



ÉVALUATION ET SUIVI DE L'IMPACT ÉCOLOGIQUE D'UNE POLLUTION ACCIDENTELLE PAR HYDROCARBURES EN MILIEU ESTUARIEN (IMPOLEST)

Rapport final (actions 2012)

*Etude réalisée avec le soutien du
Ministère de l'Écologie, du
Développement durable et de
l'Énergie, de Total et de la Région
des Pays de la Loire*

R.13.11.C / 3351

IC

Mars 2013

Cedre

<p style="text-align: center;"><i>Cedre</i> 715, rue Alain Colas, CS 41836 29218 BREST CEDEX 2 - FRANCE</p>		<p>Tél : 33 (0)2 98 33 10 10 Fax : 33 (0)2 98 44 91 38 Courriel : contact@cedre.fr Internet : http://www.cedre.fr</p>	
<p>Références du contrat : Convention <i>Cedre</i>-MEDDE (DEB), contrat Total – <i>Cedre</i> (action 3351) et convention Région des Pays de la Loire-<i>Cedre</i> (n° 2010-12869 relative au projet <i>Impolest</i> dans le cadre de l'appel à projets « expertise au profit du territoire 2010 »)</p>			
<p>ÉVALUATION ET SUIVI DE L'IMPACT ECOLOGIQUE D'UNE POLLUTION ACCIDENTELLE PAR HYDROCARBURES EN MILIEU ESTUARIEN (IMPOLEST)</p> <p>RAPPORT FINAL (ACTIONS 2012)</p>			
<p>Rédigé par : Ivan Calvez Service Suivi des Pollutions</p> <p style="text-align: center;">Validé</p>		<p>Relu par : Estérine Evrard, Service Suivi des Pollutions</p> <p style="text-align: center;">Validé</p>	
		<p>Contrôlé par : Georges Peigné, Adjoint au Directeur</p> <p style="text-align: center;">Validé</p>	
<p>Mots clefs : accidents pétroliers, estuaires, impacts écologiques, protocoles de suivis, réseaux d'observation</p>			
<p>Nombre de pages : 9 Hors page de garde / résumé / annexes Nombre de pages annexes : 46</p>		<p>Diffusion : MEDDE : 1 exemplaire TOTAL : 1 exemplaire Région Pays de la Loire : 1 exemplaire</p>	
<p>Classement / copies internes : Suivi des Pollutions, Documentation</p> <p>Références <i>Cedre</i>, date : R.13.11.C / 3351, mars 2013.</p>			

Cedre

RESUME

Le projet IMPOLEST vise à l'élaboration d'un outil à vocation opérationnelle facilitant la gestion de crise en matière d'évaluation de l'impact potentiellement induit par une pollution accidentelle en estuaire.

Il se propose de prédéfinir les grandes lignes d'un programme d'évaluation et de suivi des impacts qui soit applicable aux principaux milieux estuariens de la façade atlantique métropolitaine française, en s'attachant si possible à prendre en compte les particularités locales.

Une demande industrielle et sociétale motive ce projet, de mise à disposition des autorités (état, collectivités) d'un outil opérationnel qui, mis en œuvre rapidement, minimiserait la perte d'information et permettrait d'apporter des éléments de réponse aux divers questionnements des résidents/acteurs riverains.

Ce travail a inclus, au cours des années précédentes de son développement, des étapes (i) d'inventaire des réseaux de surveillance existant en estuaires et (ii) d'analyse de l'expérience (i.e. des protocoles mis en œuvre en cas réels de pollutions majeures par hydrocarbures). Ces étapes étaient destinées à soutenir l'identification de suivis et d'approches éventuellement en cours (suivis de routine), ou au contraire s'il en est à rechercher (ex : identification de lacunes) et, si possible, à préconiser dans le cadre d'une pollution accidentelle en milieu estuarien. En outre, un réseau pluridisciplinaire d'experts scientifiques-référents avait été constitué en 2011, dont les premières réunions animées par le Cedre avaient permis d'en recueillir l'avis concernant les grandes lignes et la démarche du projet Impolest.

Le présent rapport présente une synthèse des actions menées en 2012, lesquelles incluent :

- *la mise en œuvre d'une plateforme collaborative destinée à faciliter les échanges avec les membres du réseau d'experts-référents, notamment en leur permettant (i) de consulter des documents d'information (synthèses bibliographiques élaborées par le Cedre notamment) et (ii) de commenter, modifier, ou enrichir les documents de travail thématiques progressivement rédigés et mis en ligne à leur intention par le Cedre (recommandations de suivis sur les diverses composantes de l'environnement estuarien) ;*
- *une recherche complémentaire de retours d'expériences en estuaires a confirmé le manque de références bibliographiques relatives à des programmes d'évaluation d'impact dans ces environnements. Une analyse d'études faisant partie du programme consécutif de l'incident de la raffinerie de Donges (estuaire de la Loire, mars 2008) a néanmoins été engagée, à ce jour réalisée pour une partie des composantes environnementales prioritairement prises en compte dans le projet ;*
- *la rédaction par le Cedre de recommandations, relatives aux organismes macrobenthiques et à l'ichtyofaune, postées sur la plateforme collaboratif du projet IMPOLEST pour commentaire critique des membres du réseau scientifique.*

Cedre

SOMMAIRE

Rappel du projet	1
I - Contexte	1
II - Problématique	2
II.1 - Problématique scientifique.....	2
II.2 - Problématique opérationnelle	3
III - Contenu	4
IV – Actions réalisées dans le cadre de la programmation 2012	6
IV.1 – Mise en place d’un site collaboratif Projet IMPOLEST.....	6
IV.2 – Extension de l’analyse des cas concrets	6
IV.3 – Recommandations de suivis	7
V – Conclusions	8
VI – Perspectives / actions à venir	8
VIII – Annexes	9

Cedre

Rappel du projet

Les estuaires, sièges de multiples usages économiques et composés d'une mosaïque d'espaces de sensibilités et à fonctionnalités écologiques diverses, sont des milieux spécifiques jouissant depuis récemment d'une considération croissante. En effet, des schémas de nouvelle gouvernance et des programmes de reconquête environnementale s'y dessinent en réponse à des objectifs nationaux ou communautaires. Par conséquent, comme l'ont récemment rappelé des déversements survenus en France et à l'étranger, les pollutions accidentelles dans ces espaces suscitent une pression importante sur les autorités, de la part des acteurs estuariens et des riverains, mais aussi évidemment sur le pollueur. Les autorités doivent, entre autres, pouvoir rapidement activer la mise en place d'un programme de suivi environnemental de façon à répondre aux inquiétudes, fondées ou pas, du public, des associations de protection de la nature et des professionnels. De plus, en période de post-crise, le pollué (ex : l'état, la collectivité, etc.) revendique dorénavant le droit de réclamer au pollueur la réparation du préjudice causé (conformément au cadre national - Grenelle de l'environnement, et au cadre communautaire relatif à la responsabilité du pollueur). Dès lors, il lui faut disposer d'un outil d'évaluation environnementale pouvant notamment servir de base pour l'évaluation économique du préjudice écologique subi. Dans ce contexte, la prédéfinition de la trame d'un programme d'évaluation et de suivi de l'impact écologique participe incontestablement à l'élaboration d'un tel outil, en diminuant les risques d'une mise en œuvre tardive des études, préjudiciable à la qualité des résultats.

Une telle action, de prédéfinition d'un programme d'évaluation des impacts, s'inscrit dans la suite logique d'études menées ou en cours au Cedre, dans l'exercice de ses programmations annuelles antérieures (analyse de suivis d'impact en milieu marin et littoral) ou de programmes de recherche soutenus par le ministère en charge de l'écologie (*Remred*)¹ ou par l'Agence Nationale de la Recherche (*Valdeco*)².

Le projet vise à élaborer un outil opérationnel à forte réflexion scientifique, sous la forme d'un document cadre validé par des experts scientifiques et destiné aux autorités en charge de la mise en place d'un programme d'évaluation et de suivi de l'impact écologique suite à un déversement accidentel significatif d'hydrocarbures.

I - Contexte

Zones de transition entre eaux douces et marines, les estuaires présentent une forte attractivité et des intérêts diversifiés, tant sur le plan socio-économique qu'environnemental. De fait, ils sont le siège d'activités économiques et d'usages multiples et divers constituant des sources potentielles de nuisances, voire de conflits, eu égard à leurs fonctionnalités écologiques diverses. En outre, ces secteurs qui incluent parfois des milieux d'intérêt patrimonial (environnemental ou culturel) sont aussi très sensibles sur le plan sociologique et les communautés qui s'en revendiquent (ex : riverains, associations, collectivités territoriales, etc.) se les « approprient » d'autant plus volontiers qu'il s'agit d'entités perçues comme mieux délimitées que des littoraux marins ouverts sur le large.

¹ « La REMédiation environnementale après une pollution majeure : que peut-on considérer comme Raisonnable, Equitable, et Durable ». Projet du programme « évaluation économique des dommages écologiques des marées noires », soutenu dans le cadre de LITEAU par le ministère de l'Ecologie et du Développement durable.

² « Valorisation économique des dommages écologiques causés à l'environnement marin. Application au cas des marées noires ». Projet soutenu par l'Agence Nationale de la recherche dans le cadre du Programme Ecotechnologies et Développement Durable (PRECODD).

Dans ce contexte, un évènement de pollution accidentelle est, à l'évidence, susceptible d'exacerber les diverses sensibilités et tensions associées aux enjeux coexistants, comme l'a par exemple rappelé le déversement de fioul lourd survenu dans l'estuaire de la Loire en mars 2008³.

En période de crise, lors d'un déversement accidentel, les autorités doivent, entre autres, pouvoir activer rapidement la mise en place d'un programme d'évaluation et de suivi environnemental, afin de répondre à la pression et aux inquiétudes variées (fondées ou pas) : du public, d'associations de protection de la nature, d'usagers, d'industriels, de professionnels (aquaculture, tourisme, par exemple), etc. Puis, en période de post-crise, le pollué (état, collectivité, etc.) revendique dorénavant le droit de réclamer au pollueur la réparation du préjudice causé (cadres national -Grenelle de l'environnement- et communautaire -directive européenne relative à la responsabilité du pollueur, intégrée dans le droit français *via* la Loi sur la responsabilité environnementale). Il lui faut alors disposer d'un outil d'évaluation environnementale pouvant servir de base à l'évaluation économique du préjudice écologique subi.

II - Problématique

II.1 - Problématique scientifique

Complexité du système estuarien

Les estuaires sont des systèmes de transition entre un écosystème marin en aval et un écosystème fluvial en amont. Schématiquement, ils s'inscrivent ainsi dans un continuum, depuis les eaux fluviales douces soumises à la marée dynamique vers des eaux marines légèrement dessalées (environ 32 ‰). Il s'agit par conséquent d'écosystèmes complexes, caractérisés dans leur ensemble par une diversité d'habitats et de communautés biologiques liée à cette situation d'interface entre processus marins et fluviaux.

Cette complexité n'est pas sans générer un certain nombre de difficultés en termes d'appréciation de l'intégrité ou de la dégradation des milieux estuariens et, partant, d'estimation de l'impact potentiel d'un évènement accidentel. Les peuplements d'un estuaire diffèrent le long des gradients environnementaux qui le caractérisent, d'amont en aval, et sont composés d'organismes adaptés et résistants aux variations de leur environnement (ex : salinité, température, turbidité, exondation...) : il faut donc s'attendre à ce que leurs éventuelles fluctuations (qualitatives ou quantitatives), en réponse à un stress donné, soient différentes selon que l'on étudie du benthos d'eau douce ou celui situé à l'embouchure d'un estuaire.

A titre d'illustration⁴, les communautés benthiques témoignent, de l'amont vers l'aval, d'une substitution progressive d'espèces dulçaquicoles par des espèces saumâtres puis marines, ainsi que d'une évolution concomitante des paramètres structurels associés (richesse spécifique, abondances notamment) qui, s'ils sont utilisés en tant qu'indicateurs de l'état de dégradation du milieu benthique (selon une approche répandue dans les eaux marines), peuvent amener à des interprétations différentes, voire opposées, selon que l'on s'adresse à des eaux d'estuaire externe (polyhalines⁵) ou interne (oligohalines en amont).

³ Cf. **Cedre, 2008**. Lettre Technique Mer-Littoral n° 21, pp. 3-8 (<http://www.cedre.fr/fr/publication/lettre-technique-mer-littoral/08mer1.pdf>)

⁴ Cf. rapport d'activité 2011 R.11.27.C pour plus de détails.

⁵ Salinités : eaux oligohalines < 5 ‰ ; eaux mésohalynes comprises entre 5 et 18 ‰ ; eaux polyhalines comprises entre 18 et 30 ‰.

A l'évidence, ce « paradoxe de la qualité des écosystèmes estuariens » (Dauvin, 2007)⁶, soulève également l'intérêt d'un questionnement, en termes de choix (ou de définition) de critères susceptibles de discriminer, au sein du benthos estuarien, les parts des caractéristiques et des fluctuations imputables (i) à un enrichissement naturel en matière organique ou (ii) à un déversement accidentel d'hydrocarbures, le tout dans un environnement naturellement extrêmement changeant. Concernant ce dernier point, on remarquera par ailleurs que, si la disponibilité d'une « ligne » de base pré-pollution peut, en principe, éclairer utilement l'évaluation d'un impact, son établissement nécessite l'acquisition de séries de données *ad hoc*, d'une part, parfois sur plusieurs années, d'autre part, pour parvenir à un résultat exploitable et intégrant une variabilité éventuellement forte.

L'influence anthropique

Enfin, on rappellera que, outre les forçages naturels, l'anthropisation des estuaires participe au façonnement de la faune et la flore qui s'y trouvent. En France, et ce depuis le milieu du XIX^e siècle, les écosystèmes estuariens connaissent ainsi une fragilisation traduite par le morcellement des unités biologiques, notamment par la réduction des zones intertidales en aval (cas notamment de la Seine et de la Loire alors que l'estuaire de la Gironde demeure relativement peu anthropisé et apparaît l'estuaire naturel le plus grand d'Europe occidentale).

Parallèlement aux aménagements, la qualité physico-chimique des milieux estuariens s'est inexorablement et significativement dégradée pendant plus d'un siècle, aboutissant parfois à d'importantes contaminations (cas notamment de la Seine, dont les rives sont fortement industrialisées). Cependant, en dépit de ces diverses atteintes à l'environnement, les estuaires constituent toujours un milieu écologiquement d'intérêt : ils sont indispensables aux juvéniles de nombreuses espèces de poissons (fonction de nourricerie), leur richesse ornithologique en constitue indéniablement l'un des atouts patrimoniaux majeurs, etc. En termes scientifiques, ce phénomène de pollution chronique n'est, *a priori*, pas sans incidences en matière d'évaluation des effets assignables à une perturbation accidentelle et de leur suivi, ceci d'autant plus dans des contextes éventuellement déjà fortement altérés et en l'absence éventuelle de séries de données de référence quant au niveau de dégradation préalable.

II.2 - Problématique opérationnelle

Dans le domaine particulier des pollutions accidentelles, l'absence d'un schéma préétabli de programme d'évaluation et de suivi des impacts environnementaux induits est un manque constaté de manière récurrente.

Ceci contraint, de fait, à un délai de lancement des études pouvant atteindre plusieurs mois (ex : plus de 7 mois dans le cas de l'accident survenu en mars 2008 à Donges dans l'estuaire de la Loire ; 1 an dans celui, pourtant majeur, de l'*Erika* en 1999), ce qui entraîne une perte d'information en retardant l'acquisition de données scientifiques d'intérêt, et pénalise finalement la caractérisation des impacts initiaux et de leur évolution (persistance ou restauration éventuelle, par exemple).

C'est donc également à la lumière de ce constat, de difficulté de mise en œuvre, que l'on comprendra l'intérêt de définir cet outil manquant, opérationnel, pour une meilleure estimation et compréhension des dommages.

⁶ **Dauvin, J.C., 2007.** Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. *Marine Pollution Bulletin*, **55**, 271-281.

III - Contenu

Les actions prévues pour la réalisation de ce projet sont déclinées en 7 tâches, rappelées en **annexe 1**.

Pour atteindre la définition d'un programme d'évaluation et de suivi réaliste, il apparaît constructif, voire nécessaire, de considérer les enseignements qui peuvent être tirés des accidents passés. Dans ce but, le *Cedre* s'est proposé de fonder sa démarche sur un travail d'analyse de la bibliographie disponible en la matière, et d'en effectuer une synthèse – approche originale dans la mesure où, si des similitudes peuvent exister entre les programmes de suivi mis en œuvre d'un cas à l'autre, peu d'enseignements globaux en matière de cibles, d'approches et de méthodes en sont réellement tirés à ce jour (tâche 1).

L'analyse bibliographique réalisée par le *Cedre* a permis la rédaction par celui-ci de documents de synthèse, proposant une vue d'ensemble quant aux pratiques adoptées suite à divers cas de pollutions accidentelles significatives (Cf. rapport **R.12.28.C**).

Ces documents relatifs à l'expérience passée ont vocation (i) à alimenter les réflexions en matière de recommandations quant aux études à mettre en œuvre, et (ii) à être confrontés aux travaux existants en matière d'évaluation de l'état écologique dans les estuaires français concernés (tâche 2) -notamment en recherchant les éventuelles complémentarités ou, le cas échéant, les voies d'optimisation (tâches 3 et 5, en cours).

Du recensement des réseaux existants sur les 3 estuaires (tâche 2, réalisée et détaillée dans le rapport d'activité 2010, Cf. **R.11.27.C**), il est apparu que les données scientifiques résidentes sont, pour les différents estuaires considérés, relativement nombreuses. En outre, les constats suivants ont pu être effectués :

- la plupart des composantes généralement ciblées lors d'estimation d'impacts d'une pollution majeure par hydrocarbures font l'objet d'un ou de plusieurs suivis en routine en estuaire (ex : benthos, ichtyofaune, avifaune) ;
- la diversité des finalités (ex : gestion de sites d'intérêt particulier ; études d'impacts, suivis dans des cadres réglementaires ; observations scientifiques à long terme ; etc.) n'est pas sans causer une hétérogénéité certaine, tant en termes de méthodes que d'approches des diverses composantes du milieu considéré (fréquence d'échantillonnage, caractère parfois ponctuel des données, etc.) ;
- en règle générale, d'un point de vue spatial, les données existantes ne couvrent pas l'intégralité des domaines estuariens de transition de l'amont (oligohalin) à l'aval (polyhalin). Plutôt, elles sont ciblées sur des secteurs bien circonscrits, sélectionnés selon les problématiques en jeu et clairement identifiés par les fournisseurs/détenteurs des données. Les justifications à cet état de fait sont multiples, découlant pour partie d'une contrainte naturelle, telle que la distribution spatiale des organismes visés (souvent préférentielle le long du gradient estuarien), ou encore de la focalisation des suivis sur un périmètre donné et ciblé en raison d'un intérêt particulier (ex : réserve, etc., faisant éventuellement l'objet d'actions d'évaluation ou de gestion) ;
- en ressort également une forte diversité en matière d'actualisation de l'information disponible : depuis les études ponctuelles aux suivis à proprement parler, les fréquences d'échantillonnage varient considérablement en fonction des problématiques et besoins auxquels ils répondent (et, probablement, de la logistique et des financements disponibles).

En complément de ces recensements des données existantes, une synthèse succincte (i) de leur pertinence⁷ dans un contexte accidentel (tâche 3), et (ii) des éventuelles voies d'optimisation possibles (tâche 5) est prévue lors de la finalisation prochaine du projet.

D'emblée, il avait été considéré comme incontournable d'identifier et d'intégrer à la démarche présente, (i) des acteurs ayant une connaissance pratique du terrain - gestionnaires institutionnels ou acteurs locaux estuariens- et (ii) des experts scientifiques pertinents et désireux de participer à une réflexion quant aux outils existants pour l'évaluation de la qualité écologique des milieux (cibles biologiques, méthodes) et à leurs amélioration et apport potentiels dans un contexte accidentel.

Dans le cadre de cette action, le *Cedre* a constitué un réseau de scientifiques issus d'organismes de recherche (laboratoires universitaires, Ifremer, etc.), ainsi que de représentants de structures chargées de la mise en place d'un programme de suivi en cas de pollution (DREAL) ou ayant une compétence estuarienne en tant que gestionnaire/pourvoyeur de données (Groupements d'intérêt public) ou conseiller scientifique (Conseil scientifique d'estuaire).

La liste des membres de ce réseau, constitué au tournant 2010-2011, est rappelée en **annexe 2** ; celui-ci réunit un panel d'experts suffisamment large pour prendre en compte les différentes composantes (faune, flore) de l'environnement estuarien et les diverses approches possibles, écologique ou biologique.

Le lancement et l'animation du réseau d'experts-référents a débuté en 2011, avec la tenue de réunions organisées par et avec le *Cedre*, suivies d'échanges en 2012 sur la base de documents de travail préparés par le *Cedre* dans le cadre de la tâche 4 et diffusés par courriels (Cf. rapport d'avancement **R.12.28.C**)

Le présent document constitue le troisième rapport d'avancement du projet, résumant les actions menées par le *Cedre* en 2012 dans le cadre du projet Impolest, qui ont notamment porté sur :

- l'établissement d'une « plateforme collaborative », hébergée sur un serveur Ifremer, outil d'accès réservé et conçu pour permettre une communication et un échange entre les partenaires du réseau sans avoir nécessairement recours à la tenue de réunions plénières régulières, incommodes d'un point de vue pratique ;
- l'enrichissement de l'analyse des évaluations d'impact mises en œuvre suite à des cas réels de pollutions accidentelles, notamment par l'intégration d'un retour d'expérience « estuarien » récent et significatif (intégration aux travaux déjà réalisés dans le cadre de la tâche 1). En l'occurrence, il s'est agi d'examiner les études consécutives de la pollution de l'estuaire de la Loire en mars 2008 ;
- la rédaction, sur la base de l'analyse bibliographique et des échanges avec le réseau d'experts-référents, d'un certain nombre de recommandations quant aux modalités de l'évaluation et du suivi de l'impact. Ces recommandations, soumises au regard critique des experts-référents, concernent à ce stade les composantes de l'environnement qui, au regard de l'expérience passée, apparaissent comme incontournables dans le cadre d'une évaluation d'impacts en estuaire.

⁷ (Composantes/organismes suivis ; valeur de référence éventuelle des données disponibles -au regard de la variabilité naturelle, de leur actualisation, etc. ; types d'approches permises par les paramètres mesurés/disponibles,...)

IV – Actions réalisées dans le cadre de la programmation 2012

IV.1 – Mise en place d'un site collaboratif *Projet IMPOLEST*

Lors des réunions organisées avec les partenaires scientifiques du réseau d'experts, et au-delà des discussions, comptes rendus et documents échangés suite aux présentations (Cf. rapport d'avancement **R.12.28.C**), une contrainte pratique avait été soulevée concernant la faisabilité d'organiser des réunions convenant à un quorum satisfaisant de membres du réseau d'experts. A cet égard, et sur la suggestion de ces derniers, le *Cedre* a souhaité mettre en place un site collaboratif, accessible par un navigateur *Internet*, qui puisse constituer une alternative opportune à la tenue de réunions fréquentes.

Dans l'optique de cette phase d'échanges du projet *Impolest*, l'outil identifié et retenu après évaluation et tests en 2012, est la plateforme collaborative *Alfresco Share*, développée et mise à disposition par *lfremer*.

Relativement intuitive et simple d'utilisation, et ne nécessitant pas d'installation de logiciel, cette plateforme permet de centraliser et de partager l'information en un seul endroit (*espace documentaire*), et de faciliter les échanges avec les membres du réseau d'experts, en offrant à ces derniers la possibilité :

- d'y consulter/télécharger des *documents d'information*, notamment les synthèses élaborées par le *Cedre* ; les partenaires peuvent aussi, le cas échéant y poster des documents (publications, rapports, etc.) pressentis par eux d'intérêt pour le projet ;
- de consulter, commenter, amender, ou enrichir des *documents de travail thématiques*, en l'occurrence les recommandations de suivis concernant les diverses composantes de l'environnement retenues (benthos, ichtyofaune, etc.) mises en ligne progressivement par le *Cedre*, et soumises à leur avis critique.

Courant 2012, le *Cedre* a alimenté l'*espace documentaire* de ce site collaboratif « *Projet Impolest* » en postant divers documents au fur et à mesure de leurs développements. Un système de courriels automatiques associé en alertait les membres du réseau, les invitant ainsi à en prendre connaissance ou à y apporter leurs contributions. Au gré des retours, ces dernières seront synthétisées, avant d'être intégrées par le *Cedre* au cours de la phase de finalisation du projet (prévue en fin de 1^{er} semestre 2013).

Rappelons également qu'une page *Internet* de type informatif a également été créée en 2012, hébergée sur le site du *Cedre* (<http://www.cedre.fr/project/impolest>), afin de présenter le projet, mais aussi destinée à accueillir les points marquants (ex : recommandations de suivis) qui émergeront du projet. Cette action s'inscrit dans le cadre de la tâche 7 (valorisation du projet).

IV.2 – Extension de l'analyse des cas concrets

L'analyse bibliographique réalisée par le *Cedre* avait permis la rédaction par celui-ci de documents de synthèse, proposant une vue d'ensemble quant aux pratiques adoptées suite à divers cas de pollutions accidentelles significatives.

S'ils ont d'ores et déjà permis d'étayer les réflexions en matière de recommandations pour l'évaluation et le suivi des impacts concernant les diverses composantes de l'environnement (Cf. rapport **R.12.28.C** et ci-après), les cas de pollutions significatives ayant fourni des enseignements exploitables sont essentiellement en lien avec les domaines littoraux.

A cet égard, une recherche complémentaire de retours d'expériences comparables en estuaires a confirmé le peu –voire le manque- de références bibliographiques relatives à de

véritables programmes d'évaluation d'impact de déversements accidentels d'hydrocarbures survenus en environnement estuarien, y compris dans les estuaires macro-tidaux du nord-est atlantique correspondant au type ici visé. Néanmoins, a été engagée en 2012 l'analyse d'études faisant partie du programme d'évaluation de l'impact environnemental lié à l'incident de la raffinerie de Donges (estuaire de la Loire, mars 2008), et relatives aux composantes environnementales prises en compte dans le projet Impolest.

Cette analyse a pour but, *via* l'intégration d'un cas estuarien en France, de vérifier l'existence, et le cas échéant de les intégrer, d'éléments méthodologiques particuliers qui n'auraient éventuellement pas déjà émergé de l'analyse de l'expérience de suivis en milieu littoral.

Les informations recherchées et synthétisées (Cf. **annexe 3**) pour les besoins du présent projet portent, (comme pour les cas déjà analysés de pollutions littorales) sur :

- la motivation de la sélection et du suivi de la composante ;
- le type d'approche retenue (écologique, biologique, etc.), de paramètres mesurés, et la démarche générale (comparaison entre données *post*- et *ante*-pollution, comparaisons spatiales, etc.) ;
- les grands traits méthodologiques mis en œuvre (stratégie d'échantillonnage, protocoles, ...) ;
- la nature des difficultés éventuellement rencontrées au bilan (interprétation des données, fluctuations naturelles, etc.)

Ce travail est en cours de réalisation ; les annexes 3.1 à 3.3 synthétisent les éléments les plus particulièrement considérés dans l'analyse réalisée à ce jour, concernant les suivis du macrozoobenthos (de substrats meubles comme de substrats durs) et de l'ichtyofaune.

IV.3 – Recommandations de suivis

De l'analyse et de la synthèse des études nombreuses et variées constituant l'expérience passée en matière d'évaluation de l'impact environnemental, avaient déjà pu être identifiées des indications intéressantes en matière de priorités pour la définition du contenu d'un programme de suivi (Cf. rapport **R.12.28.C**). Ces indications, fondées notamment sur les grandes caractéristiques des diverses composantes (exposition aux hydrocarbures, sensibilité connue au polluant, identification de cibles à potentiel indicateur, etc.), ont été reprises et développées plus avant en 2012, *via* la rédaction de recommandations de suivis concernant les diverses composantes de l'environnement.

Ces recommandations ont été postées sur le site collaboratif projet IMPOLEST, et ainsi soumises, en tant que documents thématiques de travail, au commentaire critique des membres du réseau scientifique. Selon les retours de ces derniers, le cas échéant, les suggestions de modifications ou d'ajouts sont considérées, discutées, et éventuellement incluses dans les recommandations.

En raison des résultats produits par l'analyse bibliographique, priorité a été donnée à la rédaction des recommandations pour le suivi des compartiments qui sont apparus comme ciblés systématiquement (ou presque) après des cas réels de pollutions majeures, et par conséquent indispensables dans un programme de suivi à minima des conséquences d'une pollution significative par hydrocarbures en estuaire. En l'occurrence, il s'est agit en 2012 des approches et paramètres relatifs à l'évaluation :

- de l'endofaune benthique de substrats meubles ;
- de l'épifaune benthique intertidale de substrats durs ;
- de la composante « poissons » (bentho-démersaux et pélagiques).

L'**annexe 4** (4.1 et 4.2) présente les recommandations correspondant aux compartiments précités, et ce telles qu'elles existent en début 2013 –à noter qu'elles sont susceptibles d'évoluer si des ajustements en étaient suggérés par les membres du réseau, à qui la possibilité d'en discuter reste en principe ouverte.

A noter que les recommandations relatives à l'évaluation des impacts sur les autres composantes biologiques pressenties comme d'importance en cas de déversement accidentel d'hydrocarbures en estuaire –s'agissant notamment de l'avifaune et de la flore littorale, sont en cours de rédaction en 2013 et viendront, lors de la finalisation prochaine du projet, compléter celles déjà rédigées.

V – Conclusions

Les actions réalisées en 2012 ont consisté, d'une part, à mettre en œuvre un outil collaboratif en ligne, qui a permis au *Cedre* de poursuivre la mise à disposition de documents d'information et de travail thématique au fur et à mesure de leur rédaction, pour consultation et contributions éventuelles par les membres du réseau d'experts scientifiques référents. Par là-même, les échanges et avis entre les partenaires scientifiques et le *Cedre* ont eu la possibilité d'être maintenus, sans nécessairement avoir recours à la tenue de réunions plénières, dont il était apparu qu'elles s'avéraient, en pratique, problématiques à organiser en raison de contraintes de disponibilité.

Après l'identification, en 2011, des considérations à prendre en compte en matière de sélection et de priorisation des suivis à mettre en œuvre pour les composantes environnementales, ces dernières ont fait en 2012 l'objet de recommandations détaillées concernant les options méthodologiques envisageables :

- celles-ci, rédigées par le *Cedre* concernant, à ce jour, les composantes benthiques et l'ichtyofaune. Via le site collaboratif du *projet IMPOLEST*, elles ont été soumises progressivement, à partir de l'été 2012, au commentaire critique des scientifiques du réseau ayant une expertise dans les approches qui y sont proposées (écologues, écotoxicologues). Le contenu de ces recommandations sera validé très prochainement -avec l'échéance de la période de consultation (fin 1^{er} trimestre 2013) ;
- la rédaction de documents analogues, portant sur le suivi de l'avifaune et de la flore notamment, est en cours -avant leur mise en ligne selon les mêmes modalités pour discussion éventuelle par les experts, et validation au terme de quelques semaines ouvertes à leur consultation.

VI – Perspectives / actions à venir

Les prochaines actions du projet IMPOLEST, s'inscrivant dans sa finalisation, porteront sur :

- l'intégration d'autres enseignements supplémentaires, et pertinents dans le contexte du présent projet, à extraire des études d'impact de la pollution de l'estuaire de la Loire (avifaune et flore en particulier) (finalisation tâche 1) ;
- la mise à disposition pour commentaires, à l'attention des membres du réseau d'experts scientifiques, des recommandations restant à rédiger concernant les composantes « avifaune » et « flore » (finalisation tâche 4).

Le projet étant prévu pour être finalisé courant 2013, les actions qui seront menées porteront par ailleurs sur :

- la finalisation des tâches 3 et 5, étroitement liées ;
- la rédaction des préconisations relatives à la tâche 6 (opérationnalité de l'outil), et la réalisation, au final, de la tâche 7 (valorisation -principalement avec la préparation d'un document de synthèse globale, et d'un séminaire de restitution de fin de projet).

VIII – Annexes

Annexe 1. Liste des tâches incluses dans la réalisation du projet *Impolest*.

Annexe 2. Liste des référents/experts membres du réseau constitué dans le cadre du projet *Impolest*.

Actions 2012 : Extension de l'analyse des cas concrets

Annexe 3.1. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - **benthos des vasières intertidales.**

Annexe 3.2. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - **benthos des substrats durs intertidaux.**

Annexe 3.3. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - **Ressources piscicoles / indicateurs poissons.**

Actions 2012 : Recommandations de suivis

Annexe 4.1. Recommandations pour l'évaluation et le suivi des impacts sur le benthos estuarien.

Annexe 4.2. Recommandations pour l'évaluation et le suivi des impacts sur l'ichtyofaune.

Annexe 1. Liste des tâches incluses dans la réalisation du projet *Impolest*.

Les tâches comprises dans la réalisation du projet IMPOLEST se déclinent comme suit :

- Tâche 1 : L'expérience
 - Analyse des programmes mis en place en France et à l'étranger pour évaluer et suivre l'impact écologique de déversements accidentels en milieux estuariens (de type Manche Atlantique et assimilables) ;
 - Retour d'expériences : inventaire des suivis (type de polluant, cibles, protocoles, ...) et des manques éventuels ressentis et exprimés ;
 - Première ébauche d'un suivi-type synthétique: à partir de l'identification des similitudes de suivi, de l'évaluation de la transposition, ...
- Tâche 2 : L'existant
 - Analyse des dispositifs locaux existant en matière de suivi environnemental (hors pollutions accidentelles) :
 - Inventaires par estuaire (Seine, Loire, Gironde) des dispositifs de suivi existants et prévus (études, suivis, séries de données à long terme, états de références, observatoires) : contexte/cadre de mise en place ; objectifs ; responsabilité et opérateurs ; procédures de fonctionnement, de gestion ; cibles ; protocoles, périodicité, instrumentation ;
- Tâche 3 : La pertinence de l'existant
 - Appréciation de l'intérêt opérationnel ('antipollution') des dispositifs locaux existants :
 - Analyse des inventaires T2 au regard de leur pertinence pour « l'accidentel » (identification des pertinences et des manques par estuaire) ;
 - Etat / bilan comparatif inter-estuariens (dont faisabilité de transposition des atouts locaux éventuels aux autres estuaires) ;
 - Identification des spécificités/sensibilités écologiques locales à prendre en compte en cas de pollutions accidentelles.
- Tâche 4 : L'outil à bâtir
 - Définition d'un programme pré-établi d'évaluation et de suivi en milieu estuarien :
 - Définition d'un cadre minimum applicable aux estuaires Manche Atlantique en général : enrichissement de l'ébauche établie par intégration des points clefs relevés en T2 et T3 -cibles, durées, ... ;
 - Intégration des spécificités/sensibilités écologiques locales à prendre en compte en cas de pollutions accidentelles ;
 - Evaluation des moyens / logistique nécessaires : ébauche (i) d'inventaire des contraintes et incidences organisationnelles, administratives et financières (ii) de propositions.
- Tâche 5 : L'amélioration de l'existant
 - Recommandations complémentaires relatives aux états de références :
 - Complémentarité à rechercher avec l'existant dans chaque estuaire: pistes de valorisation / optimisation des dispositifs existants (états de référence et observatoires) : densification, introduction de nouveaux paramètres/critères, indices, etc. ;
 - Recommandations au niveau des trois estuaires (transposition croisée, ...)
 - Déclinaison opérationnelle au niveau de l'estuaire de la Loire.
- Tâche 6 : L'opérationnalité de l'outil
 - Recommandations pour la mobilisation de l'expertise environnementale en temps de crise :

- Etablissement d'une liste d'experts (organismes / individus) pour chaque estuaire : par domaine de compétences, statuts, urgence de mobilisation ;
- Recommandations en matière de mobilisation : intégration en gestion de crise ou suivi environnemental ; modalités de mise à disposition ;
- Evaluation des moyens / logistique nécessaires : ébauche (i) d'inventaire des contraintes et incidences organisationnelles, administratives et financières (ii) de propositions.
- Tâche 7 : la valorisation
 - Destination première de l'outil et sa transposition envisageable (valeur de modèle -ou au moins de démarche- transposable à des estuaires tempérés autres que français, éventuellement à des estuaires méditerranéens ou à des types de côtes autres que l'estuaire) ;
 - Destination première : plans d'urgence. Rédaction des recommandations sous forme d'un guide opérationnel à destination des responsables des dispositifs de lutte contre les pollutions accidentelles en vue de son intégration dans le volet Polmar des plans ORSEC (Etat : Préfecture, MEDDE/DREAL) et les plans d'urgence communaux (collectivités locales) et d'installations industrielles ;
 - Dissémination envisagée : Restitution d'une partie des résultats par l'organisation d'un séminaire.

Annexe 2. Liste des référents/experts membres du réseau constitué dans le cadre du projet Impolest ⁸ .
--

Représentants des partenaires associés au projet

M. Bernard Prud'Homme, Directeur du GIP Loire Estuaire, Nantes ; Membre du Conseil scientifique de l'Estuaire de la Loire.

M. Jean-Luc Girard, Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (*DREAL*) des Pays de la Loire (Nantes).

Mme Nadia Djemel, Ingénieur Raffinage Marketing/Hygiène Sécurité Environnement, S.A. TOTAL.

- Ecologie benthique

M. Nicolas Desroy, CRESCO – IFREMER, Laboratoires Environnement Littoral & Ressources Aquacoles Finistère - Bretagne Nord, Station de Dinard.

M. Jacques Grall, Observatoire du Domaine Côtier, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale (Brest-Plouzané) ; Membre du Conseil scientifique de l'Estuaire de la Loire.

M. Guy Bachelet, Station Marine d'Arcachon, UMR 5805 EPOC CNRS - Université Bordeaux 1 (Arcachon).

M. Jean-Paul Ducrotoy, Reading Professor Emeritus HDR, Institute of Estuarine and Coastal Studies, The University of Hull (Royaume-Uni) ; Membre du Comité scientifique du GIP Seine Aval.

M. Laurent Guérin, Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), CRESCO – IFREMER, Chargé de mission DCSMM / Définition du Bon état écologique pour les descripteurs 1 et 2.

- Ichtyofaune

M. Mario Lepage, Unité Ecosystèmes Estuariens et Poissons Migrateurs Amphihalins, Cemagref Groupement de Bordeaux (Bordeaux).

- Eco toxicologie des organismes aquatiques

Mme. Hélène Budzinski et **Mme Marie Hélène Devier**, Institut des Sciences Moléculaires (ISM) - UMR 5255 CNRS, Laboratoire de Physico- et Toxicologie Chimie de l'environnement (LPTC), Université Bordeaux 1 (Bordeaux).

Mme. Françoise Quiniou, Ex-Direction de l'Environnement Littoral, Ifremer Brest.

M. Gilles Bocquené, Cellule d'Analyse des Risques Chimiques (ARC) en milieu marin, Ifremer Nantes.

M. Jean-Claude Amiard, Université de Nantes, MMS (Mer, Molécules, Santé), EA2160 Service d'Eco toxicologie (Nantes).

⁸ N.B. : liste susceptible d'évoluer, dans l'éventualité d'une nécessité d'intégrer des réflexions sur des questions particulières qui, le cas échéant, émergeraient au cours du projet.

M. Jérôme Cachot, Institut des Sciences Moléculaires (ISM) - UMR 5255 CNRS, Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC), Université Bordeaux 1 (Bordeaux)

- Flore

M. Claude Figureau, Jardin botanique (Jardin des plantes) de Nantes.

M. Frédéric Bioret, Université de Bretagne Occidentale, Institut de Géoarchitecture (Brest) ; Membre du Conseil scientifique de l'Estuaire de la Loire.

- Avifaune

M. Guillaume Gélinaud, Réserve Naturelle des Marais de Séné, Bretagne Vivante/SEPNB (Séné).

M. Pierre Yésou, Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (Nantes) ; Membre du Conseil scientifique de l'Estuaire de la Loire.

Annexe 3.1. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - **benthos des vasières intertidales**

Suite à l'accident de Donges dans l'estuaire de la Loire en mars 2008, une étude de la **composition des peuplements d'invertébrés macrobenthiques des vasières intertidales** a été réalisée dans les domaines **polyhalin** et **mésohalin**, domaines affectés par la pollution.

☑ La **sélection de la cible**, et son inscription dans le cahier des charges relatif au programme de suivi de l'impact environnemental, a été **motivée** par :

- La disponibilité de données antérieures à l'accident ;
- Le rôle fonctionnel du benthos des vasières au sein du réseau trophique estuarien ;
- Le statut potentiellement indicateur de la dégradation du milieu des descripteurs de la structure et de la composition du peuplement.

☑ L'approche retenue est une **approche écologique** au niveau des **communautés**, incluant le suivi en parallèle :

- des **descripteurs statistiques des peuplements benthiques** (richesse spécifique S, abondances A, biomasses B) ;
- des **paramètres sédimentaires associés** : **édaphisme** (granulométrie ; teneurs en MO) et **contamination** (16 HAPs, et traceurs considérés comme associés au polluant déversé –en l'espèce Vanadium et Nickel).

☑ Le **principe d'identification de l'impact** reposait sur :

- l'investigation de changements significatifs en termes de structure des peuplements, sur la base d'une **analyse temporelle**, c'est-à-dire d'une comparaison entre les résultats obtenus en 2008 -consécutivement à l'accident- et des **données antérieures** plus ou moins récentes (1983, 1994 et 2003) ;
- l'examen de **relations éventuelles entre les paramètres structuraux des peuplements et la contamination** des sédiments.

☑ En complément, ont été calculés et analysés, à partir des paramètres de base mesurés (Cf. plus haut), des **indices d'évaluation de la qualité du benthos en milieu côtier** :

- Indice de diversité de Shannon-Wiener⁹ ;
- Indice trophique¹⁰.

⁹ Indice prenant en compte (i) le nombre d'espèces et (ii) le nombre d'individus au sein de chacune des espèces. De par son mode de calcul, la valeur obtenue est dépendante de la taille de l'échantillon (nombre d'espèces et d'individus), elle-même liée au type d'habitat. Ainsi, en estuaire (et notamment vers les zones aval méso- et surtout oligohalines), cet indice est typiquement faible même dans un environnement non perturbé et ne traduit ainsi pas nécessairement la qualité de l'environnement benthique.

En termes de **stratégie d'échantillonnage**, on en retiendra :

- le suivi d'un nombre élevé (23) de stations intertidales, sans toutefois de stations « témoin » (*i.e.* non affectées par le déversement) ;
- distribuées entre le Pont de Saint Nazaire (poly halin) et Cordemais (mésos halin)
- un échantillonnage :
 - o initié relativement rapidement après le déversement, de fréquence approximativement trimestrielle (*i.e.* saisonnière)
 - Mars/avril 2008 (t_0)
 - Juillet 2008 ($t_{+3 \text{ mois}}$)
 - Octobre 2008 ($t_{+6 \text{ mois}}$)
 - o à raison de :
 - 3 à 5 prélèvements faune par station ;
 - 1 prélèvement pour l'analyse sédimentaire (granulométrie et teneurs en matière organique)¹¹ ;
 - 1 prélèvement en début de période d'échantillonnage (t_0) pour caractérisation de la contamination (dosage 16 HAPs + Nickel et vanadium) ;

En termes de **protocoles d'échantillonnage**, on en retiendra la conformité avec les **pratiques courantes et communément acceptées** en matière d'études macrobenthiques¹², notamment via :

- Un prélèvement réalisé :
 - o à pied en haut d'estran, au moyen d'un carottier à main (surface unitaire de 0.05 m²) ;
 - o en bateau dans les bas niveaux de l'estran, au moyen d'une benne Smith McIntyre (surface unitaire de 0.1 m²), nécessitant la mise en œuvre d'une embarcation équipée d'un bras hydraulique de levage ;
- un traitement des échantillons selon des procédures acceptées et répandues :
 - o échantillons tamisés sur maille de 1 mm ;
 - o fixation du refus au formol à 4% ;

¹⁰ Indice reposant sur le classement des espèces en 4 groupes trophiques distincts. A l'image d'indices bâtis sur des regroupements d'espèces en classes de polluo-sensibilités différentes, il est souvent critiqué du fait du biais subjectif intrinsèque à son calcul, en lien avec : (i) une incertitude quant au(x) régime(s) alimentaire(s) de nombre d'espèces (parfois même inconnus, et/ou l'objet d'extrapolations ne recueillant pas le consensus de la communauté scientifique) ; (ii) une pluralité des régimes alimentaires pour certaines espèces (dont le classement dans un groupe trophique est inadéquat).

¹¹ Selon des procédures standards en laboratoire et décrites dans la littérature –Cf. par exemple note de bas de page précédente.

¹² Exemple : cadres DCE (Directive Cadre Eau) et ReBent (Réseau Benthique), notamment.

- tri et détermination au niveau de l'espèce (S), comptage des individus (A) et biomasses (B).

Retour d'expérience/enseignements :

L'approche retenue s'est avérée pertinente, en cela qu'elle a permis d'identifier, à court et moyen terme, une certaine stabilité dans le temps de la structure et de la composition des peuplements (présence et abondance des espèces caractéristiques), par rapport aux données antérieures disponibles, malgré quelques fluctuations observées probablement imputables (i) à la variabilité naturelle de cette composante de l'environnement (distribution agrégative de certaines espèces, fluctuations pluriannuelles), ainsi que (ii) à des différences méthodologiques (méthodes de prélèvement) entre les suivis postérieurs et antérieurs à l'accident (1981 et 1994, notamment).

L'examen parallèle de la contamination des sédiments (HAPs, nickel et vanadium) a permis d'en établir raisonnablement l'absence de lien avec les divers descripteurs de la structure des peuplements.

Les indices calculés (de diversité et indice trophique) n'ont pas témoigné de liens particulier avec les niveaux de pollution des sédiments, mais plutôt avec le gradient de salinité (indice de Shannon tendant à décroître de l'aval vers l'amont, comme on pouvait s'y attendre), ou ont présenté des fluctuations sans tendance particulière, d'ampleur somme toute assez limitée et, quoiqu'il en soit, difficilement interprétables (et, *a fortiori*, assignables à la pollution) (indice trophique). Sur la base de cette étude, il est difficile de conclure à la pertinence de l'application de ces indices en tant qu'indicateurs d'une pollution accidentelle en milieu estuarien.

Les limitations ressenties au sortir de cette étude ont essentiellement porté sur la qualité et la quantité de **données de référence comparables**¹³, à la fois temporelles (biais méthodologiques, ancienneté de certaines données pré-accident) et spatiales (manque de stations de référence non affectées par le déversement –non identifiées ou non retenues dans ce contexte).

En conclusion, la démarche s'est montrée pertinente, par ailleurs effectuée selon des protocoles reconnus en matière d'écologie benthique. Par conséquent **recommandable**, elle bénéficierait assurément de la disponibilité de **données de référence**, soulignant, à défaut, l'intérêt de :

- (i) la mise en relation des données faunistiques avec les données environnementales (éléments explicatifs quant aux paramètres –environnement ou contamination- probablement à l'origine de la variabilité observées) ;
- (ii) la sélection, si possible, de stations de référence comparables (édaphisme, hypsométrie, domaine estuarien) pour pallier aux lacunes éventuelles en termes de données pré-accident.

Impact « secondaire » sur le benthos des vasières intertidales

¹³ remarque : données parfois anciennes (1981), ou issues de prélèvements obtenus avec des engins différents (drague Charcot-Picard en 1981 et 1994). A souligner : intérêt de données récentes (2003) et obtenues selon les mêmes modalités d'échantillonnage qu'en 2008.

En complément de l'étude mentionnée ci avant, un suivi de descripteurs de l'état physiologique des individus de 2 populations d'espèces macrobenthiques considérées comme représentatives des estrans meubles estuariens (Bivalve *Scrobicularia plana* et Polychète *Hediste diversicolor*) a été réalisée.

Sans entrer dans le détail de la stratégie générale de l'étude, il faut remarquer que les paramètres mesurés, des indices de condition physiologique -descripteurs synthétiques de l'amaigrissement/engraissement des individus- sont très dépendants des conditions environnementales naturelles (température, salinité, position hypsométrique, turbidité, nature de la matière en suspension, eutrophisation, etc.) **multiples**, extrêmement **fluctuantes** (particulièrement contraignantes en estuaires), mais aussi des rythmes biologiques endogènes (cycles reproducteurs notamment, jouant un rôle important dans la phénologie de l'allocation d'énergie, laquelle fluctue au gré des saisons mais aussi inter annuellement, toujours en lien étroit avec la variabilité environnementale -climat notamment).

A ce titre, de tels indices physiologiques sont *a priori* éminemment fluctuants naturellement et, **à moins de disposer de données de référence solides** (temporelles ou spatiales) décrivant l'ampleur de la variabilité naturelle (sites contrôles rigoureusement analogues, ou séries pré-pollution), il apparaît illusoire d'en discriminer la part de fluctuations imputables à tel ou tel facteur.

Dans ce dernier contexte, leur pertinence en tant qu'indicateurs de l'effet d'une pollution accidentelle est, intuitivement, médiocre ; les résultats du suivi post-Donges semblent conforter cette intuition, tant l'interprétation de leurs fluctuations est délicate (difficilement assignables à un effet contamination/site).

Un autre problème illustré par ce cas d'étude repose dans les délais en outre importants requis pour l'obtention de telles données.

En conclusion, sauf disponibilité de séries de données de référence très étayées et pertinentes (récentes, localisation, comparabilité, etc.), cette approche (descripteurs synthétiques de l'état physiologique) semble peu prometteuse, et *a priori* pas prioritaire en matière de recommandations.

Annexe 3.2. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - benthos des substrats durs intertidaux

Suite à l'accident de Donges dans l'estuaire de la Loire en mars 2008, une étude de la **diversité fixée sur les substrats durs intertidaux** a été réalisée dans les domaines **polyhalin** et **mésohalin**, domaines affectés par la pollution.

La **sélection de la cible**, et son inscription dans le cahier des charges relatif au programme de suivi de l'impact environnemental, a été **motivée** par :

- La présence de structures artificielles (digues, enrochements, ...) sur la rive sud de l'estuaire, abritant une épifaune benthique fixée potentiellement diversifiée.

L'approche retenue est une **approche écologique** au niveau des **communautés**, incluant le suivi :

- De paramètres semi-quantitatifs (taux de recouvrement des espèces 'coloniales' : algues, crustacés cirripèdes) ou qualitatifs (présence/absence des espèces vagiles) associés aux peuplements benthiques ;

Le **principe d'identification de l'impact** reposait sur :

- l'investigation de changements significatifs survenus au niveau des paramètres évalués sur la base d'une **analyse temporelle**, c'est-à-dire d'une comparaison entre les résultats obtenus en hiver 2008 (t_{+9} mois), juin 2009 (t_{+15} mois) et juin 2011 (t_{+27} mois), et des **données antérieures** (2005, saison différente –octobre, sites non détaillés)

En termes de **stratégie d'échantillonnage**, on en retiendra :

- le suivi de 3 stations intertidales, distribuées entre les domaines poly halin et méso halin ;
- un échantillonnage :
 - o initié relativement tardivement après le déversement (9 mois), de fréquence faible (semestrielle à annuelle)
 - décembre 2008 ;
 - juin 2009 ;
 - juin 2011 ;
 - o à raison de :
 - 3 niveaux bathymétriques (prévus) par station
 - 5 prélèvements par niveau bathymétrique (quadrats de 50x50 cm) ;

En termes de **protocoles d'échantillonnage**, on en retiendra la conformité, globalement, avec les **pratiques courantes** en matière d'études macrobenthiques en milieu rocheux, notamment via :

- Un prélèvement réalisé :

- Sur le principe d'un transect tenant compte de la position hypsométrique ;
- Par le biais d'échantillonnages semi-qualitatifs (estimations des taux de couverture et des abondances) au sein de plusieurs quadrats/réplicats ;
- Le cas échéant, traitement des prélèvements (faune vagile de petite taille) selon des procédures acceptées et répandues :
 - fixation du refus au formol à 4%, etc.
 - tri puis détermination au niveau de l'espèce et comptage des individus.

☑ Retour d'expérience/enseignements :

En résumé, ce cas d'étude est venu illustrer la difficulté communément rencontrée en matière de suivi des communautés de l'épifaune des milieux intertidaux rocheux, à savoir une difficulté d'interprétation des résultats obtenus, en lien avec :

- la très forte variabilité spatiale et temporelle, reconnue, au sein de ces habitats (d'autant que leur complexité structurelle/dimensionnelle augmente) ;
- le manque de méthodes quantitatives fiables et communément acceptées (en particulier pour l'estimation des espèces vagiles et/ou de petite taille) ;
- le manque de paramètres établis en tant qu'indicateurs d'une dégradation des milieux.

Ces difficultés -inhérentes aux caractéristiques du compartiment étudié et par conséquent attendues- sont, ici, en principe aggravées en l'absence (i) de données 'de référence' (contrôle ou séries pré-pollution) analogues et comparables, (ii) de mise en relation entre le niveau de pollution des stations et les caractéristiques des peuplements/communautés, (iii) de fréquence d'échantillonnage suffisamment élevée (apte à décrire un effet à l'échelle des processus biologiques/cycles de vie étudiés) ou cohérentes (échantillonnages 2008 et 2009 à des saisons différentes).

Annexe 3.3. Analyse synthétique des suivis consécutifs d'un cas récent de pollution estuarienne accidentelle en France : le cas de l'estuaire de la Loire (mars 2008) - **Ressources piscicoles / indicateurs poissons**

☑ Suite à l'accident de Donges dans l'estuaire de la Loire en mars 2008, deux études ont porté sur les ressources **benthodémersales** dans les domaines polyhalin et mésohalin affectés par la pollution :

- la première, uniquement bibliographique, a consisté en l'analyse globale de la fonction de nourricerie via l'étude des inventaires piscicoles dans les domaines polyhalin et mésohalin affectés par la pollution (de manière antérieure et postérieure à la pollution) ;
- la seconde a porté sur les effets biologiques des hydrocarbures chez une espèce benthique sentinelle (juvéniles de sole commune) dans le domaine polyhalin (aval).

☑ La sélection de la cible et son inscription dans le cahier des charges relatif au programme de suivi ont été motivées par :

- la **sensibilité** des populations benthodémersales aux contaminations par hydrocarbures, largement connue ;
- le statut des **juvéniles** de poissons, qui constituent des stades de développement biologique plus sensibles que les adultes aux variations des conditions du milieu ;
- la disponibilité de données antérieures à l'accident ;
- N.B. : pour l'étude bibliographique, la motivation essentielle résulte du **rôle fonctionnel de l'estuaire**, essentiel en tant que nourricerie pour les juvéniles de poissons (i.e. : importance au sein du réseau trophique estuarien).

☑ L'approche retenue se décompose en deux types :

- D'une part une approche **écologique** (bibliographique néanmoins) au niveau des communautés, incluant le suivi en parallèle :
 - des descripteurs statistiques des peuplements ichthyologiques (richesse spécifique S, indice de fréquence d'occurrence, effectifs et biomasse, capture par unité d'effort CPUE, analyse de structure de taille) ;
 - des paramètres abiotiques associés : salinité, température, turbidité, O₂ dissous.
- D'autre part une approche **biologique (écotoxicologie)** appliquée au modèle de la sole commune (*Solea solea*), incluant :
 - le suivi de 4 biomarqueurs (dosage des métabolites biliaires des HAP, mesure de l'activité enzymatique EROD, mesure de l'effet génotoxique dans le sang (test comètes) et dans le foie (base oxydée 8oxodGuo) ;
 - le suivi de paramètres abiotiques associés (T° et salinité) afin de mesurer les effets biologiques précoces des hydrocarbures ainsi que la restauration de l'état physiologique des soles ;
 - en complément a été calculé l'indice biomarqueur intégré (IBR) calculé à partir des 4 biomarqueurs précédents

Le principe d'identification de l'impact reposait sur :

- l'investigation, pour l'étude écologique, de changements significatifs en termes de structure des peuplements, sur la base d'une **analyse temporelle**, c'est-à-dire d'une comparaison entre les résultats obtenus en 2009 -postérieurement à l'accident- et des **données antérieures** (1994, 2003 et 2006) ;
- l'investigation, pour l'étude éco toxicologique, d'un impact précoce puis d'une restauration de l'état physiologique, sur la base d'une comparaison **spatio-temporelle** de stations « témoins » et de stations « contaminées » selon un gradient amont-aval.

En termes de **stratégie d'échantillonnage**, on en retiendra :

- Pour l'approche écologique :
 - o Le suivi d'un nombre élevé de stations (>10 et jusqu'à 26 stations) ;
 - o la répartition temporelle des campagnes (printemps, été et automne), avec pour certaines campagnes des prélèvements mensuels ;
 - o la distribution des campagnes entre les domaines polyhalin et/ou mésohalin.
- Pour l'approche écotoxicologique :
 - o le suivi d'une station considérée «témoin » et de stations « contaminées » ;
 - o le premier point de prélèvement réalisé 12 jours seulement après la pollution (tardif pour certains marqueurs étudiés cependant : EROD) ;
 - o le rythme d'échantillonnage :
 - élevé dans les premiers stades post-pollution, à raison d'un prélèvement hebdomadaire et ce durant 6 semaines ;
 - une fréquence moins élevée à partir du 2^{ème} mois, à raison d'un prélèvement trimestriel (fréquence saisonnière) ;
 - o la mesure, en parallèle, de la salinité et de la température lors des échantillonnages.

En termes de **protocoles d'échantillonnage**, on en retiendra :

- pour l'étude écologique, la sélection de données réalisées en conformité avec les **pratiques courantes et communément acceptées** en matière d'études ichthyologiques (protocole d'échantillonnage répondant à la norme XP T90-701, mise en place et validée par l'Irstea), notamment selon :
 - o un chalutage réalisé au moyen du CP3M (chalut à perche 3 mètres) à contre-courant, à une vitesse entre 1,5 et 2 nœuds (vitesse absolue par rapport au fond) durant 15/20 minutes lors de coefficients de marée inférieurs à 90 et à différentes profondeurs ;
 - o une identification des spécimens jusqu'à l'espèce ;
- pour l'étude éco-toxicologique des réponses des biomarqueurs :
 - o un protocole d'échantillonnage **légèrement différent** de celui validé par l'Irstea (trait de chalut de 30 min à 2.5 nœuds), mais en accord avec les recommandations générales d'OSPAR ;
 - o un nombre d'individus prélevés **conforme** aux recommandations d'OSPAR (12 individus recommandés contre 15 prélevés).

☑ Traitement des échantillons :

- Pour l'étude écologique :
 - **un traitement approprié** doublé du souci de comparaison de données standardisées : sélection des données comparables sur un jeu de données hétérogène.
- Pour l'étude écotoxicologique :
 - un traitement des individus à bord du bateau **conforme aux recommandations d'OSPAR** ;
 - un choix de 3 biomarqueurs **recommandés par OSPAR**, sur les 4 sélectionnés, dont le protocole est en conformité avec les **pratiques courantes et communément acceptées** (voire même normalisé par l'AFNOR pour l'EROD).

Retour d'expérience :

L'approche retenue s'est avérée pertinente, en cela qu'elle a permis d'identifier, via l'étude éco-toxicologique, **un certain impact à court terme** (toxicité aiguë) suivi d'un retour progressif à l'homéostasie à long terme chez les soles. L'interprétation des biomarqueurs a été facilitée par l'emploi de l'IBR qui permet de confirmer une période de stress d'une vingtaine de jours.

D'autre part, l'approche écologique a permis de souligner **une absence de changement de la structure de l'assemblage piscicole** de l'estuaire de la Loire **en 2009** (soit une absence d'impact un an après l'accident), par rapport aux données antérieures, ainsi qu'un maintien de la fonction de nourricerie en 2009 pour certaines espèces caractéristiques du milieu estuarien, laissant supposer une absence de conséquence défavorable et persistante au niveau des populations.

Cependant, certaines limitations au sortir de ces études ont été ressenties :

- Pour l'approche écologique, outre la possibilité d'un sous-échantillonnage de certaines espèces inhérent à l'outil, le manque de disponibilité de données de la campagne de chalutage de 2008 s'est révélé être un point problématique, rendant ainsi la comparaison directe (post-accident) difficile. Les différences éventuelles entre ces 2 années ne peuvent donc être caractérisées suite à cette lacune, laquelle atténue la portée de l'étude sans pour autant remettre en cause la pertinence de ce type d'approche dans un programme d'évaluation de l'impact ;
- Pour l'approche écotoxicologique, la limitation principale a porté sur **l'indisponibilité de données de référence**. Malgré la présence d'une station dite « témoin », il en ressort que les variations des biomarqueurs sont sous l'influence de nombreux paramètres, et la comparaison avec des données de référence aurait permis d'établir si ces variations pouvaient être réellement imputables aux hydrocarbures lors de cet accident ou non. Une autre limitation reste l'échantillonnage tardif pour la mesure des biomarqueurs. Un suivi dès les premières 24 heures après l'accident aurait été préférable (même si parfois difficile à réaliser d'une manière logistique). De même, l'étude aurait pu associer des biomarqueurs d'effets aux biomarqueurs d'exposition étudiés, ceci afin de confirmer qu'un impact est mesuré au niveau de l'individu.

En conclusion, les **deux approches** utilisées se sont montrées **pertinentes** à des degrés certes différents mais complémentaires à plusieurs égards (réponses à court-terme et à long-terme, aux niveaux individuels et des communautés), confortant **la recommandation d'une approche écologique** (assemblage piscicole) **doublée d'une étude écotoxicologique** qui bénéficierait plus que jamais de la disponibilité de données de référence et de l'enrichissement du suivi par des biomarqueurs majeurs de réponse à long terme (biomarqueurs d'effets). Ces deux approches pourraient également être bénéfiquement associées à des études de bioaccumulation de polluants dans les chairs (faune benthique) et dans l'eau notamment.

Annexe 4.1. Recommandations pour l'évaluation et le suivi des impacts sur le 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 induisant un risque de transfert vers les fonds ; Cf. plus bas) ;
- 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 temporellement¹⁴, 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.

¹⁴ 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.

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 :
 - o connue à partir de l'expérience (ex : Crustacés amphipodes) ou ;
 - o 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 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 (médiolittoral) 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 évènements 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**¹⁵ 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 ;
 - o entre des points (stations) présentant des niveaux de contamination différents (examen des relations avec les teneurs en HAPs, par exemple) et ;
 - o 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) :
 - o 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) ;
 - o 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.

¹⁵ (Cohérence des sites et des fréquences d'échantillonnage).

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)¹⁶ 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 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).

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 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 pétrolières, 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) ;

¹⁶ (Ex : de l'ordre de plusieurs mm, de l'ordre du cm ; etc. ; de quelques spécimens à plusieurs dizaines -voire centaines- au m² ; distribution régulière ou agrégative ; etc.)

- 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* (dépositivore), *Macoma balthica* (suspensivore et dépositivore) communs dans les sédiments fins estuariens ;
- l'annélide *Hediste diversicolor*, Polychète suspensivore et dépositivore très commun dans les vases intertidales estuariennes ;
- le Crustacé amphipode *Corophium volutator*, espèce également bien représentée en estuaires ;
- ...

A l'évidence, d'autres espèces-candidates¹⁷ 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 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.

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 -JAMP*, 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)¹⁸ :

- d'**exposition**, reconnus comme témoins d'un contact avec les contaminants majeurs des systèmes aquatiques, dont les hydrocarbures ;

¹⁷ 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.

¹⁸ 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).

- 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 ¹⁹	X
	Test comètes (réponse à long terme)	Cassures de brins d'ADN	Oui (méthode additionnelle)	X	X ²⁰	X
Effets	Stabilité lysosomale (réponse à court et long terme)	Domages subcellulaires. Bon prédicteur de pathologies : propose un lien entre exposition et effets pathologiques	Oui	X	X ²¹	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 ²²	?

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.

¹⁹ A priori applicable, réalisé sur des crabes (Nudi et al, 2010), même si peu de recul sur ce taxon.

²⁰ A priori applicable, réalisé sur des daphnies (Den Besten et Tuk, 2000) et des gammarés (Lacaze, 2011), même si peu de recul sur ce taxon.

²¹ 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.

²² A priori applicable, réalisé chez *Carcinus maenas* (Moralles-Caselles, 2008).

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.).

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'impacts²³.

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).

²³ Rappelons que la vocation des bioessais n'est pas d'en extrapoler les résultats en termes d'effets induits in situ.

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, éluutriats de sédiments, extraits du biota	Lignée cellulaire hépatique de rat	Mesure de l'exposition à des composés planaires (HAPs, PCBs...)	Klamer et al. (2005)
Test Microtox (test <i>in vitro</i>)	Matrices liquides : Eau, WAF, éluutriats de sédiments	Bactérie luminescente marine <i>Vibrio fischeri</i>	Mesure d'une toxicité aiguë	Norme ISO 11348 ²⁴
Développement embryon-larvaire (test <i>in vivo</i>)	Eau, WAF, éluutriats de sédiments	Oursins, huîtres	Mortalité et déformation des embryons	Beiras et al (2012). ²⁵ ou Quiniou ²⁶ et al. (2005)
Bioessais sédiments (test <i>in vivo</i>)	Sédiments, éluutriats de sédiments	Amphipodes et/ou polychètes,	Mortalité et comportement	norme ISO 16712 ²⁷ et/ou Thain & Bifield (2001) ²⁸
Scope for growth (test <i>in vivo</i> ou mésocosme)	Matrices liquides : Eau, WAF, éluutriats de sédiments. Applicable sur le site du déversement.	Utilisé sur les moules, transposable à d'autres bivalves	mesure sublétale de l'énergie disponible pour la croissance	Widdows & Staff (2006) ²⁹

Récapitulatif des recommandations des bioessais 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.

²⁴ 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.

²⁵ 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>

²⁶ Quiniou F., His É., Delesmont R., Caisey X., 2005. Bio-indicateur de la toxicité potentielle de milieux aqueux : bio-essai « Développement embryon-larvaire de bivalve ». Éd. Ifremer, Méthodes d'analyse en milieu marin, 24p.

²⁷ International Organization for Standardization. 2005. Water quality - Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods. EN ISO 16712

²⁸ 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>

²⁹ 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>

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 obtenues 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/marin³⁰, 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

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 **biomasse**³¹. Ces descripteurs sont les éléments de base soutenant

³⁰ Reposant, par exemple, sur le classement des espèces : en groupes de polluo-sensibilité vis-à-vis d'une pollution organique ; en groupes trophiques, etc.

³¹ 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

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, biomasse, 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)³² ;
 - 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)³³. Affiné en indice BOPA³⁴, 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

macrobenthos dans le cadre de dispositifs réglementaires (Directive Cadre Eau) ou de comités internationaux d'experts (ICES/CIEM, par exemple.)

³² Ex : fluctuations inhabituelles des abondances de taxons globalement considérés comme résistants -voire opportunistes (ex : certains Polychètes), ou *a contrario* sensibles (ex : crustacés amphipodes).

³³ **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.

³⁴ **Dauvin JC, Ruellet T, 2007.** Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin* 55: 215-224.

produits dans le cadre d'une étude distincte mais coordonnée et faisant partie du programme d'évaluation ;

- 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 acceptés³⁵ 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 m², 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 m²). 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

³⁵ 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.

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).

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 peuvent 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 hydrocarbures³⁶, 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).

³⁶ 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.

I.3 - Méthodes d'évaluation de l'épifaune benthique intertidale de substrats durs

Considérations générales - difficultés

En règle générale on rappellera que l'ampleur de la **variabilité naturelle** des peuplements macrobenthiques peut **s'avérer relativement élevée en milieu rocheux**, temporellement mais aussi spatialement en lien avec la variabilité de la complexité structurelle de l'habitat, et ainsi 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.* § 1.3.1 à 1.3.3) et d'en préciser les stratégies. Si possible, on encouragera la collecte de données visant à :

- caractériser les espèces benthiques *visiblement* affectées ;
- estimer, grossièrement et en première instance, l'ampleur et la localisation/extension des phénomènes.

I.3.1 Approche écologique, au niveau de populations d'espèces ciblées

Le choix des espèces

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 :
 - o connue à partir de l'expérience (ex : Crustacés amphipodes) ou ;
 - o potentiellement significative du fait de leur exposition et cycles de vie, s'agissant d'organismes à **cycle long, sessiles et épigés**, au premier rang desquels figurent les **mollusques gastéropodes** (ex : patelles en milieu rocheux) de grande taille ;
 - o à noter qu'une **sensibilité intermédiaire** aux hydrocarbures est *a priori* plus adaptée à la réalisation de suivis écologiques, par rapport à une tolérance (pas d'effet sur les populations) ou une sensibilité très élevée (cas –extrême- de quasi disparition, temporaire et localisée, de la population) ;
- de leur **représentativité** des substrats durs médiolittoraux potentiellement affectés (ex : blocs, enrochements, etc.), laquelle est en outre plus propice à la collecte répétée d'un nombre satisfaisant d'individus.

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

- le gastéropode *Patella vulgata*, éventuellement *Littorina littorea* (plus mobile), espèces brouteuses, sensibles aux hydrocarbures (toxicité aiguë) et potentiellement présentes sur une large gamme de substrats durs médiolittoraux (naturels ou artificiels), bien que probablement limitées au domaine polyhalin ;
- les bivalves *Mytilus edulis*, et *Crassostrea gigas*, espèces suspensivores, sessiles et potentiellement présentes sur une large gamme de substrats durs médiolittoraux (naturels ou artificiels) en estuaires, bien que probablement limitées au domaine polyhalin malgré une certaine tolérance à la dessalure.

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 de l'épifaune benthique de substrats durs (représentativité, abondances/distribution, biologie, etc.) au sein de l'aire affectée.

Les paramètres à mesurer

A l'instar des suivis de populations de sédiments meubles, les mesures à effectuer au sein de ces populations sont essentiellement l'**abondance** (comptage des individus, ou taux de recouvrement pour les espèces macrobenthiques sessiles³⁷), permettant d'identifier les fluctuations des densités et, le cas échéant, leur rétablissement (processus de restauration). Dans le cas des patelles, la mesure de la **taille** des individus a également permis (ex : cas du *Sea Empress* et du *Braer*) d'identifier la survenance d'effets *via* l'évolution de la structure démographique (distribution des fréquences de taille/classes d'âge, taux de croissance entre les divers événements d'échantillonnage, phénomènes de recrutement).

Notons qu'il convient de **s'assurer de l'acquisition et de la disponibilité de données pertinentes relatives au niveau de souillure** des substrats durs suivis ou à **la contamination** à leur voisinage immédiat –soit en intégrant ce volet dans l'étude écologique, soit en bénéficiant de résultats produits dans le cadre d'une étude distincte mais **coordonnée**³⁸ et faisant partie du programme d'évaluation.

La stratégie

- on comparera les paramètres mesurés en 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, Cf. plus bas), ou ;
 - o entre stations présentant des niveaux de contamination différents (examen des relations avec les teneurs en HAPs, par exemple) et ;
 - o 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}).

³⁷ Ex : Moules, huîtres, balanes

³⁸ (Cohérence des sites et des fréquences d'échantillonnage).

- naturellement élevée en milieu rocheux, on rappellera la nécessité de **limiter les biais liés à la variabilité spatiale**, en échantillonnant préférentiellement des stations aussi similaires que possible d'un point de vue de facteurs environnementaux : pente, exposition³⁹/orientation, complexité structurelle du substrat (anfractuosités, blocs, etc.) ;
- 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

- on recommandera l'adoption, autant que possible, des méthodologies proposées dans le cadre des **suivis existants en la matière**, par exemple celle proposée dans le cadre du REBENT (suivi stationnel de la faune des estrans rocheux)⁴⁰ ;
- classiquement, l'estimation quantitative/semi-quantitative des abondances (comptages, taux de recouvrement) de la macrofaune épibenthique de substrats rocheux est réalisée au sein de quadrats d'une surface unitaire de 0.1 m², à raison idéalement d'une dizaine de réplicats par point au sein desquels sont mesurés les paramètres mentionnés précédemment ;
- pour l'évaluation des abondances, on recommandera ici la réalisation d'échantillonnages non destructifs au sein de quadrats permanents définis sur des substrats aussi similaires que possible, afin de minimiser l'introduction de biais liés à la variabilité spatiale de l'habitat. Dans l'hypothèse de mesures de la taille des individus d'une population, un prélèvement destructif peut être réalisé au sein de quadrats aléatoires dont le nombre de réplicats est à évaluer et adapter (Cf. point suivant) ;
- Le choix des outils et du plan d'échantillonnage (nombre de stations et réplicats satisfaisant à la collecte d'un nombre significatif d'individus et à réalisation d'épreuves statistiques, etc.), reste à **adapter/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)⁴¹ dans **la définition des modalités d'échantillonnage** est un aspect connu des experts en écologie benthique ;
- Le cas échéant et si besoin, les échantillonnages (*n* quadrats) peuvent être réalisés, en chaque station, le long d'une radiale hypsométrique, notamment en échantillonnant les niveaux médiolittoral supérieur et moyen (isolignes correspondant respectivement aux ceintures à *Pelvetia canaliculata* et à *Fucus vesiculosus/Ascophyllum nodosum*).

Les avantages

Dès lors qu'elle est ciblée sur des espèces relativement abondantes, de grande taille et peu mobiles (ex : patelles), cette approche présente l'avantage d'une **mise en œuvre relativement aisée** (logistique réduite), qui ne réclame pas de mesures ou d'analyses

³⁹ Mode abrité en estuaire, essentiellement.

⁴⁰ [ftp://ftp.ifremer.fr/ifremer/delao/.snapshot/nightly.1/gt_benthos_dce/FT05-2003-01.pdf](http://ftp.ifremer.fr/ifremer/delao/.snapshot/nightly.1/gt_benthos_dce/FT05-2003-01.pdf)

⁴¹ (Ex : de l'ordre de plusieurs mm, de l'ordre du cm ; etc. ; de quelques spécimens à plusieurs dizaines -voire centaines- au m² ; distribution régulière ou agrégative ; etc.)

complexes des données, ni un niveau d'expertise (taxonomie) rédhibitoire (tri et détermination d'un cortège d'espèces, par exemple). De ce fait, elle peut permettre d'obtenir des résultats à relativement court terme (quelques mois après son lancement).

I.3.2 Approche écotoxicologique, au niveau d'espèces ciblées

Il est possible de mettre en œuvre des approches semblables à celles utilisées pour les invertébrés de la macrofaune de substrat meuble (Cf. I.2.2), visant à rechercher l'apparition d'effets sub-létaux chez les individus d'une espèce épibenthique de substrats durs donnée. Ces effets peuvent se manifester à différentes échelles (ex : du niveau moléculaire à l'individu) et sont plus ou moins spécifiques du polluant incriminé.

Par conséquent, les techniques (ex : biomarqueurs d'effet génotoxique, histopathologie, etc.) potentiellement employables sont nombreuses, 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 pétrolières, 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 ;
- leur **représentativité** de l'aire affectée ;
- éventuellement leur **statut** d'espèce consommée/commerciale et/ou patrimoniale.

Sur les substrats durs 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 *Mytilus edulis* et *Crassostrea gigas* communs sur les substrats durs estuariens, communément présentes en estuaire, au moins en domaine polyhalin ;
- les gastéropodes *Patella vulgata* et *Littorina littorea*, au moins en domaine polyhalin ;

A l'évidence, d'autres espèces-candidates 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.).

Dans le cas des substrats durs, le suivi d'**espèces sentinelles** peut être recommandé, s'agissant notamment chez les invertébrés benthiques du bivalve filtreur *Mytilus* sp., ou

d'**espèces exploitées/consommées** (*C. gigas*) par ailleurs souvent ciblées dans le cadre de suivis sanitaires (potentiellement pourvoyeurs de données de contamination)

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.

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.

Si 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.).

	Biomarqueurs	Signification biologique	Recommandations (JAMP ou CIEM)	Application sur les groupes taxonomiques		
				Bivalves	Gastéropodes	Crustacés
Exposition	Acétyl Choline Estérase (réponse à court terme)	Effet neurotoxique : marqueur de stress général indiquant le statut physiologique de l'organisme	Oui	X	X	X
	Métallothionéine (réponse à court terme)	Détoxication des métaux et de composés organiques aromatiques inducteurs de stress oxydatif cellulaire	Oui (méthode additionnelle)	X	X	X
Génotoxicité	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	X
	Test comètes (réponse à long terme)	Cassures de brins d'ADN	Oui (méthode additionnelle)	X	X	X
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	X
	Histopathologie (réponse à long terme)	Réponses générales témoins d'un effet pathologique (ex : glandes digestives, gonades)	Oui	X	X	X

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).

Dans cet esprit, on suggèrera l'application en priorité d'une batterie de biomarqueurs (consignés dans le tableau ci-dessus) :

- d'**exposition** reconnus comme témoins d'un contact avec les contaminants majeurs des systèmes aquatiques, dont les hydrocarbures ;
- de **génotoxicité** ;
- 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).

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 adjacents, de la masse d'eau** et également du **biote** 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. Pour les invertébrés des substrats durs, on soulignera l'existence du réseau d'observation de la contamination chimique du littoral (ROCCH, ex-RNO) coordonné par l'Ifremer, qui permet d'obtenir des données de contamination sur les trois matrices (eau, sédiment, biote) dans les masses d'eaux de transition et côtières.
- de même, on rappellera 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.).

Remarques additionnelles

- **Les biotests**

De la même manière que souligné précédemment (substrats meubles ; Cf. § I.2.2), les bioessais peuvent apporter rapidement des éléments d'évaluation du risque ainsi que des éléments d'interprétation des résultats des études d'impacts.

Cette méthode additionnelle à celle de recherche *in situ* d'impacts sur les organismes, populations ou communautés est à recommander via la mise en œuvre d'une batterie de bioessais, comparable à celle déjà proposée.

On pourra ainsi se reporter à la liste indicative présentée dans la section précédente (Cf. § I.2.2), moyennant une adaptation à la problématique présente si besoin.

I.3.3 Approche écologique, au niveau des communautés

Comme pour les études en substrats meubles, le suivi d'un certain nombre de paramètres descripteurs de base des communautés macro benthiques de substrats rocheux (richesse spécifique, abondances, etc.) peut permettre d'évaluer des évolutions en termes de qualité de l'environnement benthique ; Cependant, l'expérience établie en la matière est largement relative au **milieu marin, et l'approche décrite ci-après est a priori d'une application restreinte limitée aux domaines polyhalin, voire éventuellement mésohalin.**

Les protocoles d'échantillonnage

Dans la mesure du possible, il est recommandé de veiller à une cohérence méthodologique avec les protocoles adoptés dans le cadre des suivis existants au niveau national, en l'occurrence celui du ReBent notamment⁴² -voire communautaires (ex : DCE).

Concernant les substrats rocheux intertidaux, on recommandera les grandes lignes suivantes :

- en chaque station de suivi, un échantillonnage effectué si possible aux niveaux **médiolittoral** supérieur et moyen (isolignes correspondant respectivement aux ceintures à *Pelvetia canaliculata* et à *Fucus vesiculosus/Ascophyllum nodosum*) ;
- un échantillonnage **non destructif** (*i.e.* sans prélèvement), en chaque niveau, de 3 à 10 **quadrats permanents** (*i.e.* fixes, soigneusement marqués et localisables –par exemple géoréférencés par GPS) d'une surface unitaire de 0.1 m² et définis sur des surfaces aussi **homogènes** que possible (exposition, anfractuosités, surplombs, etc.), ceci pour **minimiser les biais liés à la variabilité spatiale de l'habitat** ;
- concernant le suivi des espèces éventuellement abondantes et de petite taille (ex : balanes, petites espèces de gastéropodes), un sous-échantillonnage aléatoire est à envisager au sein de sous-quadrats définis par un maillage des quadrats de 0.1 m².

Les paramètres

Il existe relativement peu d'indicateurs fiables et établis d'un impact en milieu benthique rocheux, et l'expérience en matière d'études suite à des pollutions par hydrocarbures a montré la difficulté de distinguer les variations naturelles de celles imputables à un effet de l'accident –particulièrement en l'absence de données de référence.

Cependant, l'évaluation des effets d'une pollution accidentelle sur la composition l'épifaune benthique peut être tentée *via* le suivi des fluctuations, au sein de chaque échantillon/quadrat :

⁴² Hily C., Grall J., 2006. Suivi stationnel des estrans rocheux (faune). FT-05-2006-01. http://www.rebent.org//medias/documents/www/contenu/documents/FT05_Hily_Rebent_Rocheux_2006.pdf

- de la **liste/nombre des taxons présents**, identifiés si possible au niveau de l'espèce, notamment de ceux **caractéristiques** (les plus fréquents/abondants) des sites étudiés ;
- des **abondances** des espèces présentes, établies :
 - o par l'évaluation des **taux de recouvrement** des espèces de la faune et de la flore fixée (indice semi-quantitatif), en cohérence avec les programmes préexistants le cas échéant (ex : Rebent ; Cf. tableau ci-dessous) ;
 - o par **comptage** des individus d'espèces fixées ou mobiles, au sein des quadrats de 0.1 m² pour la faune de grande taille (ex : patelles), ou au sein de sous-quadrats pour la faune de petite taille.

Indice de recouvrement	Pourcentage de recouvrement
0	0 (absence)
1	0-5 %
2	5-25 %
3	25-50 %
4	50-75 %
5	75-100 %

Correspondances entre pourcentages et indices de recouvrement, telles que définies dans le cadre du Rebent (Source : Hily C., Grall J., 2006. *Suivi stationnel des estrans rocheux (faune)*. FT-05-2006-01. http://www.rebent.org/medias/documents/www/contenu/documents/FT05_Hily_Rebent_Rocheux_2006.pdf)

La stratégie

- on comparera les données obtenues et 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 souillure ou de contamination différents 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, notamment :
 - o la liste des taxons les plus abondants (caractérisant les fonds) ;
 - o les abondances relatives des principales espèces (ex : patelles, balanes, littorines) ;
- il convient de s'assurer de l'acquisition et de la disponibilité de données relatives à la souillure des substrats durs suivis, ou à la contamination au voisinage immédiat –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 ;
- 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)).

Les avantages et inconvénients

Si l'approche vise à produire une vue globale quant à l'état des communautés épibenthiques de substrats durs intertidaux, elle présente le désavantage de requérir un niveau d'expertise éventuellement élevé (ex : taxonomie) et nécessite un certain délai pour le traitement des résultats (détermination, comptages, etc.). On rappellera également les réserves formulées plus haut (Cf. « Considérations générales – difficultés » en début de § 1.3) quant à la difficulté d'identification nette d'impacts, en lien avec la variabilité naturelle élevée au sein de ce compartiment.

Annexe 4.2. Recommandations pour l'évaluation et le suivi des impacts sur l'ichtyofaune.

Les poissons représentent une **composante quasiment systématiquement intégrée dans les programmes d'évaluation de l'impact** potentiellement induit par une pollution accidentelle par hydrocarbures en environnement côtier littoral. Les motivations en sont exposées ailleurs dans le projet (Cf. analyse bibliographique sur l'expérience en la matière) et, bien qu'essentiellement relatives à des pollutions marines et littorales, restent pertinentes en milieux estuariens. En effet, l'accomplissement de certains stades du cycle biologique, pour de nombreuses espèces de l'ichtyofaune -dulcicole ou marine, est étroitement lié au maintien de la fonctionnalité écologique de l'estuaire : nourricerie pour les juvéniles, aire de reproduction des adultes ou couloir de migration d'espèces amphihalines, etc. Du fait de cette sensibilité et exposition potentielle, l'évaluation des effets d'une pollution estuarienne majeure sur l'ichtyofaune est, par conséquent, à recommander au regard de l'importance fonctionnelle, économique, patrimoniale, etc., de cette composante.

II.1 - Sélection des organismes au sein de la composante « poissons »

La sensibilité des poissons aux hydrocarbures est connue, et le risque d'exposition au polluant est en règle générale plus important dans les secteurs côtiers peu profonds, en relation également avec le taux de renouvellement de la masse d'eau (cas de milieux semi-confinés par rapport à une mer ouverte, par exemple) –cette typologie correspond aux **habitats estuariens envasés** sur lesquels il est judicieux d'entreprendre les efforts de suivis de l'ichtyofaune.

En outre, les risques d'impacts sur l'ichtyofaune sont liés aux **stades de développement** présents dans l'aire affectée ; les larves et juvéniles –éventuellement abondants dans des sites côtiers et estuariens (ex : nourriceries en estuaire externe) sont plus sensibles et vulnérables aux contaminants déversés que les adultes. Ainsi, l'éventualité d'une **coïncidence de la pollution accidentelle avec une phase critique du cycle biologique** (ex : ponte, éclosion, migration...) peut, le cas échéant, constituer un des critères de sélection prioritaire d'une ou plusieurs espèces.

En réponse à des contraintes logistiques (dimensionnement du programme de suivi, notamment) ou de pertinence des suivis (sélection d'espèces susceptibles de permettre l'identification d'une survenance ou non d'un effet), il peut s'avérer souhaitable, sinon nécessaire de procéder à une hiérarchisation des priorités de suivi, laquelle peut notamment reposer sur :

- **L'exposition potentielle des espèces.** En secteurs côtiers peu profonds, relativement abrités et de sédiments meubles comme dans le cas des estuaires, les poissons démersaux, particulièrement les poissons plats inféodés à l'interface eau/sédiments, sont en principe plus exposés au polluant que les poissons pélagiques⁴³ (particulièrement dans des cas de pollution avec transfert du polluant vers les fonds). En cas concrets de pollutions, l'éthologie des poissons plats a ainsi motivé leur suivi en priorité –du fait d'un caractère supposé intégrateur et indicateur d'un changement de l'environnement benthique (ex : étude des réponses biologiques individuelles) ;
- **Les connaissances préalables quant aux cycles biologiques.** Ces dernières peuvent s'avérer déterminantes sur le potentiel de l'étude à mettre en lumière les

⁴³ La colonne d'eau étant un habitat plus ouvert, dont la contamination est en principe relativement transitoire suite à un événement accidentel, en lien avec l'ampleur des processus physiques favorisant la dissipation naturelle du polluant et prévenant la persistance de concentrations à des teneurs nocives.

impacts éventuels, en particulier dans le cas où les stades de développement (ex : larves, juvéniles) et/ou les descripteurs (ex : abondances, activité enzymatique, etc.) examinés dans le suivi sont connus pour fluctuer sous l'influence de facteurs étrangers à l'accident et par conséquent confondants.

Concernant le second point, on soulignera l'intérêt de sélectionner, si cela est possible et pertinent, des espèces faisant l'objet de programmes de suivis susceptibles de fournir des séries de données à long terme, dans un contexte de **conservation** (ex : mesures de réintroduction/maintien de populations amphihalines) et/ou de **gestion des ressources** (ex : exploitation par pêche).

A noter également que le ciblage d'espèces **consommées** est doublement intéressant car éventuellement complémentaire des évaluations de risques pour la santé humaine, par ailleurs généralement conduites en cas de pollution accidentelle significative (évaluation de l'opportunité d'arrêtés d'interdiction d'exploitation, de commercialisation, etc.), et qui sont éventuellement des sources de données additionnelles (contamination des chairs, notamment).

En résumé : En matière de hiérarchisation des évaluations de l'impact sur l'ichtyofaune en milieu estuarien, les points précédents amènent donc à recommander, *en règle générale*, la mise en œuvre :

- **prioritaire** d'un suivi des populations de **poissons démersaux**, plus particulièrement des poissons benthiques, sur des **sites/habitats** :
 - o **potentiellement exposés** (ex : aires de sédimentation potentielle de la pollution) et/ou ;
 - o revêtant une **importance fonctionnelle** particulière pour l'accomplissement du cycle biologique (ex : aire de nourricerie)
- **éventuelle** d'un suivi des populations de poissons pélagiques; au cas par cas si cette thématique est pressentie d'intérêt ;
- Préférentiellement, la variabilité naturelle généralement importante des populations de poissons plaide pour une **sélection d'espèces (ou groupes d'espèces) pour lesquelles des séries de données de référence sont disponibles** (espèces à enjeu commercial ou patrimonial, le plus souvent).

II.2 : Méthodes d'évaluation de la composante poissons (benthodémersaux et pélagiques)

Considérations générales - difficultés

On rappellera l'importance, dans la conception des suivis à partir des recommandations formulées ci-après, de la difficulté posée par la **variabilité naturelle** des processus étudiés au niveau des populations de poissons, laquelle peut s'avérer **relativement élevée** à divers niveaux de l'organisation biologique (ex : variabilité du recrutement, sous l'influence d'aléas climatiques ou encore de la pression de pêche sur les espèces exploitées ; variabilité au niveau sub-individuel en lien avec les cycles biologiques ou la présence, éventuellement chronique, de xénobiotiques autres que les hydrocarbures déversés...). Habituelle en matière de suivis halieutiques, cette contrainte peut, dans un contexte d'assignation à une pollution accidentelle des phénomènes éventuellement observés, être partiellement réduite par :

- La sélection d'organismes dont l'écologie et la biologie sont préalablement connues et/ou ;

- La disponibilité de séries de données de référence antérieures à l'accident, et si possible relativement récentes et/ou ;
- Le suivi, si possible, de sites « témoins » (non pollués) identifiés comme comparables aux sites pollués.

Différents types d'approches sont envisageables pour l'identification des impacts induits sur l'ichtyofaune : l'approche écologique (au niveau des populations et/ou des communautés) et l'approche biologique (au niveau (sub)individuel d'espèces ciblées), détaillées plus bas.

Remarque : Dans l'urgence (premiers jours/semaines après l'accident) et si possible, la collecte d'informations qualitatives (*via* des reconnaissances de terrain) visant (i) à caractériser les espèces *visiblement* affectées (ex : phénomènes de détresse, mortalités, etc.) et (ii) à estimer grossièrement et en première instance l'ampleur et la localisation/extension de tels phénomènes, est recommandable dans la mesure où celles-ci peuvent éclairer les processus de choix et de définition du (ou des) suivi(s) à mettre en œuvre et proposés ci-après.

II.2.1 Approche écologique, au niveau de populations d'espèces ciblées

Le choix des espèces

Applicable aux différentes zonations halines des milieux estuariens, l'approche consiste à réaliser un suivi de la **dynamique de populations** d'espèces ciblées en fonction :

- de leur **sensibilité** aux pollutions par hydrocarbures :
 - o **connue** à partir de l'expérience ou ;
 - o **potentiellement significative** du fait de leur exposition et cycles de vie, s'agissant d'espèces (i) réalisant tout ou partie (cas des espèces catadromes/anadromes) de leur développement en estuaire et/ou (ii) éthologiquement liées aux habitats d'eaux peu profondes et brassées, voire inféodées à l'interface eau/sédiment, au premier rang desquels figurent certains **poissons plats benthiques**;
- de leur **importance commerciale** et/ou **récréationnelle** (pêche).

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

- des pleuronectidés :
 - o la plie *Pleuronectes platessa*, poisson plat présent en estuaire jusqu'à la limite de dessalure ;
 - o le flet *Platichthys flesus*, poisson plat tolérant aux faibles salinités et relativement commun en estuaires, où les individus séjournent au cours des premières années de leur développement;
- la sole *Solea solea*, espèce présente en estuaire aval et d'importance particulière au niveau commercial ;
- ...

D'autres espèces, pélagiques, sont connues pour être potentiellement présentes dans les systèmes estuariens tidaux de la région géographique considérée (ex. : bars, tacauds,

épinoches...), et, localement, l'identification et la sélection des espèces candidates pour un éventuel suivi de populations doit s'appuyer sur les **connaissances existantes** (ex : inventaires DCE, statistiques de pêche, suivis en cours...) quant aux espèces (représentativité, biologie, etc.) au sein de l'aire affectée.

Les paramètres à mesurer

Les mesures de base à effectuer au sein de ces populations visent essentiellement à vérifier la survenance ou non d'effets sur l'**abondance des effectifs**, ou sur la **structure démographique des populations** ; elles relèvent de la biométrie (**longueurs, poids, etc.**, éventuellement sclérochronologie) et doivent permettre le suivi, par exemple :

- des abondances ou des biomasses (rapportées à l'effort de pêche- exprimées classiquement par la CPUE⁴⁴) ;
- de la distribution de fréquence de tailles, pour identifier les effets éventuellement variables selon les classes d'âge (ex : cas de perturbations du recrutement de l'année) ;
- de descripteurs synthétiques de l'état physiologique des effectifs (ex : indice de condition) ;
- de taux de mortalité, de croissance, etc.

Notons qu'il convient de s'assurer **(i) de l'acquisition -ou de la disponibilité- de données de référence analogues et pertinentes** (ex : récentes pour des données pré-pollution) afin de minimiser les ambiguïtés relatives aux fluctuations naturelles, et **(ii) de la possibilité d'examiner les relations entre les phénomènes observés et la contamination par les hydrocarbures** (ex : sédiments, invertébrés benthiques) –soit en intégrant ce volet dans l'étude écologique, soit en bénéficiant de résultats produits dans le cadre d'une étude distincte mais **coordonnée**⁴⁵ et faisant partie du programme d'évaluation.

La stratégie

- on comparera les résultats obtenus sur des stations polluées :
 - avec des données analogues/comparables (i) de préférence antérieures à la pollution (références) ou (ii) sinon issues, s'il est possible d'en établir, de sites « contrôle » (non pollués), bien que la comparaison de sites pollués vs non pollués soit délicate compte tenu de la variabilité naturelle importante des populations de poissons et/ou ;
 - 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 **de manière saisonnière 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}). Le plan d'échantillonnage pourra être revu (à la hausse/à la baisse) en fonction des contraintes budgétaires et de terrain, tout en tenant compte des spécificités locales.

⁴⁴ Capture Par Unité d'Effort

⁴⁵ (Cohérence des sites et des fréquences d'échantillonnage).

- on rappellera l'intérêt de suivre, en parallèle, **les paramètres de base** des masses d'eau (température, salinité, conductivité, oxygène dissous, etc.) pour chaque station ;
- 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

A l'heure actuelle, il existe **un protocole normalisé d'échantillonnage** défini et validé par l'IRSTEA⁴⁶ pour les inventaires de poissons dans les eaux de transition, et sur lequel on recommandera de s'appuyer pour les prélèvements relatifs à l'ichtyofaune.

Dans les grandes lignes⁴⁷, on en retiendra que :

- l'outil d'échantillonnage dans ce contexte est le chalut à perche, d'une taille à adapter à celle de l'estuaire. (ex : 3 m étant la préconisation pour les grands estuaires (Seine, Loire, Gironde) contre 1,5 m dans des estuaires de taille moyenne ou réduite) ;
- le chalutage doit être effectué à contre-courant, à une vitesse absolue comprise entre 1,5 et 3 nœuds selon la dimension de l'engin, durant 15 minutes lors de coefficients de marée inférieurs à 90, et à différentes profondeurs.
- 6 à 8 traits de chalut sont ainsi recommandés par zone haline concernée par la pollution.

Il faut noter que ces techniques d'échantillonnage ont été définies, testées puis validées dans le cadre des campagnes d'inventaires poissons pour la DCE et, de fait, l'existence de données relatives aux communautés ichthyologiques acquises selon cette méthodologie pour un certain nombre de masses d'eau de transition.

Les avantages et les inconvénients

Cette approche, si elle présente des inconvénients en termes de logistique et de mise en œuvre relativement lourde (campagnes à la mer), peut néanmoins être couplée, au niveau de l'organisation (échantillonnages), avec d'autres approches visant à l'examen des effets survenant au niveau individuel (écotoxicologie) ou au niveau des communautés. En outre, cette approche ne réclame pas de mesures ou de procédures analytiques complexes des données, excepté pour l'analyse éventuelle en sclérochronologie des taux de croissance (phases de préparation et d'interprétation notamment).

⁴⁶Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture (antérieurement CEMAGREF).

⁴⁷Cf. AFNOR. Qualité de l'eau - Échantillonnage au chalut à perche des communautés de poissons dans les estuaires. XP T90-701. Paris : AFNOR, 2011, 15 p.

II.2.2 Approche écotoxicologique, au niveau d'espèces ciblées

Dans le cadre d'évaluations de l'impact post-accidentel sur le compartiment « poissons », il est possible, tout comme pour l'endofaune benthique, de mettre en œuvre des approches visant à rechercher l'apparition d'effets sub-létaux chez les individus d'une espèce donnée : ces effets, bien que délicats à caractériser, peuvent se manifester à différentes échelles (ex : organique à subcellulaire, voire moléculaire) et sont plus ou moins spécifiques du polluant incriminé.

Les techniques (ex : biomarqueurs d'exposition, d'effet, histopathologie, etc.) potentiellement applicables 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 pétrolières, 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. **II.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 : poisson benthique) ;
- éventuellement leur **statut** d'espèce consommée/commerciale et/ou patrimoniale.

Dans les estuaires du nord-est atlantique, quelques espèces de poissons présentent ces caractéristiques et sont *a priori* des **candidats potentiels** pour les suivis écotoxicologiques. On choisira par exemple :

- préférentiellement, les poissons plats tels que le flet (*Platichthys flesus*), la plie (*Pleuronectes platessa*) ou encore la sole (*Solea solea*) ;
- dans un second temps et si nécessaire, les poissons pélagiques tels que le bar (*Dicentrarchus labrax*) ou encore le tacaud (*Trisopterus luscus*) ;
- ...

Si elles sont présentes, le suivi d'**espèces sentinelles** est recommandé, s'agissant notamment de poissons benthiques tels que le flet, espèce amplement présente en estuaire et largement étudiée en écotoxicologie, ou encore la sole.

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. A noter également que certaines données issues de programmes de recherche en estuaires peuvent aider à établir un état antérieur à l'accident.

L'évaluation de l'effet biologique d'un polluant sur des espèces de poissons sentinelles (flet, *Platichthys flesus*) 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 -JAMP*, de la Convention OSPAR ; *Conseil international pour l'exploration de la mer (CIEM/ICES)*, etc.).

	Biomarqueurs	Signification biologique	Recommandations	
			JAMP	CIEM
Exposition	Cytochrome P450A1/EROD	Activité enzymatique de détoxification des HAPs (activation phase 1 des activités de métabolisation)	X	X
	Métabolites des HAPs	Exposition aux HAPs et métabolisation	X	X
Génotoxicité	Adduits à l'ADN (réponse à long terme)	Formation de liaisons à l'ADN suite à une exposition à des composés réactifs avec l'ADN	X	X
	Test comètes (réponse à long terme)	Cassures de brins d'ADN		X
Effets	Stabilité lysosomale (réponse à court et long terme)	Dommages subcellulaires. Bon prédicteur de pathologies : propose un lien entre exposition et effets pathologiques		X
	Activités enzymatiques antioxydantes (CAT, SOD, GPx...) (réponse à court terme)	Réponse cellulaire au stress oxydant		X
	MalonDiAldéhyde (réponse à long terme)	Produit de dégradation des lipides (péroxydation lipidique : réponse cellulaire au stress oxydant)		X
	Histopathologie du foie (réponse à long terme) incluant les néoplasmes macroscopiques hépatiques	Réponses générales témoins d'un effet pathologique	X	X
	Signes externes de maladies (incluant les lésions aux nageoires)	Réponses générales témoins d'un effet pathologique	X	

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

Pour le compartiment poisson, on s'appuiera particulièrement sur le document du *JAMP*⁴⁸ recommandant le suivi des effets biologiques spécifiques des HAPs, formulé cependant dans un contexte de contamination chronique, mais également sur le document publié par le *CIEM* de Martinez-Gomez et al (2010)⁴⁹ dans le cadre de pollutions accidentelles. Ces deux documents sont repris de manière synthétique dans le tableau ci-dessus.

Dans cet esprit, on suggèrera ainsi l'application en priorité d'une batterie de biomarqueurs, consignés dans le tableau ci-dessus :

- d'**exposition** reconnus comme témoins d'un contact avec les contaminants majeurs des systèmes aquatiques, dont les hydrocarbures ;
- de **génotoxicité** ;
- 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).

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

⁴⁸ JAMP (Joint assessment monitoring programme) 2009. Guidelines to contaminant-specific biological effects (OSPAR agreement 2008-2009). Technical annex 2: PAH-specific biological effects monitoring. OSPAR convention for the protection of the marine environment of the North-East Atlantic. Technical annexes of monitoring guidelines. Ref No:2008-9. 48pp.

⁴⁹ Martinez-Gomez C., Vethaak A.D., Hylland K., Burgeot T., Köhler A., Lyons B.P., Thain J., Gubbins M.J. et Davies I.M. 2010. A guide to toxicity assessment and monitoring effects at lower levels of biological organization following marine oil spills in European waters. ICES Journal of Marine Science, 67:1105-1118.

certains biomarqueurs 'chroniques', sélection d'un certain nombre de sites, mise en place de la technique de *caging*, etc.).

Remarques additionnelles

- Les biotests

De la même manière que souligné précédemment (Cf. fiche endofaune de substrats meubles, § I.2.2), les bioessais peuvent apporter rapidement des éléments d'évaluation du risque ainsi que des éléments d'interprétation des résultats des études d'impacts.

Cette méthode, éventuellement complémentaire des études visant à caractériser *in situ* la survenance d'impacts sur les organismes, populations ou communautés, est à recommander via la mise en œuvre d'une batterie de bioessais, comparable à celle déjà proposée. On pourra à cet égard se reporter à la liste indicative présentée dans la section précédente (Cf. I.2.2), moyennant une adaptation à la problématique présente si besoin.

II.2.3 Approche écologique, au niveau des communautés

La recherche d'altérations de la structure des communautés de poissons, envisagée comme indicatrice de la qualité de l'environnement estuarien, est une approche potentielle pour apprécier l'impact d'un déversement accidentel.

Celle-ci consiste à suivre l'évolution de descripteurs/métriques de la structure des assemblages, ou encore d'indices synthétiques agrégeant les descripteurs -offrant une approche plus intégrative et fonctionnelle.

Les paramètres

Certains paramètres de base de structures des communautés tels que **la biomasse**, **l'abondance** ou encore **la richesse spécifique** (nombre d'espèces) peuvent ainsi caractériser de manière descriptive divers aspects des peuplements de poissons. D'autres métriques reposent sur des notions de **guildes écologiques**, **trophiques** ou de **position**, et permettent d'avoir une vision de la diversité fonctionnelle des communautés. Ces descripteurs sont généralement agrégés pour le calcul d'indicateurs/indices.

A ce titre, il existe différents types d'indices pour caractériser les communautés de poissons, associant différents nombres de métriques (monométrique ou multimétrique). On peut citer, parmi les plus connus, le *Biological Health Index (BHI)*, l'*Indices of Biotic Integrity* spécifique pour les communautés de poissons (**IBI for fish**) ou encore l'indice français *Estuarine and Lagoon Fish Index (ELFI)*⁵⁰ développé dans le cadre de la DCE et basé sur une approche pression-impact. Il est à noter que ces indices n'ont jamais été appliqués, jusqu'à présent et à notre connaissance, dans un contexte d'évaluation d'impact d'une pollution accidentelle par hydrocarbures. Leur utilisation n'en reste cependant pas moins à considérer –elle est en principe pertinente s'il existe des séries de références permettant une approche comparative (identification de variations par rapport à une ligne de base).

L'acquisition des métriques sera donc à prendre en compte en fonction du calcul de l'indice et de la problématique à laquelle il doit répondre.

⁵⁰ Delpech, C., Courrat, A., Pasquaud, S., Lobry, J., Le Pape, O., Nicolas, D., Boët, P., Girardin, M., Lepage, M., 2010. Development of a fish-based index to assess the ecological quality of transitional waters: The case of French estuaries. *Marine Pollution Bulletin* 60, 908–918.

Le protocole d'échantillonnage

Dans la mesure du possible, on s'appuiera sur le protocole d'échantillonnage normalisé développé par l'IRSTEA concernant les poissons estuariens, exposé plus haut (Cf. § II.2.1) et qui pourra être utilisé de manière commune pour les approches écologiques (populations et/ou communautés) et écotoxicologiques, afin de mutualiser les moyens et réduire les coûts.

Lors de l'échantillonnage, l'ensemble des captures seront identifiées jusqu'à l'espèce, de manière toujours équivalente.

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). Dans le cas de l'approche au niveau des communautés ichthyologiques, la comparaison des sites « contrôle » (non pollués) vs. pollués est déconseillée, à moins d'avoir un nombre suffisant et substantiel de sites témoins pour déterminer les niveaux de variabilité naturelle.
 - 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}).
 - o les comparaisons et le suivi peuvent porter sur divers indices existants cités (ex : ELFI, 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. ;

Les avantages et inconvénients

Cette approche, si elle peut se révéler lourde à mettre en œuvre (campagnes à la mer, lourdeur d'échantillonnage), vise en principe à obtenir un diagnostic global de l'état de santé des communautés ichthyologiques et de leur restauration. D'un intérêt certain, on en rappellera néanmoins :

- (i) les écueils potentiels, inhérents à la variabilité typiquement élevée des populations de poissons (Cf. **Considérations générales - difficultés**) et par conséquent également tributaires du niveau des connaissances *pré*-pollution, et ;
- (ii) le peu d'expérience concrète -à notre connaissance et à l'heure actuelle- quant à la réponse, dans un contexte de déversement accidentel d'hydrocarbures, des « indicateurs poissons » basés sur la structure des communautés.