

**PROJET DE RESTAURATION DES SÉDIMENTS
DU PORT DE GASPÉ, QUÉBEC**

**PROTOCOLE POUR LE SUIVI BIOLOGIQUE DES
MOLLUSQUES**

Préparé par Émilien Pelletier, professeur
Institut des sciences de la mer de Rimouski
Université du Québec à Rimouski

Mai 2013

Table des matières

Sommaire	3
1 Introduction.....	4
1.1 Rappel du mandat	4
1.2 Contexte du suivi	4
1.3 Les objectifs.....	5
1.4 Les contaminants ciblés	6
2 La méthodologie	7
2.1 Espèces indicatrices	7
2.2 Méthode d'exposition	8
2.2.1 Mise en cage des moules.....	9
2.2.2 Mise en cage des pétoncles.....	10
2.3 Le positionnement des stations et échantillonnage.....	10
2.3.1 Les sites d'échantillonnage.....	10
2.3.2 Échantillonnage pour la physico-chimie.....	11
2.3.3 Déroulement des opérations pour la physico-chimie.....	12
2.3.4 Échantillonnage pour les bioindicateurs	13
2.4 Travaux au retour de l'échantillonnage en mer	13
2.4.1 Réception des échantillons d'eau et traitement immédiat.....	14
2.4.2 Réception des échantillons de biologie et traitement immédiat.....	14
2.5 Analyses chimiques	15
2.5.1 Analyse des éléments chimiques	15
2.5.2 Analyse des HAP et composés organochlorés.....	15
2.6 Analyses biochimiques	16
3 Calendrier des échantillonnages	17
3.1 Échantillonnage de l'eau pour toutes les stations	17
3.2 Échantillonnage des moules et pétoncles.....	17
4 La méthode de traitement des données et quantification des impacts	19
4.1 Liste des données fournies par les travaux de monitoring	19
4.2 Traitement et utilisation des données.....	19
5 Références.....	21
Figure 1: Positionnement des stations d'échantillonnage.....	23
Figure 2. Type de cages suggérées pour les moules.....	24

Sommaire

Le protocole de suivi biologique comporte les principaux éléments suivants :

- Six stations d'échantillonnage réparties à l'embouchure des rivières York et Dartmouth, dans le havre de Gaspé lui-même et son embouchure sur la baie de Gaspé.
- Utilisation de moules et de pétoncles en cage comme bioindicateurs.
- Répartition des cages sur trois sites stratégiques à l'intérieur du havre et à son embouchure.
- Échantillonnage régulier et analyse de l'eau pendant les travaux pour le suivi des paramètres de qualité d'eau et de la présence des contaminants dans les particules en suspension et dans l'eau.
- Échantillonnage des bioindicateurs avant, pendant et après les travaux.
- Détermination des taux de croissance et de mortalité des bioindicateurs en fonction du temps.
- Analyse chimique des contaminants dans les tissus des bioindicateurs pour faire le suivi de la bioaccumulation et de la dépuration.
- Analyse biochimique des tissus biologiques pour déterminer le niveau de stress subi par les bioindicateurs pendant les opérations de dragage.
- Traitement des données chimiques et biologiques de façon à déterminer la présence et l'ampleur des effets néfastes causés aux bioindicateurs pendant et après les opérations.

1 Introduction

1.1 *Rappel du mandat*

Fournir une méthodologie détaillée d'un programme de suivi biologique pour le projet mentionné en titre comprenant :

- Les espèces de mollusques devant être utilisées et le mode d'exposition
- Le plan d'échantillonnage des eaux et des organismes avant, pendant et après les opérations
- Les méthodes d'analyses chimiques et biochimiques des échantillons
- La stratégie pour l'analyse des résultats (traitement des données)
- La méthode de quantification des impacts.

1.2 *Contexte du suivi*

Transports Canada (TC) compte entreprendre la restauration de sédiments contaminés en cuivre (Cu) et en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) situés directement au sud du quai commercial de Gaspé – Sandy Beach. Ce projet de restauration impliquera le dragage d'un volume de 27 000 m³ (volume estimé non foisonné et sans sur-dragage) sur une superficie d'environ 50 000 m². La carte marine du havre de Gaspé est reproduite à la figure 1. L'un des impacts anticipés de ce projet est la remise en suspension de sédiments contaminés dans la colonne d'eau et le transport de ceux-ci vers le havre de Gaspé lors des activités de dragage. Une modélisation numérique de la dispersion des sédiments dragués a été réalisée par Groupe-Conseil Lasalle (GCL) en octobre 2010. Les simulations de dispersion ont montré que l'emprise maximale du panache était limitée aux abords immédiats de la zone des travaux, avec une longueur maximale de l'ordre de 1 km en direction sud-est. En effet, il est prévu que les sables et silts grossiers constituant plus de la moitié des sédiments dragués, se redéposent rapidement au site des travaux. En ce qui a trait aux sédiments plus fins (silts fins et

argiles), ils devraient rester en suspension dans la colonne d'eau mais leur dilution devrait diminuer les concentrations à des valeurs acceptables dans un rayon rapproché du site des travaux. Il est important de souligner que l'étendue du panache calculée par le modèle numérique prenait comme référence une concentration de 2 mg/L de matières en suspension correspondant, selon le degré de contamination retenu pour les sédiments, à une concentration de 4 µg/L de cuivre et de 0,06 µg/L de HAP totaux.

Le havre de Gaspé compte plusieurs sites d'aquaculture. En effet, on retrouve une concentration de sites de mytiliculture et de pectiniculture approximativement à deux kilomètres au nord-ouest du site prévu des travaux. Les aquaculteurs qui utilisent ces sites sont préoccupés par les risques potentiels liés à la remise en suspension des sédiments contaminés sur leurs cultures, les moules et les pétoncles étant des organismes qui se nourrissent par filtration. Étant donné l'inquiétude exprimée par ces aquaculteurs, Transport Canada s'est engagé à développer et mettre en œuvre un programme de suivi de la contamination de la chair des mollusques en Cu (et autres métaux), composés organochlorés et HAP ainsi que de divers paramètres biologiques (c.-à-d. croissance, survie, etc.) pour les pétoncles et les moules cultivés dans le havre de Gaspé.

1.3 Les objectifs

Élaborer un programme de suivi permettant d'évaluer les impacts réels des activités de dragage devant avoir lieu dans le secteur du quai commercial de Gaspé sur les cultures de moules et de pétoncles qui se trouvent dans le havre de Gaspé.

La proposition d'un programme de suivi doit discuter des éléments suivants :

- Présence des contaminants ciblés et de la matière particulaire en suspension (MES) dans l'eau du secteur des travaux et d'un site témoin à l'embouchure du havre de Gaspé.
- Présence des contaminants ciblés dans les tissus des espèces bioindicatrices choisies.
- Réponse de paramètres biologiques choisis pour déterminer les effets néfastes des activités sur les espèces bioindicatrices.

- Traitement des données à l'intérieur d'un modèle (ou d'une approche statistique) permettant de déterminer l'ampleur des impacts sur le milieu et en particulier sur les élevages du havre de Gaspé.

1.4 Les contaminants ciblés

Les divers travaux d'analyse chimique dans les sédiments du secteur visé par les opérations de restauration ont montré la présence de cuivre et de plusieurs HAP mais il n'est pas exclu que certains autres contaminants, comme d'autres métaux et des composés organochlorés, puissent être présents dans les sédiments à draguer. Le principe de précaution incite Transports Canada à élargir la gamme des contaminants à prendre en considération par le protocole de suivi biologique et à y inclure 10 éléments chimiques les plus fréquemment considérés comme toxiques pour les organismes aquatiques et les humains (arsenic total, cadmium, chrome, cuivre, étain total, manganèse, mercure, nickel, plomb et zinc), les 16 HAP prioritaires (acénaphthène, acenaphthylène, anthracène, benz[*a*]anthracène, benzo[*a*]pyrène, benzo[*e*]pyrène, benzo[*b*]fluoranthène, benzo[*ghi*]pérylène, benzo[*j*]fluoranthène, benzo[*k*]fluoranthène, chrysène, dibenz(a,h)anthracène, fluoranthène, fluorène, phénanthrène, pyrène) et les principaux composés organochlorés, incluant les biphényles polychlorés (BPC – Aroclor® 1260), le DDT et le DDE, ainsi que l'hexachlorobenzène et le chlordan total.

Les métaux peuvent être présents à la fois en surface et à l'intérieur des particules en suspension et dissous dans l'eau et seront donc mesurés dans la matière particulaire en suspension (MES) et dans l'eau filtrée. Étant donné que les composés organiques (HAP et organochlorés) sont fortement hydrophobes et donc très faiblement solubles dans l'eau, ces composés seront extraits des échantillons d'eau sans filtration préalable. Enfin, notons que toutes les espèces chimiques (métaux, HAP et organochlorés) seront déterminées dans les espèces bioindicatrices.

2 La méthodologie

2.1 *Espèces indicatrices*

Comme indiqué à la section précédente, la problématique environnementale qui découle d'une opération de dragage est la remise en suspension de matières particulières de tailles variables et avec des propriétés physico-chimiques aussi très variables. Les particules minérales (sulfures et oxydes métalliques et minéraux divers) de tailles fines et plus grossières (silts et gravier) présentent généralement peu de risque pour le milieu aquatique pour trois raisons : 1) ces particules sont denses et voyagent peu par rapport au point de remise en suspension; 2) les métaux qui forment la structure minérale y sont très peu biodisponibles parce que leur solubilité est généralement très faible; 3) la surface plus ou moins cristalline de ces particules a de faibles capacités d'adsorption d'ions ou de molécules dissoutes dans l'eau. Par contre, les particules minérales très fines (principalement les argiles avec des tailles $<1 \mu\text{m}$) ainsi que les particules organiques de tailles très variées (phytoplancton, débris de plantes terrestres et d'organismes aquatiques, fèces, floccs bactériens, résidus de combustion, résidus de produits pétroliers) ont la capacité d'adsorber et de transporter à grande distance des substances toxiques, aussi bien des ions métalliques adsorbés que des molécules organiques hydrophobes comme les hydrocarbures et les organochlorés. Cette deuxième catégorie de particules constitue la source principale d'alimentation pour de nombreux invertébrés, principalement les filtreurs suspensivores et dépositivores ainsi que les fouisseurs benthiques.

De nombreux travaux de recherche ont démontré que les métaux et les molécules organiques adsorbés à la surface des particules fines d'argile et des particules organiques sont biodisponibles, c'est-à-dire que ces ions et molécules sont transférés en partie dans les tissus des organismes qui les mangent et que leur toxicité respective peut s'exercer sur diverses fonctions comme la croissance, la reproduction et la défense immunitaire. De plus, une bioaccumulation importante de composés toxiques peut rendre les organismes impropres à la consommation humaine.

L'utilisation de la moule bleue comme espèce indicatrice dans le cas de travaux de dragage en zone estuarienne et côtière est très répandue. De nombreux travaux récents,

publiés dans la littérature internationale, en font mention (Bellas et al., 2007; Bergen et al., 2005; Bocchetti et al., 2008, parmi plusieurs autres). Le choix de la moule bleue (*Mytilus edulis*) s'impose d'emblée puisque cette espèce est présente dans la baie de Gaspé, qu'elle est tolérante aux variations de salinité et qu'elle est exploitée commercialement en culture dans le havre de Gaspé.

Dans le cas présent, l'utilisation du pétoncle (*Platopecten magellanicus*) comme deuxième espèce indicatrice est de mise puisqu'il est naturellement présent dans la baie et qu'il est aussi en culture dans le havre. Il s'agit d'un filtreur suspensivore comme la moule et devrait donc fournir des informations relativement similaires à celles provenant de la moule en termes de bioaccumulation. Les effets toxiques sur la croissance ou le stress peuvent toutefois être différents. La comparaison des données provenant des deux espèces présente un intérêt certain.

Le protocole pour le suivi biologique vise donc, d'une part, à documenter la présence de matière particulaire en suspension enrichie en métaux, HAP et organochlorés dans l'ensemble du havre de Gaspé avant, pendant et après les opérations de dragage et, d'autre part, à utiliser la moule bleue et le pétoncle comme indicateurs d'une bioaccumulation de ces substances dans les tissus biologiques et d'en déterminer les effets toxiques potentiels.

2.2 Méthode d'exposition

La technique de mise en cage (caging) de moules et autres espèces est fréquemment utilisée pour des besoins de monitoring de contaminants (Mzoughi et Chouba, 2012 ; Turja et al., 2013). La méthode présente de multiples avantages pratiques à la fois pour l'échantillonnage à des périodes prédéterminées et aussi pour l'homogénéité des échantillons pour l'ensemble de la zone à étudier et pour le traitement des données. L'échantillonnage directement sur les boudins d'élevage pour les moules et les paniers pour les pétoncles présentent des contraintes quant à l'accessibilité des sites et à la possible hétérogénéité des échantillons, étant donné que les moules et pétoncles n'auraient pas été sélectionnés avant les travaux de monitoring. Des données

morphométriques doivent être obtenues pour les moules et pétoncles avant la mise en cage.

2.2.1 Mise en cage des moules

Afin de réduire au minimum le stress causé par la mise en cage et la transplantation, les moules adultes doivent provenir d'une ferme d'élevage se trouvant dans le havre.

- Prélever, nettoyer et trier avec soin 1200 moules de taille $3,5 \pm 0,1$ cm
- Former 24 groupes de 50 moules chacun et peser avec précision chacun des groupes afin de déterminer le poids moyen de chaque moule. Le poids moyen des moules et leur taille moyenne seront déterminés pendant et à la fin des travaux de biomonitorage. Répartir les groupes dans 24 cages identiques en plastique rigide (approximativement 30 x 30 x 30 cm, voir un exemple à la figure 2) avec une maille d'au plus 0,5 cm pour permettre une libre circulation de l'eau et empêcher l'entrée de prédateurs. Pour chaque station, il y a 8 cages de 50 moules chacune.
- Remettre les cages à l'eau à proximité du lieu d'échantillonnage et à la même profondeur pour 5 à 7 jours avant l'installation sur les sites pour permettre aux moules de s'attacher à la cage et réduire le stress de la transplantation. Vérifier la mortalité avant la transplantation et remplacer les moules manquantes, si nécessaire.
- La mise en place des cages est faite à l'aide d'une ancre, d'un cordage de nylon et d'une bouée de surface. Les cages sont disposées à environ 7 m de la surface et installées de façon à ce qu'elles ne touchent pas le fond à marée basse. Le dispositif final d'installation des cages de façon sécuritaire et permettant l'échantillonnage des bioindicateurs devra être testé et approuvé dans les mois précédant les opérations.

2.2.2 Mise en cage des pétoncles

Une méthode similaire à celle décrite pour les moules doit être utilisée pour choisir et préparer les pétoncles. De petits pétoncles de 5 à 7 cm devront être utilisés et disposés dans des cages similaires à celles utilisées par les éleveurs (voir Girault et al., 2005). La densité des pétoncles par plateau (ou niveau dans la cage) sera identique à celle utilisée par les éleveurs afin de minimiser le stress de la manutention et du transfert. De même que pour les moules, les pétoncles seront triés avec soin, nettoyés et mesurés de façon à obtenir une classe de taille très étroite (exemple : $5,0 \pm 0,2$ cm). Les groupes sont identifiés et pesés avec précision avant d'être disposés dans les cages. Pour chaque station, il sera nécessaire de disposer de 8 groupes de 50 pétoncles chacun pour un total de 1200 pétoncles pour les 3 stations. Cependant, le nombre total à utiliser pourra varier selon la taille des pétoncles disponibles provenant des élevages du havre. Si les pétoncles sont plus gros, on pourra en utiliser un plus petit nombre.

2.3 Le positionnement des stations et échantillonnage

2.3.1 Les sites d'échantillonnage

À partir des considérations et objectifs énoncés précédemment, il est proposé d'établir 6 stations d'échantillonnage d'eau (Figure 1), dont 3 sont aussi utilisées pour les bioindicateurs, réparties comme suit :

- #1 : Bassin du Sud-Ouest (48°49'24''N; 64°29'20''O) (physico-chimie)
- #2 : Bassin du Nord-Ouest (48°51'48''N; 64°29'48''O) (physico-chimie)
- #3 : Ferme marine (48°50'36''N; 64°27'00''O) (physico-chimie + bioindicateurs)
- #4 : Centre nord du havre (48°50'18''N; 64°25'48''O) (physico-chimie + bioindicateurs)
- #5 : Zone à proximité des travaux (48°49'36''N; 64°25'48''O) (physico-chimie)
- #6 : Sortie du havre (48°50'46''N; 64°24'26''O) (physico-chimie + bioindicateurs)

Les stations #1 et #2 permettent de suivre la qualité des eaux (salinité, température, MES) qui se déplacent à l'embouchure des deux rivières et de déterminer la présence de particules chargées en contaminants provenant des travaux ou de toute autre source. Les stations #3 et #4 servent à suivre la qualité des eaux à l'intérieur du havre et à déterminer la présence et les effets des contaminants chez les deux espèces bioindicatrices proposées. La station #3 est localisée à proximité des sites d'élevage et permet de suivre l'arrivée possible de contaminants dans le secteur tandis que la station #4 permet de déterminer la présence de contaminants dans la partie centre-nord du havre avant que ceux-ci n'atteignent la zone d'aquaculture. La station #5 sert de position avancée permettant de déclencher une action préventive (ou corrective) si les opérations laissent s'échapper des particules contaminées. Enfin, la station #6 est une station de contrôle sur l'ensemble des opérations qui permet d'évaluer la possible sortie de contaminants vers la baie à la fois pour la physico-chimie et les bioindicateurs.

2.3.2 Échantillonnage pour la physico-chimie

L'objectif pour le prélèvement d'eau est de déterminer : 1) la masse de matière particulaire en suspension (MES) par volume d'eau; 2) les concentrations des métaux et composés organiques dans la MES; 3) des métaux dissous dans l'eau après filtration. Afin de pouvoir comprendre et interpréter ces données et celles fournies par les bioindicateurs, il est nécessaire de les coupler à des données de température, salinité et fluorescence. Les données de fluorescence fournissent une approximation de l'abondance du phytoplancton et une indication sur la disponibilité de nourriture pour les deux espèces bioindicatrices. On peut aussi y ajouter les mesures d'une sonde à oxygène dissous qui permet de déterminer la présence d'eau pauvre en oxygène pouvant expliquer des mortalités ou des retards de croissance.

Les 4 types de mesures sont disponibles sur une sonde multiparamétrique (type CTD) couramment utilisée en océanographie. Ce type de sonde peut être manipulé par deux personnes sur une embarcation de petite taille (type zodiac) sans installation particulière.

Les échantillons d'eau sont prélevés à une profondeur de 7 m à l'aide d'une bouteille de type Niskin (5 litres) pouvant être descendue en position ouverte et être refermée à la profondeur indiquée.

Avant chaque série d'échantillonnage, il est requis de :

- Préparer la sonde CTD et vérifier son bon fonctionnement selon les règles d'opération établies par le fabricant.
- Préparer pour chaque station deux bouteilles de 2 litres en polypropylène haute densité (HDPP) par un rinçage avec une solution diluée d'acide chlorhydrique (20 ml de HCl 0,1M) pour éliminer toute trace de métaux adsorbée, suivi de deux rinçages (50 ml chacun) à l'eau distillée (ou déionisée) pour éliminer les résidus d'acide, suivi d'un rinçage final avec 20 ml d'éthanol sec (100%) pour éliminer tout résidu organique. Sécher à l'air quelques minutes et refermer soigneusement.
- Pour les bioindicateurs, apporter des sacs Ziploc (grands pour congélateur) et une grande glacière à demi remplie de glace concassée.
- Tous les échantillonnages sont faits à l'étape de marée haute sur une période qui ne devrait pas excéder 3 heures au total pour toutes les stations. Si le temps est insuffisant ou la météo n'est pas propice, l'échantillonnage peut être poursuivi à la prochaine marée.

2.3.3 Déroulement des opérations pour la physico-chimie

Pour chacune des 6 stations, la méthode de travail est la suivante :

- Déterminer avec précision la position de l'embarcation avec un GPS et noter au livre de bord.
- Descendre lentement la sonde CTD jusqu'à 2 m du fond et remonter lentement. L'appareil doit pouvoir stocker plusieurs séries de mesure. Si non, transférer les données sur un ordinateur portable.
- Noter la profondeur du site qui peut fluctuer selon la position et la marée.
- Utiliser la bouteille Niskin pour prélever 5 litres d'eau à 5 m (stations #1 et 2) et à 10 m pour les autres.

- En utilisant des gants pour la personne préposée au remplissage des bouteilles de 2 litres, rincer les bouteilles avec 100 ml d'eau provenant de la Niskin, ensuite remplir les bouteilles jusqu'à l'épaule et refermer soigneusement.
- Étiqueter les échantillons et ranger à l'abri de la lumière.

N.B. Les échantillons pour les HAP, organochlorés et métaux traces sont facilement contaminés par les hydrocarbures à bord des embarcations et la fumée de cigarette! La plus grande rigueur s'impose lors de l'échantillonnage.

2.3.4 Échantillonnage pour les bioindicateurs

Les opérations pour les bioindicateurs se déroulent comme suit :

- Remonter les cages de moules et pétoncles et les poser sur l'embarcation;
- Ouvrir chacune des cages et prélever d'abord les coquilles vides pour déterminer le nombre de morts par cage pour les moules et par plateau pour les pétoncles. Conserver ces coquilles avec le numéro de la cage (ou plateau) dans un sac plastique Ziploc.
- Prélever 10 moules au hasard dans chacune des 8 cages à moules. Préserver immédiatement dans 8 sacs Ziploc et déposer dans la glacière.
- Répéter l'opération en prélevant 10 pétoncles (à déterminer selon la taille) dans les 8 plateaux et préserver comme pour les moules dans 8 sacs distincts avec le numéro du plateau.
- Remettre les cages en place et à la même profondeur.

2.4 Travaux au retour de l'échantillonnage en mer

Les bouteilles d'eau doivent être protégées de la lumière tout au long du processus. Les bouteilles de même que les échantillons biologiques doivent être gardés sur la glace concassée et expédiés dans les plus brefs délais au laboratoire d'analyse.

2.4.1 Réception des échantillons d'eau et traitement immédiat

- Les échantillons d'eau ayant été prélevés en duplicata, une seule des deux bouteilles est filtrée sur filtre 0,45 µm, pré-calciné et pré-pesé avec précision.
- Le volume maximum d'eau filtrée avant colmatage du filtre dépend de la charge particulaire et doit être noté avec précision pour chaque échantillon.
- Le système de filtration doit permettre de recueillir 500 ml d'eau filtrée pour l'analyse des métaux dissous.
- Les filtres sont séchés 24h à 100 °C et pesés avec précision pour déterminer la masse de la MES par rapport au volume filtré.
- La deuxième bouteille de 2L est conservée au noir et au réfrigérateur pour l'analyse des HAP et organochlorés comme décrite ci-après.

2.4.2 Réception des échantillons de biologie et traitement immédiat

- Dès réception et dans les 24h de l'échantillonnage, les moules et les pétoncles doivent être nettoyés pour éliminer les organismes attachés, mesurés individuellement ($\pm 0,1$ cm) et pesés par groupe pour déterminer la croissance en longueur et en biomasse moyenne pour chacune des cages ou plateaux.
- Pour 4 des 8 groupes d'une station (choisis au hasard), prélever tous les tissus mous des 10 moules par groupe et former un pool pour chaque groupe en utilisant des instruments de dissection nettoyés à l'éthanol 100% entre chaque organisme. De même, les tissus mous des pétoncles doivent former 4 pools par station. Répéter les mêmes opérations pour les deux autres stations.
- Homogénéiser finement les tissus de chacun des 4 groupes de moules et 4 groupes de pétoncles avec un «blender» commercial et préserver les homogénats dans des pots de verre (50 mL) préalablement rincés successivement avec HCl (0,1 M), de l'eau déionisée (3 x 20 mL) et de l'éthanol (20 mL). Tous les pots d'homogénats sont conservés à la congélation à -20 °C. Un pot de moules et un pot de pétoncles par station sont conservés comme réserve en cas de reprise des analyses.

- Après congélation, sécher à froid 3 pots d'homogénat pour chacune des espèces (N=3) et broyer finement les tissus. Conserver au sec et au noir dans des pots de verre prétraités comme indiqués précédemment.
- Pour les 4 autres groupes de moules et de pétoncles de chaque station, ouvrir les moules et les pétoncles et prélever seulement l'hépatopancréas (masse brune-noirâtre) et former un pool pour chaque groupe et chaque espèce. Ne pas homogénéiser à cette étape-ci.
- Congeler immédiatement les pools d'hépatopancréas à -78 °C pour l'analyse ultérieure des activités enzymatiques. De même que précédemment, les analyses seront menées sur 3 pots par espèce (N=3) en gardant un pot en cas de reprise des analyses.

2.5 Analyses chimiques

2.5.1 Analyse des éléments chimiques

- Analyse des éléments chimiques dans la MES (filtres secs) et dissous dans l'eau par plasma induit couplé à la spectrométrie de masse (ICPMS) selon le protocole proposé par l'ASTM D1971(American Society for Testing and Materials) pour l'analyse des éléments traces dans la MES et l'eau de mer.
- Analyse des éléments chimiques par ICPMS après une digestion complète des tissus biologiques secs à l'acide nitrique concentré selon le protocole proposé par l'ASTM pour l'analyse des métaux traces dans les tissus biologiques.

2.5.2 Analyse des HAP et composés organochlorés

- Pour l'eau, un volume de 750 ml est prélevé de la bouteille d'échantillonnage (après une vigoureuse agitation) et transféré dans une ampoule à décantation d'un litre. Le reste de l'eau est préservé pour vérification ultérieure, si nécessaire.

- Le volume d'eau est extrait avec 2 x 10 ml d'hexane:toluène (9 :1). L'extrait est purifié sur colonne de silice et le volume est réduit à 2 mL.
- Les HAP et les organochlorés de l'extrait sont analysés et quantifiés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse selon les protocoles proposés par Environnement Canada pour l'analyse des HAP et organochlorés dans les eaux.
- Pour les tissus biologiques, les méthodes publiées par EPA et AOAC seront utilisées (voir références).

Tous les résultats sont rapportés en µg/g sec pour la MPS et les tissus biologiques et en ng/litre pour l'eau.

2.6 Analyses biochimiques

En plus des données de croissance de longueur de coquille et de biomasse, il est nécessaire de déterminer la réponse de quelques indicateurs biochimiques qui permettent de mesurer le niveau de stress subi par les organismes et leur capacité à se défendre de l'agression chimique. De multiples bioindicateurs ont été décrits dans la littérature, en particulier pour les bivalves en cage lors de travaux de biomonitoring (Bellas et al., 2007; Bocchetti et al., 2008; Turja et al., 2013 et plusieurs autres). Le choix demeure difficile car les réponses biochimiques sont parfois variables et difficiles à interpréter. Malgré tout, les mesures de l'activité de la catalase (CAT) et de la SOD (superoxyde dismutase) produisent généralement des résultats bien corrélés avec le niveau d'exposition des organismes à des substances toxiques. Les deux tests sont réalisés sur des tissus frais ou préservés à -78 °C. Les protocoles d'analyse sont standardisés et bien décrits pour des espèces marines (Clairborne, 1985; Mccord and Fridovic, 1969).

3 Calendrier des échantillonnages

3.1 Échantillonnage de l'eau pour toutes les stations

- Deux fois dans les semaines précédant le début des travaux : soit un échantillonnage en même temps que la mise en place des bioindicateurs et un autre au même moment que le premier échantillonnage des bioindicateurs.
- Deux fois par semaine pendant la durée des opérations de dragage.
- Une fois environ 4 semaines après la fin des travaux en même temps que les bioindicateurs.
- Une dernière fois 4 à 6 mois après la fin des travaux (i.e. printemps suivant).

La fréquence d'échantillonnage de la station #5 pourra être augmentée pendant les travaux si les premières données chimiques indiquent la présence de contaminants dans les particules en suspension ou si la re-suspension des particules fines est visible sur place.

3.2 Échantillonnage des moules et pétoncles

La disponibilité des 50 moules par cage permet un maximum théorique de 5 échantillonnages biologiques à raison de 10 moules pour chacune des 8 cages, de même pour les pétoncles à 10 par plateau (total 50) et pour les 8 plateaux. Comme indiqué précédemment, 4 groupes de moules (ou pétoncles) sont utilisés pour la chimie (analyse en triplicata et un groupe en réserve) et les 4 autres groupes sont utilisés pour les biomarqueurs (analyse biochimique en triplicata et un groupe en réserve). Une perte même importante de moules et pétoncles en cours d'opération à une station donnée ne mettrait pas en danger le protocole d'échantillonnage étant donné le nombre important de répliques. Aussi, il serait possible de prélever moins de moules ou pétoncles par échantillonnage sans compromettre l'intégrité des échantillons.

On prévoit donc un prélèvement avant le début des travaux, 3 autres pendant le déroulement des travaux et un dernier après la fin du projet.

- Mise en place des cages si possible 6 à 8 semaines avant le début des travaux.
- Vérification des mortalités et remplacement des organismes si nécessaire.
- Un échantillonnage à quelques jours avant le début des travaux.
- Trois échantillonnages pendant les travaux répartis également dans le temps.
- Un dernier échantillonnage de 4 à 6 semaines après la fin des travaux pour voir la dépuración naturelle et la récupération. Cet échantillonnage doit être fait avant la prise de la glace qui peut détruire le mouillage des cages.

N.B. Des essais préliminaires pour la mise en cage des moules et des pétoncles, la méthode d'installation des cages et la détermination de la mortalité naturelle liée au stress de la transplantation pourront être menés à l'été précédent les opérations.

4 La méthode de traitement des données et quantification des impacts

4.1 Liste des données fournies par les travaux de monitoring

Les différentes mesures en mer et les différentes analyses sur les échantillons d'eau et les bioindicateurs fourniront les données suivantes :

- Salinité, température, fluorescence et oxygène dissous dans l'eau;
- Charge particulaire en suspension dans l'eau à toutes les périodes du projet;
- Métaux (en particulier Cu) particulaires et dissous dans l'eau et métaux bioaccumulés dans les deux espèces de bivalves;
- HAP et composés organochlorés particulaires et bioaccumulés dans les bivalves;
- Taux de mortalité en fonction du temps;
- Taux de croissance en taille et en biomasse en fonction du temps;
- Données biochimiques des enzymes indicatrices.

4.2 Traitement et utilisation des données

Pour que ce suivi soit efficace et utile, il est nécessaire que les données soient immédiatement disponibles au fur et à mesure des échantillonnages. Ainsi, l'utilisation des données brutes les plus importantes (teneurs en métaux, organochlorés et HAP dans les particules et les organismes) implique que les analyses chimiques soient réalisées dans un court délai (une semaine) après la mise à disposition des échantillons. Cette contrainte implique une entente spécifique avec le laboratoire d'analyse pour l'obtention rapide des résultats.

Ainsi, une augmentation importante des teneurs en métaux (et en particulier du Cu), organochlorés et HAP dans le MPS et les bioindicateurs devra entraîner une réaction rapide de Transports Canada ou son mandataire quant à la gestion du projet et aux mesures à prendre pour réduire les impacts sur le havre et les fermes aquicoles.

Dans un deuxième temps, les diverses données mentionnées ci-haut seront utilisées pour évaluer les impacts des opérations sur l'ensemble de la zone étudiée et sur toute la période des opérations en incluant une période pré-projet et une période post-projet.

L'approche proposée a été décrite par Bellas et al. (2007) lors du suivi des composés organiques et des métaux traces dans un projet de dragage dans un estuaire de Suède en utilisant des moules en cage. La similitude du projet suédois avec celui du port de Gaspé permet de faire un rapprochement très utile. Les étapes du traitement de données sont :

- Présentation des données sous la forme de tableaux et de graphiques pour illustrer les changements en fonction du temps.
- Comparaison des données chimiques de la qualité de l'eau avec les données chimiques dans les organismes.
- Comparaison des réponses biologiques des deux espèces indicatrices.
- Tests ANOVA et Tukey pour déterminer les différences significatives entre les sites.
- Analyse de corrélation entre les données chimiques et les données biologiques de mortalité et de croissance.
- Approche statistique par analyse de clusters pour classifier les divers sites en fonction de leur localisation et des périodes d'échantillonnage.

5 Références

AOAC Official Method 983.21 Organochlorine Pesticide and Polychlorinated Biphenyl Residues in Fish. Gas Chromatographic

AOAC SMPR 2012.007 Standard Method Performance Requirements for Heavy Metals in a Variety of Foods

ASTM D1971 - 11 Standard Practices for Digestion of Water Samples for Determination of Metals by Flame Atomic Absorption, Graphite Furnace Atomic Absorption, Plasma Emission Spectroscopy, or Plasma Mass Spectrometry

Bellas J. et al., 2007. Monitoring of organic compounds and trace metals during a dredging episode in the Göta Älv Estuary (SW Sweden) using caged mussels. *Water Air Soil Pollut.* 181: 265-279.

Bergen, B.J. et al., 2005. Environmental monitoring of remedial dredging at the New Bedford Harbor, MA, superfund site. *Environ. Monitor Ass.* 11: 257-275

Bocchetti, R. et al., 2008. Contaminant accumulation and biomarker responses in caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. *Aquat. Toxicol.*, 89: 257-266.

Clairborne, A. 1985. Catalase activity, In: Greenwald, R.A. (Ed.) *Handbook of Methods in Oxygen Radical Research*, CRC Press, Boca Raton, pp.283-284.

EPA, Method 3540C. Soxhlet Extraction: Procedure for Extracting Nonvolatile and Semivolatile Organic Compounds.

EPA Method 1668B Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS

Girault L., M.-L. Larrivée et E. Tamigneaux. 2005. *Projet expérimental : comparaison de cinq techniques d'élevage de pétoncles géants, dans la baie de Gaspé*. Rapport final 2001-2004, 73 p.

Mccord, J.M. et I. Fridovic, 1979. Superoxide dismutase an enzyme function for erythrocyte (hemocyte). *J. boil. Chem.*, 244: 6049-6053.

Mzoughi, N et I. Chouba, 2012. heavy metals and PAH assessment based on mussel caging in the north coast of Tunisia (Mediterranean Sea). *Int. J. Environ. Res.* 6: 109-118.

Turja, R ert al., 2013. Biomarker responses and accumulation of hazardous substances in mussels (*Mytilus trossulus*) transplanted along a pollution gradient close to an oil terminal in the Gulf of Finland (Baltic sea). *Compar. Biochem. Physiol., part C* 157; 80-92

Figure 1: Positionnement des stations d'échantillonnage.

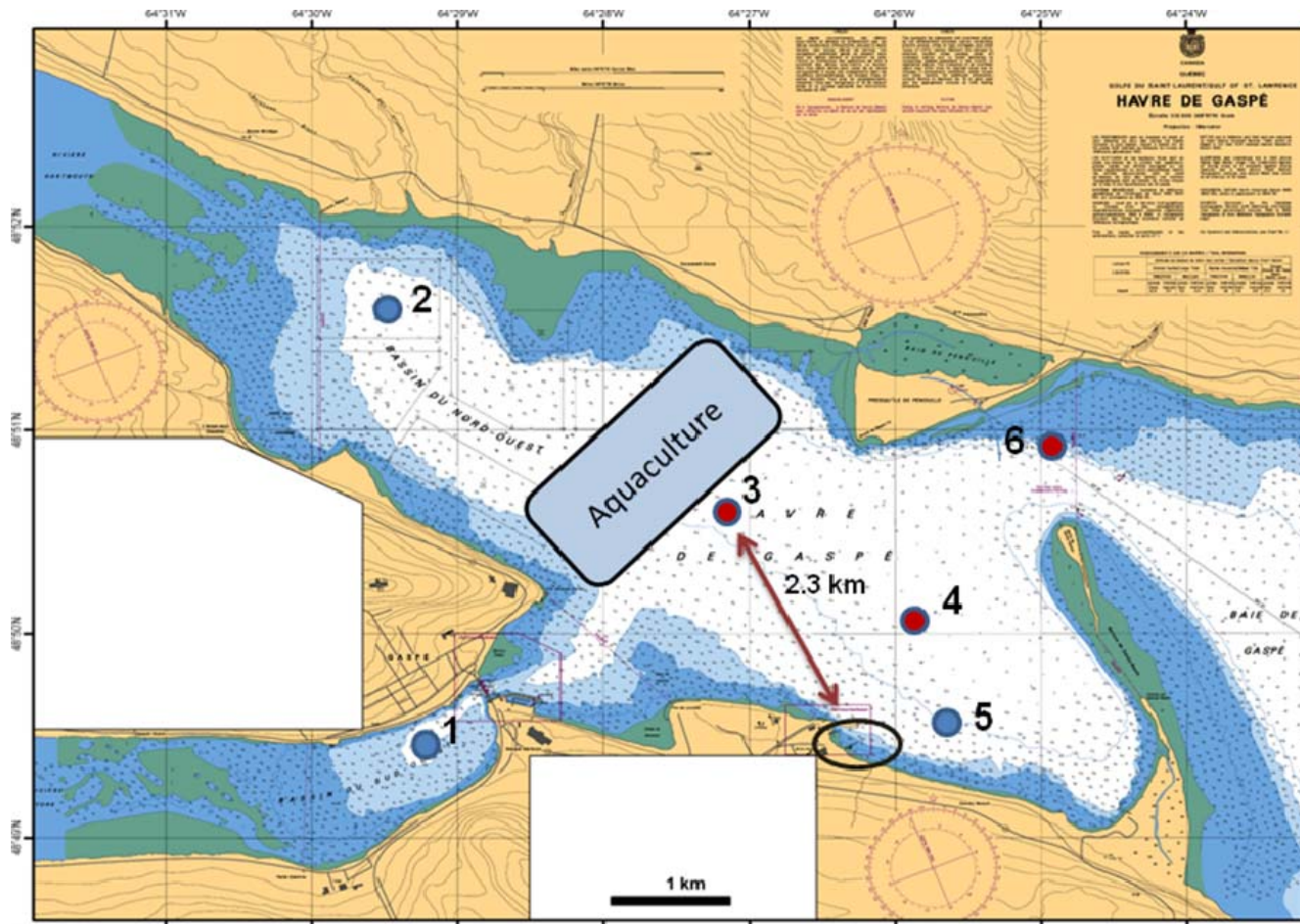


Figure 2. Type de cages suggérées pour les moules.

