins restrictive qu'indicative.*

### ❖ I.2.3 Approche écologique, au niveau des communautés

Concernant les études au niveau des communautés macro benthiques de substrats meubles, les **avantages perceptibles** sont notamment (i) l'acceptation -et la relative standardisation- des protocoles de surveillance, et (ii) un niveau de connaissance et une expérience établis, en termes d'analyse des paramètres descripteurs des communautés (richesse spécifique, abondances, etc.)

Cependant, il est important de souligner que le savoir-faire en matière d'évaluation de la qualité de l'environnement *via* l'étude des peuplements macro benthiques **porte largement sur les milieux marins : en milieu estuarien, le système de transition entre les domaines polyhalin, mésohalin et oligohalin impose de considérer quelques restrictions potentielles en termes d'analyse des données obtenus selon cette approche :**

- En milieu marin et littoral, hors situation de déséquilibre (pollution, par exemple), la structuration des communautés macrobenthiques tend *grosso modo* à s'articuler à partir des relations interspécifiques (ex : prédation, compétition, etc.) s'établissant entre les différents groupes (ex : fonctionnels, trophiques, etc.) composant le système. En estuaire en revanche, ce sont les contraintes environnementales croissantes de l'aval vers l'amont (ex : dessalure, turbidité, matière organique, etc.) qui jouent un rôle prépondérant sur la composition des peuplements (avec, par exemple, un maintien dans les secteurs amonts des espèces les plus résistantes vis-à-vis de ces contraintes et de leurs fluctuations) ;
- Il en résulte que les indicateurs benthiques existants (ex : AMBI, BQI, etc.), le plus souvent conçus et développés pour l'analyse de la structure de communautés en milieu côtier/marin<sup>17</sup>, peuvent *a priori* s'avérer mal adaptés à l'estimation du niveau de dégradation de peuplements estuariens, dont la structure traduit éventuellement moins une dégradation du milieu que leur adaptation aux contraintes naturelles typiques d'un estuaire (ex : cas d'une abondance d'espèces signant un enrichissement en matière organique, laquelle traduirait une dégradation du milieu dans un contexte marin ou côtier, mais s'avère caractéristique en vases estuariennes).

En dépit de ces difficultés éventuelles, se posant surtout dans les domaines estuariens les plus dessalés (ex : oligohalin), l'identification d'effets reste, en principe, envisageable par **comparaison d'un certain nombre de descripteurs de base de la structure des communautés** (voire éventuellement d'indices) entre (i) des sites contaminés suite au déversement, d'une part, et (ii) des données de référence analogues d'autre part (pré-pollution, ou provenant de sites contrôle non touchés).

#### Les paramètres

<sup>16</sup> Widdows, J. & Staff, F. 2006. Biological effects of contaminants : measurement of scope for growth in mussels. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences No.40. 34 pp. Consultable sous <http://www.ices.dk/pubs/times/times40/TIMES40.pdf>

<sup>17</sup> Reposant, par exemple, sur le classement des espèces : en groupes de polluo-sensibilité vis-à-vis d'une pollution organique ; en groupes trophiques, etc.

L'évaluation des effets sur la structure des communautés implique, au sein de chaque échantillon, la détermination de chaque taxon, si possible au niveau de l'espèce, et l'établissement des paramètres suivants : **richesse spécifique** (nombre d'espèces), **abondances** et la **biomasse**<sup>18</sup>. Ces descripteurs sont les éléments de base soutenant l'analyse ultérieure -entrant, le cas échéant, dans le calcul de la plupart des indices de qualité du benthos.

### La stratégie

- on comparera les données obtenues (ex : abondances, biomasses, richesse spécifique), regroupées par station :
  - o avec des données analogues/comparables (i) antérieures à la pollution (références) ou (ii) issues, s'il est possible d'en établir, de sites « contrôle » (non pollués), et/ou ;
  - o entre des stations présentant des niveaux de contamination différents (examen des relations avec les teneurs en HAPs, par exemple) et ;
  - o entre les dates d'échantillonnages successifs, réalisés saisonnièrement durant au moins 1 année (intégration d'un cycle reproductif), de manière à identifier à moyen terme d'éventuels impacts, ou la survenance de processus de restauration (ex : comparaison des données à  $t_{+1an}$ ).
- les comparaisons et le suivi peuvent porter sur divers critères, par exemple :
  - o la **liste des taxons les plus abondants** (caractérisant les fonds) ;
  - o les **abondances relatives de groupes de polluo-sensibilité distincte** (si cette dernière est connue pour les taxons/espèces présentes)<sup>19</sup> ;
  - o divers indices existants et reconnus en matière d'écologie des communautés benthiques (ex : diversité de Shannon-Wiener, AMBI, etc.) à **sélectionner/valider par des experts selon leur pertinence potentielle au regard du contexte de pollution** (Cf. remarques plus haut) et /ou les connaissances antérieures, la disponibilité de séries de données de référence, etc. ;
  - o le ratio [polychètes/amphipodes] a été proposé comme indicateur potentiel de changement des communautés de substrats meubles induits par une pollution par hydrocarbures, sur la base des connaissances acquises suite aux accidents de l'*Amoco Cadiz* (1978 et de l'*Aegean Sea* (1992)<sup>20</sup>. Affiné en indice BOPA<sup>21</sup>, dans le contexte de la recherche d'indicateurs pour la Directive Cadre sur l'Eau, l'applicabilité de l'indice pour l'évaluation de l'impact d'une pollution accidentelle dans les divers domaines estuariens est cependant à évaluer.
- on rappellera la nécessité de caractériser et de suivre, en parallèle de ces paramètres populationnels, **les paramètres sédimentaires de base** pour chaque station, en particulier les teneurs en Matière Organique et la granulométrie ;
- il convient de s'assurer de l'acquisition et de la disponibilité de données pertinentes relatives à la **contamination des sédiments** sur les stations suivies –soit en intégrant ce volet dans l'étude écologique, soit en bénéficiant de résultats produits dans le cadre d'une étude distincte mais coordonnée et faisant partie du programme d'évaluation ;

---

<sup>18</sup> Les méthodologies propres à l'établissement de ces paramètres, par exemple la mesure du Poids Sec Sans Cendres (PSSC) pour la biomasse, sont communément acceptées et décrites dans la littérature scientifique et font par ailleurs l'objet de recommandations pour le suivi de la qualité du macrobenthos dans le cadre de dispositifs réglementaires (Directive Cadre Eau) ou de comités internationaux d'experts (ICES/CIEM, par exemple.)

<sup>19</sup> Ex : fluctuations inhabituelles des abondances de taxons globalement considérés comme résistants -voire opportunistes (ex : certains Polychètes), ou *a contrario* sensibles (ex : crustacés amphipodes).

<sup>20</sup> **Gesteira, J.L., Dauvin, J.C., 2000.** Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. *Marine Pollution Bulletin* 40, 1017–1027.

<sup>21</sup> **Dauvin JC, Ruellet T, 2007.** Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin* 55: 215-224.

- la poursuite de ce type de suivi au-delà d'1 année est à envisager en fonction des résultats obtenus à  $t_{+1an}$ , moyennant d'éventuelles adaptations (réduction de la fréquence d'échantillonnage, sélection d'un certain nombre de sites, etc.) à considérer au cas par cas. Une fréquence minimum de 2 échantillonnages par an est recommandée (au début de printemps (mars-avril) et la fin de l'été (septembre-octobre)).

Dans le cas d'une mise en œuvre dans l'étage infralittoral (risque identifié de transfert de la pollution vers le fond) :

- la définition des stations de suivis bénéficiera, pour l'identification de sites potentiellement pollués, de l'expertise de scientifiques spécialisés dans la dynamique des transports sédimentaires (ex : position et évolution du bouchon vaseux, si un risque d'adsorption du polluant sur la MES est identifié) ;
- l'établissement de sites « contrôle » non pollués peut s'avérer problématique dans la mesure où les processus à l'œuvre dans le transfert de pollution vers les fonds (hydrologie, sédimentation de particules fines) introduisent probablement une variabilité naturelle de l'édaphisme en général (soulignant la nécessité de suivre ce paramètre).

### Les protocoles d'échantillonnage

Les engins de prélèvement *ad hoc* (carottiers, bennes, etc.), les détails du plan d'échantillonnage (ex : nombre de réplicats) et les modalités de traitement des échantillons sont des aspects connus des experts en matière d'écologie des populations benthiques intertidales, et font l'objet de **recommandations** dans des cadres nationaux (ex : ReBent), communautaires (ex : DCE) ou autres cadres internationaux. On recommandera de s'y référer pour assurer la **cohérence des méthodes mises en œuvre avec les standards acceptés<sup>22</sup> au niveau des considérations suivantes** notamment :

- En domaine médiolittoral (intertidal), l'échantillonnage peut être réalisé à pied, au moyen de carottiers à main (surface unitaire minimum de 0.01 m<sup>2</sup>, profondeur de 15-20 cm) ;
- En infralittoral (ou dans les bas niveaux de l'intertidal si besoin/nécessaire), l'échantillonnage est réalisé par bateau, au moyen de bennes dont divers modèles sont communément répandus et acceptés (ex : surface unitaire de 0.1 m<sup>2</sup>). Parmi ceux adaptés aux sédiments les plus communément rencontrés en estuaires (fonds peu profonds de type vases, sables envasés, etc.) on citera notamment la benne *Van Veen* (adaptée aux contextes vaseux par petits fonds) ou la *Smith McIntyre* (d'un encombrement et poids toutefois plus conséquents, et nécessitant un bras de levage) ;
- Le nombre de prélèvements/réplicats par point doit satisfaire à la représentativité des données (5 prélèvements sont habituellement recommandés pour la faune), ceci pour les échantillonnages de macrobenthos, mais aussi pour ceux destinés à l'analyse sédimentaire (matière organique et granulométrie), voire de la contamination si ce volet est intégré dans l'étude (veiller au respect des pratiques en vigueur pour un prélèvement et une conservation *ad hoc* d'échantillons en vue d'une analyse chimique) ;
- Les échantillons doivent être traités selon les recommandations acceptées dans la discipline, et référencées dans la littérature, depuis le tamisage des échantillons (adapté à la macrofaune, sur maille ronde de préférence, et de vide de 1 mm) jusqu'à leur fixation (formol dilué), en passant par les procédures de calcul des biomasses (Poids sec sans cendre) ou d'analyse du sédiment (ex : granulométrie selon les normes AFNOR en vigueur).

<sup>22</sup> Ex : **Guillaumont, B., et E. Gauthier, 2005.** Recommandations pour un programme de surveillance adapté aux objectifs de la DCE - Recommandations concernant le benthos marin. Ifremer, novembre 2005 ; **Rumohr, H. 2009.** ICES Techniques in Marine Environmental Sciences/Soft-bottom macrofauna: Collection, treatment, and quality assurance of samples. 24 pp.

### Les avantages et inconvénients

En dehors de l'acceptation générale des protocoles de surveillance, et de la connaissance acquise suite aux expériences passées de pollutions significatives par hydrocarbures, l'approche permet une vue globale quant à l'état de santé de l'environnement benthique, et aux retombées potentielles en termes, par exemple, de diversité ou de fonctionnalité du système (préoccupations récurrentes).

En revanche, elle présente le désavantage de requérir un niveau d'expertise relativement élevé (ex : taxonomie des invertébrés benthiques), une logistique éventuellement lourde (mobilisation de bennes et de navires en infralittoral), et nécessite un certain délai pour le traitement d'échantillons et de matériel biologique nombreux (tri, détermination, comptage, etc.). Par conséquent, l'analyse et l'interprétation des données peut nécessiter des moyens et des délais plus importants que dans les approches précédemment décrites (ciblage d'une espèce, ou investigation d'effets au niveau des individus)

### Remarques additionnelles :

#### - La méiofaune

Dans certains cas de pollutions majeures par hydrocarbures (ex : *Amoco Cadiz*, 1978), l'intérêt indicateur du ratio [nématodes/copépodes] pour l'évaluation des impacts a été suggéré, de même que, par divers auteurs, en général, pour l'évaluation des déséquilibres face à des apports en matière organique (ex : Raffaelli et Mason, 1981). Si ce potentiel de la méiofaune mérite d'être mentionné, du fait de résultats obtenus suite à des pollutions par hydrocarbures<sup>23</sup>, cette approche semble moins prioritaire que les suivis de macrobenthos, en raison :

- d'une applicabilité/pertinence en estuaires à évaluer (quid du rapport [nématodes/copépodes] en conditions normales ?) ;
- de protocoles *a priori* moins communément établis que pour le macrobenthos ;
- d'une variabilité naturelle spatiale et temporelle potentiellement élevée, contraignante en terme d'adéquation de la stratégie d'échantillonnage (ex : haute fréquence pour distinguer la variabilité temporelle par exemple) et d'interprétation des fluctuations (part assignable aux hydrocarbures).

### Les spécificités en estuaires de la Seine, de la Loire et de la Gironde (à développer ultérieurement)

---

<sup>23</sup> Ex : **Boucher G., 1981.** Effets à long terme des hydrocarbures de l'Amoco Cadiz sur la structure des communautés de nématodes libres des sables fins sublittoraux. In : « Amoco Cadiz » Conséquences d'une pollution accidentelle par les hydrocarbures. Actes du Colloque International, Centre Océanologique de Bretagne, Brest (France) 19-22 novembre 1979 ; C.N.E.X.O., Paris : 539-549.