



# Conseil

Distr. générale  
31 janvier 2022  
Français  
Original : anglais

## Vingt-septième session

### Conseil, première partie de la session

Kingston, 21 mars-1<sup>er</sup> avril 2022

Point 11 de l'ordre du jour\*

### Projet de règlement relatif à l'exploitation des ressources minérales dans la Zone

## Projet de directives relatives à la production de données environnementales de référence

Document établi par la Commission juridique et technique

## Table des matières

	<i>Page</i>
I. Introduction . . . . .	4
II. Objet et portée . . . . .	4
III. Échantillonnage et acquisition de données . . . . .	5
A. Variabilité spatiale et temporelle . . . . .	6
B. Adaptabilité des stratégies d'échantillonnage . . . . .	10
C. Coordination et coopération . . . . .	11
D. Qualité des données . . . . .	12
E. Gestion des données et des échantillons . . . . .	13
IV. Océanographie physique . . . . .	14
A. Introduction . . . . .	14
B. Résolution de l'échantillonnage . . . . .	15
C. Variable mesurée : température et salinité . . . . .	16
D. Variable mesurée : courants . . . . .	17
E. Variable mesurée : marées et vagues . . . . .	18
F. Variable mesurée : turbulence . . . . .	18

\* ISBA/27/C/L.1.



G.	Variable mesurée : propriétés optiques . . . . .	19
H.	Variable mesurée : bruit . . . . .	21
I.	Qualité des données . . . . .	21
J.	Gestion des données . . . . .	23
V.	Océanographie chimique et biogéochimie . . . . .	23
A.	Introduction . . . . .	23
B.	Méthodologie générale . . . . .	25
C.	Résolution de l'échantillonnage . . . . .	27
D.	Variable mesurée : nutriments . . . . .	28
E.	Variable mesurée : oxygène . . . . .	29
F.	Variable mesurée : système des carbonates . . . . .	31
G.	Variable mesurée : métaux traces . . . . .	33
H.	Variable mesurée : matières organiques et inorganiques . . . . .	35
I.	Variable mesurée : traceurs des isotopes radioactifs (radiotraceurs) . . . . .	39
J.	Qualité des données . . . . .	40
K.	Gestion des données . . . . .	41
VI.	Propriétés géologiques . . . . .	42
A.	Introduction . . . . .	42
B.	Méthodologie générale . . . . .	42
C.	Résolution de l'échantillonnage . . . . .	43
D.	Variable mesurée : bathymétrie . . . . .	43
E.	Variable mesurée : propriétés des sédiments . . . . .	43
F.	Classification de l'habitat . . . . .	45
G.	Qualité des données . . . . .	45
H.	Gestion des données . . . . .	46
VII.	Communautés biologiques . . . . .	46
A.	Introduction . . . . .	46
B.	Méthodologie générale . . . . .	47
C.	Résolution de l'échantillonnage . . . . .	47
D.	Variable mesurée : communautés pélagiques . . . . .	49
E.	Variable mesurée : communautés benthiques . . . . .	51
F.	Variable mesurée : connectivité . . . . .	61
G.	Variable mesurée : fonctionnement de l'écosystème . . . . .	63
H.	Variable mesurée : écotoxicologie . . . . .	66
I.	Variable mesurée : mammifères marins, requins, tortues et necton de surface . . . . .	67
J.	Variable mesurée : oiseaux marins . . . . .	68

---

K.	Qualité des données .....	69
L.	Gestion des données .....	71
VIII.	Bibliographie .....	72
IX.	Abréviations et acronymes .....	86

## I. Introduction

1. La notice d'impact sur l'environnement que doit établir et soumettre le demandeur d'approbation d'un plan de travail en vertu du règlement relatif à l'exploitation des ressources minérales dans la Zone (règlement relatif à l'exploitation) doit reposer sur les données environnementales de référence retenues dans le cadre d'un contrat d'exploration conformément aux dispositions pertinentes du Règlement relatif à l'exploration et aux clauses et conditions du contrat d'exploitation.

2. Les présentes directives portent principalement sur les nodules polymétalliques des grands fonds marins qui se trouvent dans le centre et le nord-ouest de l'océan Pacifique et dans l'océan Indien. Certains éléments peuvent ne pas s'appliquer à tous les types de minéraux. D'autres versions seront publiées à l'avenir pour couvrir les dépôts massifs de sulfures polymétalliques sur le fond marin et les encroûtements cobaltifères de ferromanganèse.

3. Les présentes directives offrent des orientations sur la manière dont les demandeurs ou contractants peuvent satisfaire aux exigences relatives à l'acquisition de données océanographiques et environnementales de référence. Elles s'appuient sur les recommandations à l'intention des contractants en vue de l'évaluation d'éventuels impacts sur l'environnement liés à l'exploration des minéraux marins dans la Zone ([ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) et [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#)) et doivent être lues de pair avec lesdites recommandations.

4. Les présentes directives doivent être lues conjointement avec le règlement relatif à l'exploitation, les dispositions pertinentes du Règlement relatif à l'exploration, les autres règles, règlements et procédures pertinents de l'Autorité internationale des fonds marins et les autres normes et directives pertinentes, y compris, mais sans s'y limiter, celles qui concernent :

- a) le processus d'étude de l'impact sur l'environnement ;
- b) l'établissement de la notice d'impact sur l'environnement ;
- c) l'élaboration des plans de gestion de l'environnement et de suivi ;
- d) l'élaboration et la mise en œuvre des systèmes de management environnemental.

5. En cas d'incompatibilité entre les présentes directives et le règlement relatif à l'exploitation, y compris ses annexes, ou toute norme, ce sont le règlement (annexes comprises) et les normes qui prévalent.

## II. Objet et portée

6. L'objectif principal de l'acquisition de données de référence est de déterminer les caractéristiques de l'environnement existant afin que les impacts possibles de l'exploration et de l'exploitation sur le milieu marin puissent être évalués avant que ces activités aient lieu. Les données de référence permettent également de définir les méthodes à retenir et constituent la base de la surveillance à long terme des impacts sur l'environnement, ce qui leur permet d'étayer efficacement les études d'impact sur l'environnement et les plans de gestion de l'environnement et de suivi une fois que l'exploitation a commencé.

7. Lorsque la notice d'impact sur l'environnement est soumise, il incombe au demandeur d'approbation d'un plan de travail de fournir l'assurance qu'aucun impact ne dépassera les seuils pertinents. Les présentes directives n'ont pas pour objet de

fixer ces seuils, ni d'aborder les questions de protection de l'environnement qui doivent être prises en compte à ce stade. Il incombe au demandeur d'expliquer comment les données de référence ont été utilisées pour tirer des conclusions sur les impacts possibles à ce moment. Les mesures de gestion sont déterminées lors de la soumission du plan de travail, car elles dépendent des données de référence obtenues et des conclusions tirées par le demandeur, qui sont évaluées à l'aune des normes en vigueur dans la communauté scientifique à ce moment-là. Il incombe donc aux demandeurs de s'assurer que les données sont adaptées à leur finalité. En outre, les données de référence fournies permettent d'étayer les plans régionaux de gestion de l'environnement.

8. Un échantillonnage bien conçu est la pierre angulaire des études et de la surveillance de l'environnement. Si les échantillons ne sont pas prélevés en nombre suffisant, avec une couverture spatiale suffisante ou avec l'équipement adéquat, conformément aux meilleures techniques disponibles et aux bonnes pratiques industrielles, toutes les données et analyses ultérieures seront faussées ou compromises. Le respect de ces bonnes pratiques garantit également que l'échantillonnage n'a pas d'impact supplémentaire inutile sur l'environnement.

9. Les présentes directives offrent des orientations sur les aspects suivants :

a) Portée et couverture des données de référence requises pour déterminer les caractéristiques physiques, chimiques et géologiques et les populations biologiques vivant dans la Zone et la colonne d'eau qui peuvent être influencées par les activités d'exploitation, et normes y afférentes ;

b) Procédures d'examen et d'évaluation permettant de déterminer la qualité des données environnementales de référence et la rigueur statistique requise pour détecter et différencier les changements par rapport aux niveaux de référence ou niveaux naturels ;

c) Gestion des données, notamment en ce qui concerne les métadonnées qui doivent accompagner les données soumises et la communication des données environnementales de référence.

10. Dans les présentes directives, les données de référence à recueillir sont regroupées sous les rubriques suivantes :

- a) Océanographie physique ;
- b) Océanographie chimique et biogéochimie ;
- c) Propriétés géologiques ;
- d) Populations biologiques.

### III. Échantillonnage et acquisition de données

11. Les données de référence doivent être multidisciplinaires afin de permettre une évaluation complète de l'état de l'environnement et des processus y afférents. L'échantillonnage et la réplication sont nécessaires pour dresser un tableau exact de l'environnement qui permettra de repérer les changements et de déterminer s'ils sont causés par les activités d'extraction ou, au contraire, s'ils résultent de variations et tendances spatiales et temporelles naturelles ou d'une activité anthropogénique non liée à l'exploitation minière. Sans ces connaissances, il ne serait pas possible d'imputer à d'autres causes qu'aux activités d'exploitation les changements constatés pendant les activités d'extraction par rapport aux conditions préalables à l'exploitation. Par conséquent, il faut recueillir des informations complètes sur la

variabilité naturelle des conditions de référence avant de commencer la phase d'exploitation commerciale.

## A. Variabilité spatiale et temporelle

12. L'ampleur et les échelles spatiotemporelles de la variabilité sont susceptibles de différer selon les variables et les composantes de l'écosystème. Par conséquent, la réplification et la fréquence requises pour traiter la variabilité peuvent également varier selon les composantes. Pour obtenir une bonne couverture de la variabilité temporelle et spatiale et réduire l'incertitude associée aux données, il convient d'obtenir des observations répliquées afin de détecter les changements en fonction du temps (saisons, variabilité interannuelle) et de l'espace (horizontal et vertical), et de les différencier selon les régions.

13. Il convient de déterminer les sites d'échantillonnage de référence en fonction des exigences de surveillance qui seront en vigueur pendant les activités d'extraction futures. Ils doivent donc être situés de manière à pouvoir servir ultérieurement de zones témoin d'impact et de zones témoin de préservation. Ils doivent également être établis en nombre suffisant pour que les effets liés aux impacts directs et indirects puissent être traités avec la rigueur statistique nécessaire. Lors du choix de la disposition, il faut tenir compte de conditions telles que les variations naturelles des conditions océaniques, y compris la direction des courants océaniques, les grandes caractéristiques topographiques et le type de substrat (par exemple, substrats mous et durs), car elles auront une influence sur la direction dans laquelle et la distance sur laquelle les panaches de particules sédimentaires générés par l'engin de ramassage peuvent se disperser et se redéposer.

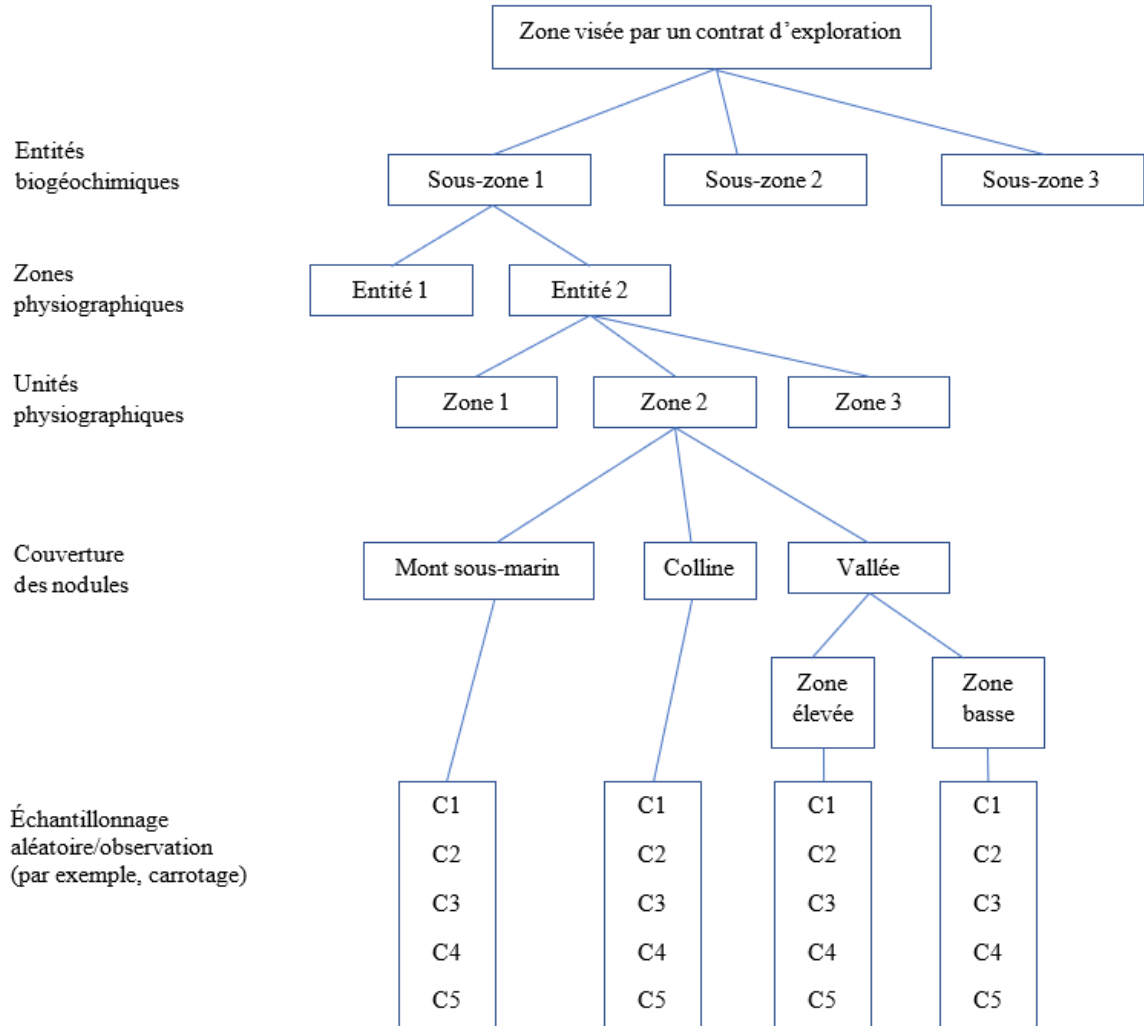
14. Pour déterminer les biomes à grande échelle pertinents, il convient de consulter les références standard pour la biogéographie océanique mondiale : voir, par exemple, Longhurst (1998) pour le milieu épipélagique, Sutton *et al.* (2017) pour le milieu mésopélagique et Watling *et al.* (2013) pour le milieu benthique. Les nouvelles biogéographies font actuellement l'objet de recherches, tout comme les biorégionalisations, également appelées cartes d'habitat à grande échelle, qui pourraient déboucher sur un outil plus pratique à l'appui des approches de la gestion spatiale (McQuaid *et al.*, 2020). Les unités écologiques marines de l'Esri ([www.esri.com/en-us/about/science/ecological-marine-units/overview](http://www.esri.com/en-us/about/science/ecological-marine-units/overview)) peuvent constituer une référence utile, mais ne remplacent pas la collecte et l'analyse de données supplémentaires propres au site. Il faut cartographier les principaux courants dans toute la colonne d'eau et déterminer les caractéristiques pertinentes de méso-échelle et de sous-méso-échelle dans la zone d'échantillonnage (taille : 1-100 km), telles que les méandres, les tourbillons et les fronts, ainsi que les caractéristiques influencées par la topographie du fond marin, telles que les sillages de monts sous-marins et les colonnes de Taylor. Il convient de consulter et d'analyser les données archivées d'altimétrie recueillies par satellite de télédétection et les données sur la température de surface de la mer pour repérer les courants et déterminer les caractéristiques océanographiques de surface. La zone étudiée doit s'étendre au-delà du secteur visé par le contrat et couvrir les principaux systèmes de courant de la région et leur variabilité, y compris les zones d'origine des principales caractéristiques de méso-échelle telles que les tourbillons. Cela est nécessaire pour décider de la zone à inclure dans la modélisation océanographique et pour comprendre l'origine possible des observations océanographiques et biologiques dans le secteur visé par le contrat. Pour détecter les changements saisonniers et interannuels et couvrir l'occurrence de phénomènes océanographiques peu fréquents comme El Niño ainsi que les tendances décennales, il faut une série chronologique qui s'étende sur au moins 20 ans dans le passé et qui comprenne les données de température micro-ondes et infrarouges. Il

convient d'enrichir les séries chronologiques par des données sur la couleur de l'océan et d'examiner les zones à l'étude pour valider les biomes et déterminer la variabilité interannuelle (Henson *et al.*, 2010). Il faut en outre déterminer les grandes saisons.

15. Dans les zones quasi-homogènes, comme dans un gyre situé au-dessus d'une plaine abyssale, il peut n'y avoir qu'une seule zone verticale identifiable. Les gradients latitudinaux ou longitudinaux peuvent indiquer plus d'une strate. À proximité des fronts et des dorsales médio-océaniques, il peut y avoir une hétérogénéité spatiale considérable qui forme des zones multiples. Dans les champs de tourbillons, l'échantillonnage doit avoir la souplesse requise pour inclure les tourbillons anticycloniques et cycloniques.

16. Pour obtenir des échantillons de sédiments, d'eau interstitielle et des échantillons biologiques (y compris l'ADN environnemental et les échantillons destinés à l'analyse moléculaire), il convient d'utiliser un plan d'échantillonnage stratifié emboîté afin de s'assurer que la collecte d'échantillons et de données englobe toute la gamme des paramètres environnementaux à l'échelle d'un secteur visé par un contrat d'exploration, comme le montre la figure ci-dessous. Les régions doivent être divisées en entités biogéochimiques et bathymétriques en fonction des données recueillies pour d'autres variables, principalement : l'océanographie physique (voir sect. IV), l'océanographie chimique (voir sect. V) et les propriétés géologiques (voir sect. VI). Au sein de chacune de ces entités, il convient d'établir un ensemble imbriqué de zones physiographiques, d'éléments ou de caractéristiques géomorphologiques et d'unités présentant des topographies différentes et des couvertures de nodules différentes (abondance et taille) afin d'étudier toutes les conditions qui devraient avoir une incidence importante sur les changements qui pourraient survenir dans les populations et les fonctions biogéochimiques. Chaque zone physiographique est un complexe d'unités physiographiques dans une zone définie. Ces unités physiographiques comprennent généralement des monts sous-marins, des plaines abyssales, des collines, des pentes, des crêtes et des vallées, avec des abondances faibles à élevées de nodules de différentes tailles. Si nécessaire, il convient de définir des unités supplémentaires pour couvrir les conditions spécifiques et leur variabilité selon les secteurs visés par un contrat (voir la représentation visuelle dans la figure ci-dessous). L'emplacement et l'étendue des unités doivent être définis au moyen de bathymétrie embarquée et d'imagerie acoustique et optique à haute résolution du fond marin, telle que celle obtenue par des robots (sous-marins télécommandés), des véhicules sous-marins autonomes ou des engins déployés par câble.

## Schéma conceptuel d'un programme d'échantillonnage



Abréviation : C, carottage.

17. Les observations doivent être effectuées à des moments différents et prédéterminés de l'année afin de couvrir les changements saisonniers de la productivité et des conditions hydrodynamiques. Plus précisément, il convient de couvrir les périodes où les régimes d'écoulement des eaux de fond diffèrent les uns des autres et les saisons ayant différentes disponibilités de matière organique. En outre, il faut quantifier les changements diurnes tout au long du cycle de 24 heures lorsqu'ils sont pertinents (par exemple, dans les systèmes pélagiques).

18. Lorsque les variables présentent une variabilité temporelle notable qui ne peut être traitée par des observations discrètes et lorsque des technologies d'observation appropriées telles que des plateformes autonomes, des capteurs et des échantillonneurs existent, les observations doivent être menées en continu et à haute fréquence. Les périodes d'observation continue doivent être programmées pour couvrir l'échelle de temps d'une variable donnée à un endroit donné, comme dans le cas, par exemple, des cycles de marée ou des cycles de productivité saisonnière. Il convient d'inclure des observations de systèmes benthiques dont il a été démontré qu'ils présentaient une dynamique temporelle importante dans les environnements d'eau profonde (Davies *et al.*, 2009).



19. Les variables qui ne sont pas censées présenter une variabilité saisonnière notable doivent être validées au moins une fois en comparant les observations faites à des saisons contrastées (printemps/été et hiver).

20. Il convient d'effectuer des observations à des saisons ou des conditions environnementales similaires pour évaluer la variabilité interannuelle. Comme les changements interannuels peuvent se produire sur plusieurs années, le fait d'effectuer des observations sur plusieurs années augmente la probabilité de repérer les événements périodiques. En outre, la stratégie d'échantillonnage temporel doit couvrir les changements interannuels et inclure les éventuelles variations périodiques, telles que celles liées à l'oscillation australe El Niño. D'autres facteurs de stress naturels, tels que le réchauffement de la planète et l'augmentation des niveaux de CO<sub>2</sub> atmosphérique, leur impact sur l'environnement où les données de référence sont recueillies et leur variabilité temporelle, doivent être pris en compte lors de l'élaboration d'une base de données environnementales de référence. Il faut également s'assurer que toute variabilité observée n'est pas un artefact de la perturbation causée par l'échantillonnage précédent.

21. Lorsque des comparaisons temporelles ou spatiales sont effectuées, l'autre composante doit être maintenue constante. Par exemple, pour comparer les saisons, il faut comparer des échantillons provenant de la même unité physiographique et des mêmes profondeurs.

22. Sauf indication contraire dans les sections portant sur des variables précises, la résolution de l'échantillonnage vertical doit être la suivante :

a) Pour l'échantillonnage de la colonne d'eau (y compris les mesures physiques, sauf indication contraire dans la section IV.B), il convient d'utiliser une résolution plus élevée pour l'échantillonnage à 200 m sous la surface (trois ou quatre échantillons à des profondeurs déterminées sur la base de la variabilité locale) et à 500 m au-dessus du fond marin (par exemple à 5 m, 10 m, 25 m, 50 m, 75 m, 100 m, 150 m, 200 m et 500 m au-dessus du fond marin), en gardant à l'esprit que les conditions météorologiques de surface et la topographie locale peuvent avoir une incidence sur la résolution qu'il est possible d'obtenir à très grande proximité du fond marin ;

b) Pour l'échantillonnage du fond marin, à moins qu'une résolution plus élevée ne soit indiquée dans les sections relatives aux différentes variables, la résolution verticale doit être de 0 à 0,5 cm, 0,5 à 1 cm, tous les 1 cm jusqu'à une profondeur de 10 cm, et tous les 2 cm de 10 cm à 20 cm ou jusqu'à la profondeur à laquelle on s'attend à ce que les sédiments soient perturbés par le matériel d'extraction, selon celle qui est la plus profonde. Lorsque des mesures plus profondes sont requises, des échantillons doivent être prélevés tous les 5 cm entre une profondeur de 20 cm et une profondeur de 50 cm, et tous les 20 cm dans les couches plus profondes sur une colonne de sédiments allant jusqu'à 5 m. Cette résolution doit être considérée comme un guide et doit être augmentée lorsque des études initiales menées à haute résolution, comme pour déterminer la zonation d'oxydoréduction, indiquent qu'il faut davantage de couches pour déterminer convenablement les caractéristiques des profils verticaux. Lorsque les sédiments de surface sont plus fluides et qu'il n'est pas possible de prélever des tranches à résolution fine, il faut adopter une approche plus pragmatique et prélever des échantillons de 0 à 1 cm.

23. Des répliques aléatoires doivent être effectuées pour chaque site d'échantillonnage et la réplique doit être suffisante pour couvrir la variabilité et différencier les unités physiographiques. Le nombre de répliques nécessaires pour déterminer les caractéristiques des conditions de référence dans une zone spécifique est établi selon plusieurs facteurs, y compris la variable considérée, et peut varier

selon les secteurs visés par un contrat. Par conséquent, le nombre de réplifications doit être justifié à l'aide de statistiques appropriées. On peut escompter une variabilité temporelle et spatiale plus faible dans les couches sédimentaires plus profondes. Par conséquent, pour étudier les conditions dans les couches sédimentaires plus profondes, il peut suffire de procéder à des mesures sur une seule longue carotte prélevée sur chaque site et répétées lors de plusieurs campagnes, à moins que d'importantes variabilités temporelles ou spatiales ne soient observées à petite échelle.

24. Les échantillons ou les données recueillies au cours du même déploiement d'une plateforme unique, comme les carottes d'un carottier multiple ou les données recueillies par les capteurs multiples d'un atterrisseur unique, doivent être considérés comme un point d'échantillonnage (c'est-à-dire une réplique biologique). Lorsque les échantillons sont subdivisés, le but doit être d'obtenir différentes variables à partir du même échantillon et non de générer des pseudo-échantillons. Des pseudo-échantillons sont générés lorsque des sous-échantillons sont prélevés à partir du même échantillon principal, tel qu'une carotte en boîte ou plusieurs carottes provenant d'une seule immersion de carottier multiple, et sont ensuite traités comme des répliques. Ces échantillons ne sont pas statistiquement indépendants.

25. Si la procédure à suivre pour procéder à l'échantillonnage requis pour déterminer la variabilité spatiale et temporelle ne figure pas dans les sections pertinentes ci-après, il convient de suivre les protocoles décrits dans les documents [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) et [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#).

## **B. Adaptabilité des stratégies d'échantillonnage**

26. Les stratégies initiales d'échantillonnage et d'observation doivent s'appuyer sur les meilleures études et données existantes. Les stratégies doivent être revues régulièrement, au fur et à mesure que de nouvelles informations sont disponibles, afin de s'assurer qu'elles sont adaptées à leur finalité et qu'elles rendent compte de manière adéquate de la variabilité spatiale et temporelle. Il convient de démontrer que les observations effectuées dans des zones ou à des échelles spatiales considérées comme homogènes présentent effectivement une variabilité moindre que les observations effectuées dans des zones où l'on escomptait une plus grande variabilité. Il convient également de déterminer si les observations effectuées à des saisons similaires sont moins variables que celles effectuées à des périodes différentes de l'année. Cependant, tout changement apporté à une stratégie d'échantillonnage doit être entouré de précaution afin de ne pas passer à côté d'événements épisodiques ou de la variabilité interannuelle et de ne pas créer d'incohérences qui empêcheraient l'analyse temporelle, surtout si les observations sont interrompues sur certains sites ou pendant certaines saisons.

27. Des spécialistes ont été consultés afin de garantir que les méthodes proposées dans les présentes directives correspondaient aux meilleures pratiques. Toutefois, les techniques et les processus évoluent avec le temps. Par conséquent, pour déterminer correctement les caractéristiques de l'environnement, il convient d'utiliser les meilleures techniques disponibles ou, dans le cas contraire, de fournir une justification. Il est recommandé de solliciter un retour d'information indépendant auprès d'une organisation ou d'une personne dotée des compétences pertinentes dans le domaine, afin de pouvoir procéder aux ajustements nécessaires. Lorsque la collecte de données a déjà commencé, il convient de veiller à la cohérence des données acquises par différentes méthodes, afin de permettre des évaluations intégrées de toutes les données recueillies.

28. Au fur et à mesure qu'on prend connaissance des caractéristiques de la technologie à utiliser pour l'exploitation et que l'exploration progresse, le programme d'échantillonnage doit être ajusté selon qu'il convient pour s'assurer que les données de référence sont concentrées sur les zones où l'exploitation est prévue et où les impacts sont susceptibles de se produire. Ceci est particulièrement important lorsque la profondeur potentielle de l'exploitation dépasse les profondeurs d'échantillonnage recommandées pour les variables individuelles ou lorsqu'on constate une forte variabilité des paramètres.

### C. Coordination et coopération

29. Si possible, les mesures des différentes variables doivent être alignées dans le temps et dans l'espace pour faciliter l'analyse intégrée et améliorer leur potentiel explicatif. Ceci est particulièrement important pour les variables qui sont pertinentes pour des processus interconnectés ou similaires relevant de la même discipline ou de disciplines étroitement liées (par exemple : géologie – biogéochimie des sédiments ; océanographie – chimie des océans, biologie pélagique), ou qu'il faut combiner pour créer des produits dérivés. Lorsque les méthodes sont compatibles, il est recommandé d'utiliser des échantillons provenant de carottes de sédiments uniques pour analyser des paramètres multiples (par exemple, les mêmes carottes pour les caractéristiques de l'eau interstitielle et des sédiments). Les carottes destinées à l'échantillonnage de la macrofaune ne doivent pas être sous-échantillonnées (voir sect. VII, par. 234 à 237).

30. Dans la mesure du possible, les contractants devraient collaborer et échanger des données et des informations entre eux et avec la communauté scientifique afin que les analyses puissent aller au-delà des secteurs visés par un contrat des différents contractants. Cela permettrait de déterminer le contexte au moyen de modèles à plus grande échelle. Ce contexte facilite l'interprétation et l'utilisation des observations de référence et peut sous-tendre l'analyse à plus grande échelle, dont les résultats peuvent alimenter les plans régionaux de gestion de l'environnement. Cette approche présente de plus l'avantage de réduire la charge de travail des contractants individuels.

31. Le partage de données entre les contractants et la communauté scientifique est fortement recommandé car il garantit des données de haute qualité recueillies selon des méthodes de pointe.

32. Nombre des variables abordées dans les présentes directives sont également traitées par le Système mondial d'observation de l'océan (GOOS) ([www.goosoocean.org](http://www.goosoocean.org)). Le GOOS a établi un cadre relatif aux variables océaniques essentielles, qui peut être utilisé pour élaborer un plan rentable de synthèse des données permettant de former une bonne vue d'ensemble à l'échelle mondiale pour chaque variable océanique essentielle. De nombreuses variables visées par les présentes directives s'accompagnent d'une fiche technique sur les variables océaniques essentielles, qui a été établie et diffusée par les groupes d'experts. Les fiches techniques recensent les mesures à faire, les possibilités d'observation existantes et les pratiques de gestion des données à suivre. Elles orientent l'utilisateur vers les meilleures pratiques et les guides et offrent des informations générales, ce qui en fait un complément utile aux présentes directives. L'ensemble actuel de variables océaniques essentielles correspond aux observations de l'océanographie physique et biogéochimique, mais il y manque des informations importantes sur la biologie et la biogéochimie benthique.

## D. Qualité des données

33. Toutes les données mesurées doivent être comparées aux observations faites dans la même région ou dans des zones biogéographiques de profondeurs similaires qu'on trouve dans la littérature scientifique et d'autres sources. Lorsque les modèles de pointe et les observations de variables se correspondent largement, cela est considéré comme une forte indication que l'ensemble de données de référence visé est de bonne qualité, cohérent et complet. La comparaison entre les observations et les résultats du modèle doit donc constituer un volet essentiel du rapport et doit s'accompagner de toutes les informations nécessaires pour appliquer le modèle et reproduire les résultats. En cas de divergences entre les mesures et le modèle, il convient de les analyser pour résoudre l'erreur, ce qui peut requérir un ajustement du modèle ou de nouveaux prélèvements d'échantillons.

34. Si l'on observe des écarts importants qui ne sont pas imputables à des différences dans les paramètres environnementaux, les méthodes doivent être vérifiées ou faire l'objet d'une validation croisée avec d'autres laboratoires.

35. Le déroulement complet des travaux doit être entièrement documenté, y compris avec des informations détaillées sur la méthode de mesure et le contrôle de la qualité (par exemple, les normes et les blancs mesurés), en particulier dans les cas où aucune norme n'était disponible ou lorsque les méthodes appliquées s'écartaient des normes convenues. Lorsque des méthodes non standard sont utilisées, elles doivent être partagées ouvertement au moyen de publications dans les journaux pertinents ou dans des bases de données de méthodes établies (par exemple, le Système de bonnes pratiques océanographiques (OBPS) de la Commission océanographique intergouvernementale (COI) ou la plateforme [protocols.io](http://protocols.io)).

36. Le nombre de réplifications requis dans chaque unité physiographique dépend de la variabilité naturelle existante (voir ci-dessus). Les méthodes statistiques, y compris l'analyse de puissance (Jumars, 1981), doivent être utilisées pour décider de l'effort d'échantillonnage nécessaire pour détecter les changements relatifs à une résolution appropriée.

37. L'incertitude et les limites de détection associées à la méthode retenue doivent être présentées de pair avec toutes les mesures.

38. Lorsque les données sont corrigées en fonction de la profondeur, de la température, de la taille de l'échantillon ou de toute autre variable, il convient de fournir les détails de la correction et d'expliquer précisément la procédure suivie. Ces informations doivent être accompagnées des données brutes.

39. Lorsque différentes méthodes sont utilisées en raison de l'adaptabilité des stratégies d'échantillonnage ou de la coopération scientifique dans le cadre de différentes études, il convient de fournir tout détail sur la méthode de normalisation permettant de rendre les résultats comparables.

40. Lorsque les dispositifs d'échantillonnage doivent être étalonnés, il convient de le faire à un moment aussi proche que possible du moment de leur utilisation (par exemple, pour le microprofilage *in situ* du pH, les électrodes doivent être étalonnées à bord du navire d'échantillonnage avant leur déploiement).

41. Les informations contenues dans les présentes directives concernent les exigences minimales. Tout échantillonnage ou analyse effectué au-delà de ce qui est décrit dans le présent document et dans les autres documents cités augmentera la qualité et est donc encouragé.

## E. Gestion des données et des échantillons

42. Les données (métadonnées comprises), les échantillons et les spécimens doivent être conservés dans le respect des normes appropriées de conservation à long terme afin de permettre une nouvelle consultation des informations brutes, si une analyse plus approfondie ou un contrôle de qualité s'avèrent nécessaires.

43. Le contractant doit conserver les données brutes de manière à ce qu'on puisse retrouver leur origine, en indiquant le lieu et la date de la collecte ainsi que la méthode utilisée.

44. Les données brutes et dérivées doivent être soumises, sous un format convenu, à des centres mondiaux de collecte de données établis et maintenus depuis longtemps, qui offrent un accès libre.

45. Les données numériques, y compris les métadonnées pertinentes, doivent être stockées en toute sécurité à la fois localement et en nuage pour garantir leur disponibilité à long terme. Elles doivent en outre être communiquées au Secrétariat de l'Autorité, conformément aux recommandations à l'intention des contractants sur le contenu, le format et la structure des rapports annuels (ISBA/21/LTC/15).

46. Les données et les résultats doivent être publiés dans des revues scientifiques internationales, évaluées par des pairs et en accès libre, et doivent être présentés lors de conférences scientifiques internationales afin de faciliter la diffusion de nouvelles informations. En outre, la publication permet à de nombreux spécialistes indépendants de faire des commentaires et de donner leur approbation.

47. La latitude et la longitude doivent être recueillies en degrés décimaux, conformément au système géodésique mondial WGS 84, et l'heure et la date doivent être enregistrées en temps universel coordonné (UTC). Les rapports doivent être établis à des formats conformes aux normes internationales acceptées.

48. Les métadonnées standard doivent être enregistrées (y compris la position, la profondeur de l'eau, l'identifiant de l'expédition, l'identifiant de la station et le chercheur principal) conformément aux normes de métadonnées établies.

49. Dans le cadre de leur soumission de données à l'Autorité, les contractants doivent fournir des informations détaillées sur les capteurs et le dispositif d'échantillonnage utilisés (type, fabricant, identifiant, date et méthode du dernier étalonnage) et donner une description détaillée des méthodes de mesure et d'analyse des échantillons suivies, y compris des détails sur le déploiement de l'équipement d'échantillonnage, des références sur les normes adoptées, les meilleures pratiques suivies ou l'explication des méthodes dans les publications scientifiques suivies, conformément aux orientations pertinentes.

50. Lorsque les méta-informations contiennent des références à des publications (telles que des rapports de croisière ou des explications de méthodes), des identifiants pérennes ou des duplicata doivent être fournis afin de garantir une disponibilité à long terme.

51. Pour les données dérivées, il convient de fournir les métadonnées pertinentes, y compris toutes les informations nécessaires pour reproduire les analyses, si nécessaire accompagnées des conversions appliquées. Il faut également fournir une référence aux données brutes, qui doivent inclure les mesures de la carotte et toutes les variables d'appoint utilisées pour les calculs. Les protocoles, les logiciels et le code utilisés doivent être spécifiés dans des ressources en ligne permanentes et en libre accès, qui permettent le contrôle des versions et contiennent des identifiants pérennes (par exemple, GitHub ou la plateforme protocols.io).

52. Ces principes s'appliquent à toutes les variables. On trouvera des informations complémentaires sur la question dans les sections suivantes.

## IV. Océanographie physique

### A. Introduction

53. Les principaux objectifs de l'établissement de données de référence de l'océanographie physique d'un secteur visé par un contrat sont les suivants :

a) Définir les conditions hydrophysiques et hydrodynamiques ainsi que la structure de la colonne d'eau et sa variabilité afin de :

i) Comprendre les habitats des organismes marins ;

ii) Définir une stratégie d'échantillonnage détaillée pour d'autres mesures d'échantillonnage ;

b) Évaluer la dispersion potentielle, la taille et les caractéristiques de tout panache d'extraction et de rejet.

54. Les variables suivantes doivent être déterminées afin de définir les données de référence de l'océanographie physique :

a) Température, pression et salinité : les paramètres de l'eau de mer qui déterminent la stratification de la colonne d'eau et les masses d'eau discrètes dans lesquelles les autres variables doivent être mesurées. Ces variables seront également nécessaires pour dériver des informations à partir d'autres données ;

b) Courants : la connaissance des courants est cruciale pour comprendre la connectivité des populations d'organismes marins et pour évaluer la dispersion de tout panache d'extraction et de rejet ;

c) Marées et vagues : les marées et les vagues interagissent avec le flux des courants et influencent le mélange. Les marées affectent également certains organismes marins (cycles de marée) ;

d) Turbulence : le mélange turbulent vertical est un facteur dominant dans le contrôle du flux vertical de matière dans la colonne d'eau, la turbulence intensifiée au fond jouant un rôle important dans la transformation de la masse d'eau ;

e) Propriétés optiques : la pénétration et la disponibilité de la lumière sont cruciales pour de nombreux processus dans la partie supérieure de la colonne d'eau, notamment la formation de biomasse par le phytoplancton océanique grâce à la photosynthèse, le cycle biogéochimique causé par réactions photochimiques et le réchauffement de la couche supérieure des océans. Les propriétés optiques comprennent également le champ lumineux pertinent pour les espèces animales qui utilisent la bioluminescence pour se nourrir, se cacher et se reproduire. Les particules de sédiments provenant d'un panache d'assèchement peuvent empêcher la faune d'utiliser la bioluminescence, ce qui réduit le succès de l'accouplement ou de l'alimentation ;

f) Bruit : le bruit est causé par de nombreuses sources dans l'océan et en surface. Il peut avoir un impact sur toute un éventail d'organismes marins, notamment les invertébrés, les poissons et les mammifères marins. Les espèces marines peuvent être perturbées dans leur développement, leur anatomie, leur physiologie, leur comportement, leurs services écosystémiques et leur taux de mortalité, ce qui a un impact socioéconomique sur la pêche. En outre, les activités génératrices de bruit

peuvent affecter la santé des populations, le bien-être des espèces marines et la dynamique des écosystèmes.

## B. Résolution de l'échantillonnage

55. Pour de nombreuses méthodes d'échantillonnage physique, il faut utiliser le même dispositif d'échantillonnage pour prélever différents échantillons au même moment. Cette approche augmente considérablement la résolution et doit être suivie chaque fois que possible.

56. La variabilité des paramètres physiques doit être déterminée en utilisant une méthode d'échantillonnage différente, comme indiqué ci-dessous :

a) Variabilité spatiale (verticale) : stations (sondes CTD et échantillonneurs d'eau), courantomètres à effet Doppler (ADCP) montés sur bathysonde, flotteurs et dériveurs, véhicules sous-marins autonomes et planeurs et ADCP embarqués ;

b) Variabilité spatiale (horizontale) : sections (sondes CTD et échantillonneurs d'eau), flotteurs et dériveurs, véhicules sous-marins autonomes et planeurs, ADCP embarqués et télédétection par satellite ;

c) Variabilité temporelle : ADCP ou autres courantomètres montés sur amarrages ou bouées, stations ou sections répétées, flotteurs et dériveurs, sondeurs de fond et télédétection par satellite.

57. Les mesures et l'échantillonnage océanographiques et hydrochimiques doivent être effectués dans les mêmes stations que celles utilisées pour l'échantillonnage biologique, avec au moins une mesure effectuée dans chaque zone physiographique. Lorsque les distances entre les zones physiographiques sont supérieures à 50 km, il est recommandé d'inclure des stations supplémentaires, au moins une station tous les 50 km dans les directions latitudinale et longitudinale, avec une résolution plus élevée dans les zones présentant des gradients horizontaux importants ou des caractéristiques topographiques à grande échelle (une station tous les 10 à 30 km).

58. Pour étudier la variabilité verticale des propriétés physiques et chimiques de la colonne d'eau, il convient d'utiliser une sonde CTD couplée avec des capteurs supplémentaires (par exemple pour la turbidité, l'oxygène dissous, le pH, la fluorescence ou le rayonnement photosynthétiquement actif), et de la combiner avec une rosette de prélèvement. La résolution d'échantillonnage pour les paramètres physiques doit être plus élevée que pour les autres paramètres. Par conséquent, outre les profondeurs indiquées au paragraphe 22, il faut aussi prélever des échantillons à 0 m, 10 m, 25 m, 30 m, 50 m, 75 m, 100 m, 125 m, 150 m, 200 m, 250 m et 300 m, puis tous les 100 m jusqu'à 1 600 m, 1 750 m et 2 000 m, et enfin tous les 500 m jusqu'à 200 m au-dessus du fond marin.

59. Ce schéma d'échantillonnage doit être modifié selon les besoins pour s'assurer que toutes les caractéristiques importantes de la colonne d'eau sont enregistrées.

60. Pour étudier la variabilité diurne des propriétés de la colonne d'eau, il faut installer une station diurne pour chaque unité physiographique. Les échantillons doivent être prélevés de la surface jusqu'à une profondeur de 200 m. Comme indiqué à la section III.A, l'échantillonnage doit être répété à chaque saison pendant plusieurs années afin de déterminer la variabilité annuelle et interannuelle.

61. Outre les profondeurs indiquées à la section III.A, les courants doivent être mesurés en surface et aux profondeurs suivantes : 10 m, 25 m, 50 m, 100 m, 200 m, 300 m, 500 m, 750 m, 1 000 m, 1 200 m et 1 500 m, puis tous les 500 m jusqu'à 200 m au-dessus du fond marin. Ce schéma doit être modifié si la structure verticale des

masses d'eau l'exige. On peut utiliser une combinaison d'ADCP montés sur différents supports pour recueillir et échantillonner des données sur la variabilité spatiale (verticale et horizontale) et temporelle des courants. On peut obtenir des profils de vitesse absolue en profondeur de haute qualité en utilisant un ADCP monté sur bathysonde (seul ou combiné avec une sonde CTD). Son utilisation en combinaison avec un ADCP embarqué ou un ADCP secondaire pointant vers le haut améliore la qualité des données obtenues (Thurnherr *et al.*, 2010).

62. L'ADCP embarqué collecte des données sur la distribution spatiale des courants à des profondeurs allant jusqu'à 1 600 m, selon les caractéristiques de l'ADCP utilisé. Il y a cependant une grande marge d'erreur pour les mesures sur de longues distances (800 m et 1 600 m respectivement). Pour obtenir une meilleure résolution dans les 100 à 200 m supérieurs, il convient d'utiliser une combinaison de deux ADCP embarqués (par exemple OS75 ou OS38 avec OS150 ou WH300) (Firing et Hummon, 2010).

63. Il faut utiliser des mouillages munis d'ADCP (ou d'autres courantomètres) pour étudier la variabilité temporelle des courants et d'autres caractéristiques de la colonne d'eau. Les mouillages doivent rester déployés pendant un minimum de 12 à 13 mois (pour couvrir un cycle annuel), les déploiements plus longs donnant cependant de meilleures informations. Le nombre d'ADCP (ou d'autres courantomètres) doit être suffisant pour assurer une couverture détaillée des 200 m proches du fond. L'utilisation d'ADCP supplémentaires (ou d'autres courantomètres) dans les couches de surface, intermédiaires et abyssales est fortement recommandée.

64. On trouvera des recommandations dans la littérature relative aux ADCP montés sur bathysonde (Thurnherr *et al.*, 2010), aux ADCP embarqués (Firing et Hummon, 2010), aux ADCP à remorquer et aux profileurs acoustiques à effet Doppler (ADP) (Sgih *et al.*, 2001).

65. Des pièges à sédiments et d'autres équipements pertinents doivent être déployés sur les mouillages afin d'obtenir des données sur la variabilité temporelle des autres caractéristiques de l'eau et de la sédimentation.

66. En outre, il faut déployer des flotteurs et des dérivateurs pour étudier la variabilité temporelle des courants aux profondeurs appropriées.

### C. Variable mesurée : température et salinité

67. Il convient de procéder à un profilage de la colonne d'eau par sonde CTD ou à une détection par robot (sous-marin télécommandé), engin sous-marin autonome ou planeur pour caractériser les conditions physiques de la colonne d'eau. L'eau de mer doit être décrite conformément à la norme TEOS-10. Outre le paramétrage standard pour mesurer la pression (convertie en profondeur), la conductivité (convertie en salinité) et la température, tout échantillonnage par sonde CTD devrait être complété par l'utilisation de capteurs supplémentaires pour d'autres paramètres lorsque cela est possible (pour déterminer, par exemple, la turbidité, l'oxygène dissous, le pH, la fluorescence, le rayonnement photosynthétiquement actif, les nitrates et l'altimétrie). On trouvera les considérations importantes à prendre en compte pour recueillir des données de qualité par sonde CTD et les normes de données à respecter dans les publications du Groupe Données et information du Conseil international pour l'exploration de la mer (ICES Data and Information Group, 2006).

68. Les sondes CTD ou capteurs appropriés peuvent être montés sur des câbles, des dérivateurs ou flotteurs, des mouillages ou bouées ou des appareils de fond, ou encore utilisés en route. Une sonde CTD « en route » (*under way*) est une sonde qu'on lance



au moyen de lanceurs portables ou fixes et qu'on remonte en rembobinant la ligne pendant que le bâtiment maintient son cap et sa vitesse.

69. Il convient de faire des mesures de télédétection par satellite pour obtenir des informations sur les paramètres océanographiques à une échelle de temps synoptique. Outre la température et la salinité de surface, les satellites peuvent mesurer la répartition de la glace de mer, la hauteur des vagues, la hauteur de la surface, la rétrodiffusion radar et la couleur de l'océan. On trouvera de nombreuses informations sur les satellites et les ensembles de données sur les sites Web de la NASA (en particulier le Physical Oceanography Distributed Active Archive Center du Jet Propulsion Laboratory), de la NOAA, de l'Agence spatiale européenne (ESA), de l'Agence japonaise d'exploration aérospatiale (JAXA) et du programme Copernicus.

70. Les bouées, mouillages, dériveurs et flotteurs peuvent être équipés de capteurs permettant de mesurer la température de surface et d'eau de mer, la pression de surface et d'eau de mer, la salinité de surface et d'eau de mer, la vitesse du vent, la concentration d'oxygène dissous, la fluorescence et la couleur de l'océan, la température de la couche mixte et la pression partielle du dioxyde de carbone dissous ( $pCO_2$ ). Ils peuvent être utilisés pour recueillir des informations biologiques (par exemple, sur la dispersion des larves de poissons) et pour étudier les courants et les vagues océaniques. On trouvera les considérations importantes à prendre en compte pour la collecte de données de qualité au moyen de bouées, les normes de données et le traitement des données dans les documents du Groupe de coopération pour les programmes de bouées de collecte de données, de l'équipe de gestion des données recueillies par bouées dérivantes de l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) et de la communauté du programme Argo.

#### **D. Variable mesurée : courants**

71. Pour obtenir un tableau complet des courants, il convient d'utiliser à la fois des méthodes eulériennes (mesure en série chronologique de la vitesse et de la direction du courant à un endroit fixe) et des méthodes lagrangiennes (le trajet suivi par chaque particule de fluide est observé en fonction du temps). Pour les mesures eulériennes, on peut utiliser des courantomètres, mécaniques ou non. Il convient d'appliquer les protocoles et méthodes du projet FixO3 pour les mouillages et d'autres types de systèmes eulériens (Coppola *et al.*, 2016). Pour les mesures lagrangiennes, on peut utiliser des dériveurs de surface, des flotteurs de subsurface ou des dériveurs et flotteurs profileurs de type ALACE (Autonomous Lagrangian Circulation Explorer) ou Argo. Les images satellites de la température et de la couleur de la surface de la mer peuvent être utilisées comme pseudo-dériveurs pour étudier les courants de surface, en partant du principe que tous les déplacements des caractéristiques de surface observés sur les images sont causés par l'advection des courants de surface. On trouvera une présentation succincte et des références pour toutes les méthodes, y compris les avantages et les inconvénients de chacune, dans Thomson et Emery (2014).

72. Les données obtenues doivent être utilisées pour concevoir et valider un modèle numérique de circulation. Couplé à un modèle adéquat de transport des sédiments, le modèle numérique de circulation intégrera les effets de l'agrégation et de la désagrégation des particules et pourra être utilisé pour comprendre la dispersion potentielle des panaches d'extraction et de rejet.

73. Tout modèle utilisé doit être validé par la communauté des modélisateurs de l'océan comme convenant aux études de dispersion près du fond marin et, plus largement, dans toute la colonne d'eau. On trouvera, dans Van Sebille *et al.* (2018), une présentation des codes lagrangiens pour le suivi des particules en ligne et hors

ligne qui comprend des références à la littérature pertinente et on pourra s'appuyer sur Numerical Models (2000) pour trouver le modèle approprié.

74. Une étape importante de l'analyse des données actuelles est leur représentation graphique. On trouve dans Joseph (2014) une explication sur la façon de procéder à la fois pour les mesures et pour les données modélisées.

75. Les paramètres à mesurer dépendent de l'équipement utilisé. Cependant, il importe de mesurer l'ordre de grandeur et la direction de la vitesse du courant, les composantes zonales et méridionales de la vitesse et la vitesse verticale.

76. Ces mesures doivent permettre de caractériser le régime de courant de la colonne d'eau et, en particulier, de la couche allant de la couche limite du fond jusqu'à 200 m au-dessus du plancher océanique. Les analyses doivent porter sur la structure du champ, les variations spatiales de la vitesse et de la direction du courant (avec une attention particulière pour les zones de géomorphologie complexe), et les variations temporelles de la vitesse et de la direction du courant. La variabilité temporelle doit être caractérisée sur le plan diurne, saisonnier et interannuel ; les événements épisodiques tels que les tempêtes et les courants de turbidité doivent être recodés.

## **E. Variable mesurée : marées et vagues**

77. Il convient de mesurer les marées en utilisant soit des capteurs de pression montés sur mouillages fixes, soit l'altimétrie satellitaire. Bien que les instruments océanographiques modernes installés sur des mouillages fixes puissent résoudre les variations de pression à une fraction de millimètre en profondeur, pour obtenir des mesures précises en profondeur, il est nécessaire de corriger la température et d'obtenir des informations sur la dérive du capteur de pression (environ 1 cm/an). L'utilisation de doubles capteurs de pression permet de corriger cette dérive. Les manuels de la Commission océanographique intergouvernementale décrivent les mesures du niveau de la mer et leur interprétation. L'altimétrie satellitaire peut être utilisée pour déterminer les marées en estimant la variabilité de la surface à partir des passages répétés du radar du satellite. Les données altimétriques (y compris les données de Topex/Poseidon, Jason-1, ERS-1 et ERS-2, Envisat et Doris) ainsi que les logiciels et manuels correspondants sont consultables sur le site Web Aviso+ ([www.aviso.altimetry.fr](http://www.aviso.altimetry.fr)).

78. On peut utiliser toute méthode communément acceptée pour déterminer les mesures des ondes gravitationnelles de surface, comme l'altimétrie satellitaire, les bouées houlographes équipées d'accéléromètres, les sondes à houle (sondes résistives ou capacitives et houlographes à pression) et les radars satellitaires à synthèse d'ouverture.

79. Les paramètres à mesurer sont les données relatives à la pression ou au niveau de la mer, selon que l'on utilise l'altimétrie fixe ou satellitaire.

80. Ces mesures doivent permettre de déterminer l'amplitude et la période de la marée, les principaux constituants de la marée et leur inégalité, ainsi que la hauteur et la direction des vagues.

## **F. Variable mesurée : turbulence**

81. L'intensité de turbulence doit être estimée par des méthodes directes ou indirectes en utilisant les données d'une sonde de cisaillement de la vitesse, d'une sonde CTD, d'un ADCP, d'un vélocimètre acoustique Doppler ou d'un profileur de courant Doppler (Thorpe, 2007).

82. Les observations visant à déterminer l'intensité de turbulence doivent être effectuées aussi près que possible du fond. Comme la turbulence intensifiée au fond se propage généralement vers le haut à travers la couche limite du fond, les mesures doivent être effectuées jusqu'à l'intérieur de l'océan et doivent inclure la totalité de la couche limite du fond. La turbidité près du fond est étroitement corrélée à l'intensité de turbulence. Par conséquent, les mesures de turbulence doivent être combinées avec l'étude de la turbidité (voir par. 85 à 96). Lorsqu'on utilise la méthode directe, il est recommandé d'utiliser une sonde de microstructure à profilage horizontal fixée à un engin sous-marin autonome pour déduire la distribution spatiale de l'intensité de turbulence. Lorsqu'on utilise la méthode de l'échelle de Thorpe, l'immersion de la sonde CTD doit être effectuée avec une grande précision, aussi près du fond que possible. Lorsqu'on utilise la méthode acoustique Doppler, l'amarrage du profileur de courant doit être placé sur le fond.

83. Les paramètres à mesurer dépendent de la méthode utilisée :

a) Pour la mesure directe : cisaillement de la vitesse à l'échelle microscopique, vitesse de descente de l'instrument, accélération latérale de l'instrument et température à haute résolution ;

b) Pour la mesure indirecte : température, conductivité, pression et vitesse.

84. Ces mesures doivent permettre de déterminer le taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulente, la densité, la fréquence de flottabilité, le profil vertical des vitesses, les fluctuations de température de la microstructure, la diffusivité verticale des tourbillons, les échelles de Thorpe et les taux de dissipation de la température.

## **G. Variable mesurée : propriétés optiques**

85. Les propriétés optiques de l'eau de mer peuvent être divisées en propriétés apparentes et propriétés inhérentes comme suit :

a) Les propriétés optiques apparentes dépendent de la nature de l'eau de mer, de ses matières dissoutes et de ses particules, ainsi que de la distribution angulaire (géométrie) du rayonnement solaire, et se mesurent à l'aide de spectroradiomètres dans lesquels un monochromateur variable est utilisé pour séparer la lumière en certaines bandes d'ondes ;

b) Les propriétés optiques inhérentes dépendent de la longueur d'onde de la lumière et du milieu aquatique, mais sont indépendantes du champ lumineux ambiant et de sa distribution angulaire. Elles se mesurent à l'aide d'un atténuateur de faisceau monochromatique (transmissiomètre), d'atténuateurs d'absorption spectrale, de capteurs de diffusion (ou de rétrodiffusion), de cellules capillaires à guide d'ondes liquide, d'instruments de diffraction laser ou de cytométrie de flux.

86. Les propriétés optiques doivent être obtenues en utilisant l'une des méthodes suivantes :

a) Échantillonnage physique à bord du navire, dans les stations (profilage et échantillonnage vertical, mesures radiométriques à l'attache ou à la main) ou en cours de route (mesures radiométriques à bord du navire, à l'attache ou à la main, échantillonnage à l'aide de systèmes de circulation ou de dispositifs ou chaînes remorqués ondulants ou à profondeur fixe avec des capteurs appropriés) ;

b) Mesures effectuées par des engins sous-marins autonomes, des planeurs, des plateformes eulériennes fixes (amarres, trépieds de fond et autres atterrisseurs de fond) ou des dispositifs lagrangiens (dériveurs et flotteurs) ;

c) Télédétection à partir de plateformes de navires, d'avions ou de satellites. Les mesures de ce type peuvent être passives (le soleil est la source d'éclairage) ou actives (un signal provenant de la plateforme du capteur est utilisé comme source, généralement un éclairage laser).

87. En outre, les propriétés optiques doivent être déterminées à l'aide de modèles inverses (voir Werdell *et al.*, 2018, pour plus de détails) ou de modèles biooptiques (voir Ogashawara, 2015, pour plus de détails).

88. Divers types de fluoromètres peuvent être utilisés pour mesurer la fluorescence, la photoémission ou la bioluminescence (et peuvent servir de complément aux méthodes acoustiques modernes d'estimation de la biomasse). On trouvera de plus amples informations et des références sur chacun des instruments dans Moore *et al.* (2009). Les capteurs de mesure de la turbidité (néphélomètres et capteurs de rétrodiffusion) peuvent être configurés de différentes manières, et il existe de nombreuses méthodes et normes de configuration à cet égard (par exemple, la norme ISO 7027). Voir également Petihakis *et al.*, 2014, et Tamburri, 2006. La télédétection de la fluorescence et de la bioluminescence peut également être utilisée pour mesurer la fluorescence du plancton à partir de satellites (par exemple, Erickson *et al.*, 2019).

89. Pour permettre l'évaluation de toute concentration excessive de particules en suspension dans les panaches d'extraction et de rejet, les données de turbidité optique ou acoustique doivent être converties en concentration de particules en suspension. À cette fin, les capteurs optiques ou acoustiques doivent être étalonnés en fonction des particules en suspension présentes localement dans la colonne d'eau. Pour les études des données de référence, il faut procéder par rapport à la concentration de particules en suspension déterminée dans des échantillons d'eau prélevés simultanément aux mesures de turbidité. Pour la surveillance des panaches d'extraction et de rejet, on peut suivre la même approche s'il est possible de prélever des échantillons d'eau directement dans le panache. Sinon, les capteurs doivent être étalonnés *ex situ* dans des suspensions faites avec de l'eau de mer locale filtrée et du matériau source du panache ajouté.

90. La méthode EPA 180.1 et la norme ISO 7027 sont reconnues au niveau international pour la vérification des performances des turbidimètres et des capteurs de turbidité et la conformité aux méthodes.

91. Les instruments conformes à la méthode EPA 180.1 conviennent pour mesurer des niveaux de turbidité compris entre 0 NTU et 40 NTU. Ces turbidimètres doivent avoir une résolution de 0,02 NTU ou supérieure dans une eau dont la turbidité est inférieure à 1 NTU.

92. La norme ISO 7027 prescrit deux méthodes quantitatives d'utilisation des néphélomètres : la néphélogéométrie (pour la mesure du rayonnement diffus, applicable aux eaux de faible turbidité) et la turbidimétrie (pour la mesure de l'atténuation d'un flux radiant, plus applicable aux eaux très turbides). Les turbidités résultantes mesurées selon la première méthode sont typiquement comprises entre 0,05 NTU ou moins et 400 NTU. Selon la conception de l'instrument, la néphélogéométrie peut également être appliquée à des eaux de turbidité plus élevée. Il existe une équivalence numérique entre les unités de turbidité néphélogométriques (NTU) et les unités néphélogométriques formazine (FNU).

93. La turbidité mesurée selon la seconde méthode est exprimée en unités d'atténuation formazine (FAU), et les résultats sont généralement compris entre 40 FAU et 4 000 FAU.

94. Selon la méthodologie utilisée, les paramètres à mesurer sont la radiance, l'irradiance, l'irradiance scalaire, le coefficient d'atténuation de la lumière diffuse et

le coefficient d'atténuation de l'irradiance scalaire, le rayonnement photosynthétique disponible, le facteur de réflexion de l'irradiance, facteur de réflexion de la radiance, le coefficient d'absorption, le coefficient de diffusion, le coefficient d'atténuation du faisceau, la fonction de diffusion en volume, la couleur de l'océan, la fluorescence, la bioluminescence, la transparence et la turbidité.

95. À partir de ces mesures, il convient de déterminer les éléments suivants : chlorophylle-a et autres pigments, visibilité, volume des sédiments en suspension, biomasse du phytoplancton, concentration de carbone organique particulaire et dissous et, productivité sous forme de carbone organique particulaire, et composition des espèces (pour détecter les efflorescences algales nuisibles et l'analyse des nitrates) (voir également les sections V.H et VII.D).

96. En outre, les mesures optiques peuvent être utilisées pour la validation et l'étalonnage des mesures de télédétection.

## H. Variable mesurée : bruit

97. Il convient de déterminer deux caractéristiques du bruit sur une large gamme de fréquences (1 Hz à 20 kHz) : les niveaux spectraux du bruit (en différenciant le bruit impulsif du bruit ambiant) et la propagation du son. On trouvera les principes fondamentaux des mécanismes, des mesures et de la modélisation numérique du bruit ambiant océanique dans Carey et Evans (2011) et Robinson *et al.* (2014). Les mesures du bruit peuvent être effectuées à partir de navires (sur des stations ou en route), d'engins sous-marins autonomes, de planeurs, de flotteurs, de dériveurs, de mouillages, de bouées, d'atterrisseurs de fond et de trépieds. Il faut tenir compte du fait que certains autres capteurs génèrent du bruit. Par conséquent, il faut connecter les trépieds d'hydrophones simples ou les réseaux d'hydrophones à une certaine distance de la plateforme de l'instrument pour réduire le bruit. La vitesse du son se mesure soit directement (à l'aide d'un profileur ou d'un capteur de vitesse du son) soit en la dérivant de la température, de la salinité (conductivité) et de la pression mesurées à l'aide d'une sonde CTD (voir par. 67 à 70). On trouvera la méthode de calcul pour dériver la vitesse du son dans Wong et Zhu (1995).

98. Il convient de mesurer les paramètres suivants : niveaux spectraux de bruit et, éventuellement, vitesse du son.

99. À partir de ces mesures, il convient de déterminer les éléments suivants : les niveaux de bruit ambiant dans les profils verticaux à travers la colonne d'eau, de la surface de la mer au fond marin, la variabilité temporelle des niveaux de bruit ambiant, les profondeurs du canal de fixation du son et de télémétrie, et la vitesse du son (si elle n'est pas mesurée directement).

## I. Qualité des données

100. On trouvera dans Thomson et Emery (2014) les techniques d'analyse, y compris les méthodes statistiques, qui doivent être utilisées pour l'acquisition, le traitement et la présentation des données, le traitement des erreurs, l'analyse des champs de données spatiales et des séries chronologiques de ces techniques et méthodes.

101. Pour obtenir des données de la plus haute qualité, il convient d'appliquer des corrections aux sondes CTD. Les procédures d'étalonnage varient d'un laboratoire à l'autre, mais il est généralement admis que (sachant que les capteurs de pression et de température peuvent faire l'objet d'un étalonnage en laboratoire avant et après la croisière) le capteur de conductivité est mieux étalonné par comparaison avec des échantillons recueillis pour l'analyse de la salinité (Groupe Données et information

du Conseil international pour l'exploration de la mer, 2006 ; Petihakis *et al.*, 2014, ainsi que les informations et manuels fournis par les fabricants) et avec l'eau de mer standard de l'Association internationale des sciences physiques de l'océan.

102. Pour le contrôle de la qualité des données recueillies par sonde CTD, il convient de s'appuyer sur les informations fournies dans les publications suivantes : groupe de travail DATA-MEQ du Système mondial d'observation de l'océan pour l'Europe (2010), COI (2010) ou Système intégré d'observation de l'océan des États-Unis (2020a, 2020b).

103. Pour le contrôle et la correction de la qualité des données associées aux engins sous-marins autonomes et aux planeurs, il convient de consulter les publications suivantes : Allen *et al.* (2018, 2020), Système intégré d'observation de l'océan des États-Unis (2016) et Woo (2011). Pour la gestion des données, il convient de consulter EGO Gliders Data Management Team (2020).

104. Pour les mesures de la température de surface de la mer et de la salinité, il convient de consulter Le Menn *et al.* (2019) et Data Buoy Cooperation Panel (2011).

105. Pour plus d'informations sur les différents types de dériveurs et de flotteurs, les possibilités et les avantages de leur utilisation, les contraintes et les innovations, voir Lumpkin *et al.* (2017).

106. Il faut convertir les valeurs de température en température potentielle, en tenant compte de l'effet de la pression hydrostatique. La densité (densité potentielle) doit être calculée indirectement à partir de la salinité, de la température (température potentielle) et de la pression en utilisant l'équation d'état (TEOS-10).

107. On trouvera des orientations sur le contrôle de la qualité des données d'ADCP dans Système mondial d'observation de l'océan pour l'Europe (2019a) et groupe de travail DATA-MEQ du Système mondial d'observation de l'océan pour l'Europe (2010). On trouvera des informations sur la correction et le traitement des données de mouillage (ADCP, courantomètre à rotor ou RCM, Microcat) dans Karstensen (2005).

108. L'étalonnage est crucial pour obtenir des mesures précises du bruit. Il convient de consulter les directives et publications suivantes : Biber *et al.* (2018) (pour les détails de l'étalonnage) et Robinson *et al.* (2014), ainsi que Système intégré d'observation de l'océan des États-Unis (2017) (pour le contrôle de la qualité).

109. Tout modèle doit être validé.

110. La résolution spatiale des radiomètres modernes est de 1 km (radiomètre avancé à très haute résolution), mais ils ne fonctionnent que par temps sans nuage. Les capteurs micro-ondes passifs peuvent être utilisés pour observer même dans des conditions nuageuses, car ils reposent sur des longueurs d'onde plus grandes (6 à 12 GHz), mais ils ont une résolution spatiale beaucoup plus faible (25 à 50 km) (Talley *et al.*, 2011). Les radiomètres à micro-ondes peuvent être utilisés pour mesurer la salinité de la surface de la mer avec une résolution spatiale de 50 à 100 km à des échelles temporelles d'une semaine ou d'un mois, respectivement (Talley *et al.*, 2011 ; Thomson et Emery, 2014). Outre la température et la salinité de surface, les satellites peuvent mesurer la répartition de la glace de mer, la hauteur des vagues, la hauteur de la surface, la rétrodiffusion radar et la couleur de l'océan. On trouvera de plus amples informations sur la télédétection par satellite dans la littérature (par exemple, Stewart, 1985 ; Robinson, 2004 ; COI, 1992), les documents du Groupe international de coordination sur la couleur de l'océan et les Protocoles d'optique océanique pour la validation des capteurs de couleur de l'océan par satellite.

111. Au cours des dernières décennies, de vastes ensembles de données ont été accumulés dans le cadre de divers programmes scientifiques internationaux. Il s'agit

de données en accès libre qui doivent être utilisées à des fins de comparaison avec les données de référence recueillies pour l'assurance qualité. Par exemple :

- a) Expérience sur la circulation océanique mondiale 1990-2002 ([www.nodc.noaa.gov/woce/wdiu](http://www.nodc.noaa.gov/woce/wdiu)) ;
- b) Données des flotteurs de subsurface de l'Expérience sur la circulation océanique mondiale ([www.aoml.noaa.gov/phod/float\\_traj/index.php](http://www.aoml.noaa.gov/phod/float_traj/index.php)) ;
- c) Base de données océaniques mondiales ([www.nodc.noaa.gov/OC5/WOD/pr\\_wod.html](http://www.nodc.noaa.gov/OC5/WOD/pr_wod.html)) ;
- d) Programme sur les profils de la température et de la salinité à l'échelle du globe ([www.nodc.noaa.gov/GTSPP](http://www.nodc.noaa.gov/GTSPP)) ;
- e) SeaDataNet ([www.seadatanet.org](http://www.seadatanet.org)) ;
- f) Base de données océaniques pour la réanalyse de Coriolis ([www.coriolis.eu.org/Data-Products/Products/CORA](http://www.coriolis.eu.org/Data-Products/Products/CORA)) ;
- g) Bibliothèque de données Pangaea ([www.pangaea.de/?t=Oceans](http://www.pangaea.de/?t=Oceans)) ;
- h) Programme mondial de bouées dérivantes, ancien Programme vitesses de surface : ([www.aoml.noaa.gov/phod/gdp/index.php](http://www.aoml.noaa.gov/phod/gdp/index.php)) ;
- i) Base de données mondiale sur les courants océaniques ([www.ncei.noaa.gov/products/global-ocean-currents-database-gocd](http://www.ncei.noaa.gov/products/global-ocean-currents-database-gocd)) ;
- j) Flotteurs Argo : page d'accueil d'Argo ([www.argo.ucsd.edu](http://www.argo.ucsd.edu)) et page d'accueil du projet international Argo ([www.argo.net](http://www.argo.net)) ; Données de flotteurs Argo équipés de capteurs biogéochimiques (<https://biogeochemical-argo.org>) ;
- k) Données archivées de bouées dérivantes, gestion intégrée des données scientifiques, Pêches et Océans Canada (<https://www.dfo-mpo.gc.ca/science/data-donnees/drib-bder/index-fra.html>) ;
- l) En outre, les atlas électroniques suivants peuvent être utiles :
  - i) Atlas mondial des océans 2018 ([www.nodc.noaa.gov/OC5/woa18](http://www.nodc.noaa.gov/OC5/woa18)) ;
  - ii) Atlas électronique des données des expériences sur la circulation océanique mondiale ([www.ewoce.org](http://www.ewoce.org)).

## J. Gestion des données

112. Les données et métadonnées doivent être fournies à l'Autorité comme indiqué à la section III.E. On trouvera des orientations supplémentaires pour certaines variables dans les ressources mentionnées ci-dessus.

## V. Océanographie chimique et biogéochimie

### A. Introduction

113. Il importe de bien appréhender l'environnement chimique de la colonne d'eau et des sédiments (c'est-à-dire les eaux interstitielles et la fraction solide) afin de décrire les conditions océanographiques et biogéochimiques de référence et d'évaluer, à un stade ultérieur, à la fois l'impact direct de l'exploitation minière des fonds marins et l'impact indirect résultant de la mise en suspension de panaches de particules sédimentaires qui pourraient être dispersés, y compris leur dépôt éventuel sur les fonds marins et leur impact sur les phénomènes caractéristiques de la colonne d'eau.

114. Le développement de panaches de sédiments en suspension dépendra largement des techniques d'extraction qui seront employées. Les panaches peuvent se disperser sur des distances plus importantes (d'un kilomètre à plusieurs dizaines de kilomètres), ils peuvent se distinguer des eaux environnantes par la taille de leurs particules et leur composition chimique ; ils se réinstalleront loin du lieu d'origine et, de ce fait, pourront présenter un impact sur les écosystèmes pélagiques et benthiques, leurs fonctions ainsi que sur les cycles biogéochimiques marins dans de plus grandes zones.

115. La biogéochimie des sédiments marins est la science des phénomènes et des caractéristiques des fonds marins. Elle allie l'étude des conversions biochimiques à l'observation des phénomènes biologiques, géochimiques et géologiques associés. Les observations portent sur les phénomènes benthiques associés à la reminéralisation de la matière organique transportée depuis les eaux de surface dans une cascade de réactions d'oxydoréduction. Les mesures sont basées principalement sur les résultats de l'échantillonnage des sédiments et de l'extraction subséquente, par couches, des eaux interstitielles et de l'extraction en phase solide des sous-échantillons destinés à l'analyse. Dans certains cas, comme pour les taux de demande en oxygène et la distribution du pH, les mesures s'obtiennent directement sur les fonds marins (c'est-à-dire *in situ*). Pour toutes les variables relatives aux eaux interstitielles qui seront utilisées ultérieurement pour quantifier le rejet d'eaux interstitielles et la dispersion du panache, un échantillonnage supplémentaire doit cibler les eaux de fond afin de construire une base de référence permettant d'identifier les solides ou les eaux interstitielles rejetés à la suite des perturbations du fond marin ou des matériaux rejetés, ainsi que leurs effets (c'est-à-dire la distribution, le transport et la transformation des réactifs et des produits des réactions).

116. Les variables chimiques qu'il convient de mesurer dans la colonne d'eau, les sédiments et les eaux interstitielles sont les suivantes :

a) Nutriments : la présence de macronutriments inorganiques ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) dans la partie supérieure de l'océan limite et régule continuellement la quantité de carbone organique fixée par le phytoplancton et constitue un mécanisme clé de régulation de la quantité de matière organique présente sur le fond marin. La concentration de nutriments dans les eaux interstitielles ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4$  et  $\text{PO}_4$ ) est un indicateur du cycle biogéochimique de la matière organique et des conditions d'oxydoréduction dans les différentes couches de sédiments ;

b) Oxygène : la concentration en oxygène dans la colonne d'eau renseigne sur la production de matière organique dans la couche superficielle et sa reminéralisation lors du déplacement vers les fonds marins. La distribution de l'oxygène dans les sédiments, la profondeur de pénétration de l'oxygène et le flux à l'interface eau-sédiment sont une mesure de la reminéralisation de la matière organique benthique et de l'activité de la communauté benthique. En outre, la disponibilité de l'oxygène a une incidence sur la mobilité de la plupart des métaux ;

c) Système des carbonates : ce système a une incidence sur la production primaire, la reminéralisation du carbone organique, l'oxydation des métaux dans les panaches de particules sédimentaires, l'acidification des océans, la désoxygénation dans la colonne d'eau, la reminéralisation de la matière organique, les réactions d'oxydoréduction secondaires et les réactions eaux interstitielles-minéraux induites dans les sédiments, le tout affectant les fonctions écosystémiques ;

d) Métaux traces : nombre de métaux traces sont des éléments essentiels au maintien des fonctions cellulaires des microorganismes. Toutefois, à des concentrations élevées, ces éléments peuvent entraîner une toxicité qui dépend du métal, de la spéciation chimique et de l'organisme ;



e) Matières organiques et inorganiques : l'apport de matières organiques aux fonds marins est le principal moteur des processus biogéochimiques. Cela assure la présence de nourriture pour alimenter la biomasse et la biodiversité des organismes benthiques grâce aux interactions dans le réseau trophique benthique. Les observations dans la colonne d'eau sont axées sur la productivité et l'exportation, tandis que les mesures prélevées dans les fonds marins servent à quantifier la quantité et la qualité de matière organique disponible pour les organismes benthiques, le cycle biogéochimique des fonds marins et la dynamique de la régénération de la matière organique benthique ;

f) Traceurs isotopiques radioactifs (radiotraceurs) : une analyse des isotopes radioactifs associés à la phase solide des sédiments est nécessaire pour quantifier l'activité de bioturbation dans les sédiments et déterminer les taux de sédimentation. La distribution des isotopes radioactifs naturels sert de référence pour déterminer les impacts directs de l'exploitation minière sur les sédiments et la colonne d'eau (y compris la libération des eaux interstitielles). En outre, elle permet d'analyser les isotopes radioactifs et, partant, l'intensité de la radioactivité naturelle dans les nodules une fois l'exploitation minière commencée.

## B. Méthodologie générale

117. Pour la plupart des variables chimiques et biogéochimiques, il existe des méthodes communément admises et celles-ci peuvent être utilisées pour garantir des données de haute qualité, exactes et précises, pouvant être comparables entre les différents secteurs d'exploitation et les contractants.

118. Les paramètres chimiques de la colonne d'eau sont échantillonnés en utilisant la technique la plus indiquée parmi les suivantes :

a) Bouteilles à prélèvement munies de sondes CTD (capteurs de conductivité, température, profondeur) intégrées à des robots sous-marins télécommandés pour : les nutriments, l'oxygène, le système des carbonates, les métaux traces (en utilisant des sondes sans métaux/bouteilles Go-Flo), la matière organique dissoute et les particules en suspension, y compris la matière organique particulaire. Les capteurs chimiques optiques et électrochimiques peuvent être utilisés pour obtenir des données en continu et des informations générales sur les propriétés chimiques, mais ne doivent pas remplacer l'échantillonnage intermittent qui permet une analyse chimique de hautes précision et qualité ;

b) Pompes *in situ* pour l'activité des isotopes radioactifs, les métaux traces et les concentrations de particules en suspension ;

c) Pièges à sédiments amarrés ou captifs pour mesurer les concentrations et les flux de particules ;

d) Réseau des flotteurs BGC-Argo pour mesurer le pH, les nitrates, l'oxygène, entre autres.

119. Les sondes CTD, le déploiement de pompes *in situ* et les pièges à sédiments captifs nécessitent un travail stationnaire, ce qui limite la flexibilité de l'acquisition des données, il faudrait donc déployer les pièges à sédiments amarrés dans la colonne d'eau jusqu'à deux ans pour des observations résolues dans le temps. En outre, des flotteurs autonomes, des dériveurs et des dispositifs similaires équipés de capteurs chimiques, biochimiques et optiques sont utiles pour obtenir des données spatiales et temporelles pour ce qui est des variables chimiques.

120. Les échantillons destinés à l'analyse des sédiments et des eaux interstitielles s'obtiennent à l'aide d'un carottier multitubes, d'un carottier manuel monté sur un

robot télécommandé ou d'un équipement fiable similaire pour les premiers décimètres de sédiments, et d'un carottier à gravité pour les échantillons plus profonds. En ce qui concerne les méthodes d'échantillonnage de biogéochimie et d'océanographie chimique, il convient de consulter les publications du Programme international de découverte des océans (ancien Programme intégré de forages océaniques 2003-2013), de Go-Ship et de l'initiative Geotraces (qui est axée sur la colonne d'eau) pour connaître les méthodes d'échantillonnage d'océanographie chimique et de biogéochimie communément acceptées et convenues, ainsi que les publications du répertoire du Système de bonnes pratiques océanographiques (hébergé par l'IODE, qui fait partie de la COI), de même que les variables océaniques essentielles définies par le Système mondial d'observation de l'océan (GOOS).

121. Les eaux interstitielles doivent être extraites directement après la remontée des carottes, en utilisant des méthodes appropriées pour chaque variable. De plus, dans la mesure du possible, il faudrait déterminer le plus grand nombre de variables biogéochimiques possibles à partir des mêmes échantillons d'eaux interstitielles. Il convient de procéder à l'extraction dans les deux heures qui suivent la collecte. Pour certains composants dissous dont on s'attend à ce qu'ils changent plutôt lentement (par exemple, le phosphate et l'acide silicique), les échantillons d'eaux interstitielles peuvent être stockés à -20 °C ou -80 °C jusqu'à ce qu'ils soient ramenés à terre pour être analysés. Les carottes sédimentaires qui ne sont pas étudiées pour les eaux interstitielles peuvent être stockées à 4 °C ou plus froid (avant que ne soient prélevés des sous-échantillons pour chaque couche sédimentaire). Pour certains constituants sensibles (par exemple les nutriments), l'analyse des eaux interstitielles s'effectue à bord dès que possible après leur extraction des sédiments, tandis que d'autres analyses peuvent être effectuées dans les laboratoires à terre sur des échantillons transportés congelés ou refroidis et conservés de manière appropriée.

122. Sachant que les conditions des eaux surjacentes influent sur les phénomènes biogéochimiques et les flux de solutés dans l'interface eau-sédiments, l'eau de mer se trouvant au-dessus du sédiment dans le tube de carottage doit être échantillonnée comme membre extrême des eaux interstitielles. Comme l'échantillon peut être altéré pendant la récupération ou la manipulation, il convient de le comparer aux échantillons de la colonne d'eau la plus profonde provenant du dispositif CTD.

123. Il faut échantillonner les sédiments suboxiques et les eaux interstitielles à l'aide d'un sac scellé à gants renversés sous une atmosphère exempte d'oxygène (c'est-à-dire que le sac est rempli d'un gaz inerte, par exemple de l'azote ou de l'argon) afin de préserver la spéciation des métaux et d'autres variables sensibles à l'oxydoréduction.

124. On trouvera ci-après des références aux meilleures pratiques existantes et actualisées pour chaque variable, avec des indications sur les modifications à apporter pour qu'elles soient adaptées à l'exploitation des ressources des fonds marins. Si les meilleures pratiques n'ont pas encore été communément arrêtées (par exemple, fractionnement colloïdal/nanoparticulaire pour les métaux traces), une méthodologie est recommandée et les références aux publications scientifiques les plus récentes sont indiquées. Le GOOS ([www.goocean.org](http://www.goocean.org)) est un système collaboratif durable d'observation des océans, qui englobe des réseaux *in situ*, des systèmes satellitaires, des pays, des entités du système des Nations Unies et des scientifiques individuels. La plupart des variables font partie des variables océaniques essentielles telles que définies par le GOOS.

125. Comme les méthodes peuvent être sujettes à des changements (en raison de nouvelles avancées technologiques, par exemple), il convient d'utiliser des répertoires de bonnes pratiques en ligne pour appréhender les mises à jour de la méthodologie. Il est recommandé de consulter le répertoire du Système des meilleures

pratiques océanographiques (<https://repository.oceanbestpractices.org>) étant donné qu'il s'agit d'une plateforme centralisant la recherche et la découverte des meilleures pratiques existantes en matière de recherche, d'observation et de gestion des données et de l'information en matière d'océanographie. Il est possible d'accéder librement au répertoire numérique pour consulter les meilleures pratiques communément admises en matière de sciences et d'applications liées à l'océanographie. Il est géré par l'IODE, qui fait partie de la COI.

### C. Résolution de l'échantillonnage

126. Les données archivées d'altimétrie recueillies par satellite de télédétection et les données sur la température de la mer en surface, les données sur la couleur de l'océan et les données hydrographiques disponibles dans les répertoires de données servent à estimer les variations spatiales et temporelles escomptées des caractéristiques océanographiques de surface qui contrôlent la productivité primaire dans un secteur d'exploitation. Ces informations doivent être combinées avec celles portant sur les phénomènes océaniques et atmosphériques afin de déterminer la bonne stratégie d'échantillonnage temporel et spatial pour ce qui est des paramètres chimiques dans la colonne d'eau au sein d'une région donnée afin de couvrir les zones présentant une productivité primaire différente et les caractéristiques océanographiques changeantes. Au moins une sonde CTD et deux pièges à sédiments (l'un installé près du plancher océanique et l'autre à environ 500 m au-dessus des fonds marins) doivent être placés dans la colonne d'eau au-dessus du secteur d'exploitation minière visé par le contrat (y compris la zone témoin d'impact) et la zone témoin de préservation. L'échantillonnage CTD et l'échantillonnage avec des pièges automatisés devraient y être effectués de manière répétée pour résoudre la variabilité temporelle. En outre, il convient d'obtenir des transects dans tout le secteur avec des stations CTD régulièrement espacées à des distances d'environ 100 km.

127. Pour les mesures de la colonne d'eau, les échantillons doivent être prélevés dans toute la colonne, en veillant à ce que toutes les zones identifiées par les données d'océanographie physique (voir sect. IV) soient décrites (par exemple, la couche homogène de surface, la pycnocline, l'étendue de la zone du minimum d'oxygène et les masses d'eau océanographiques individuelles dans la thermocline et les régions d'eaux intermédiaires et profondes).

128. Comme indiqué au paragraphe 22, il est recommandé d'appliquer une résolution d'échantillonnage verticale plus élevée à proximité du fond marin, car cela couvre l'espace vertical prévu pour la dispersion du panache d'extraction et constitue en outre la profondeur la plus probable pour la dispersion du panache de rejets. Si la profondeur du panache de rejets n'est pas encore déterminée au moment de l'état de référence initial, il importe de caractériser toutes les profondeurs potentielles de rejet.

129. L'acquisition de données intégrées avec l'échantillonnage CTD, le pompage *in situ* et le déploiement de pièges à sédiments doit se faire aussi près que possible du fond marin. Pour évaluer les flux benthiques naturels (de métaux) des sédiments vers les eaux de fond sus-jacentes, il importe que l'échantillonnage soit réalisé aussi près que possible du fond marin. Outre l'échantillonnage ponctuel à l'aide d'un dispositif CTD, il convient de déployer à long terme des échantillonneurs passifs le long d'un gradient vertical allant du fond marin jusqu'à 10 m au-dessus de celui-ci.

130. L'échantillonnage doit être effectué avec le même dispositif et au même moment dans la mesure du possible (voir sect. III.C) et doit suivre le plan d'échantillonnage stratifié emboîté. Les considérations générales relatives à la variabilité spatiale et temporelle s'appliquent (voir sect. III.A). Des détails supplémentaires concernant des variables spécifiques sont communiqués ci-après.

## D. Variable mesurée : nutriments

131. On trouve dans le manuel Go-Ship révisé de Becker *et al.* (2019) et dans les protocoles standard de Gieskes *et al.* (1991), et Grasshoff *et al.* (1999) l'approche recommandée des meilleures pratiques pour mesurer les macronutriments inorganiques dissous ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) dans la colonne d'eau et les eaux interstitielles. Il faut effectuer les mesures en utilisant des méthodes d'analyse en flux continu ou segmenté avec un matériau de référence certifié ou un matériau de référence pour les nutriments dans l'eau de mer afin de garantir le contrôle de la qualité pendant l'analyse.

132. Même avec des équipements de haute précision, il est difficile de mesurer la quantité d'ammonium dans les eaux interstitielles des grands fonds en raison de sa très faible concentration. Par conséquent, lorsque la concentration s'approche du seuil de détectabilité, la mesure de la quantité d'ammonium dans les eaux interstitielles peut être omise jusqu'à ce que de meilleures méthodes analytiques soient disponibles. L'acide silicique présent dans les eaux interstitielles des grands fonds n'a pas un fort potentiel diagnostique pour la description du système géochimique benthique et peut donc également être omis des observations de base.

133. Les concentrations de nutriments, en particulier les nitrates et les nitrites, doivent être mesurées immédiatement après l'échantillonnage ou analysées dans un délai d'une ou deux semaines si, dès leur collecte, les échantillons d'eau et d'eaux interstitielles sont immédiatement congelés à  $-80\text{ }^\circ\text{C}$ .

134. La méthodologie à utiliser pour déterminer la teneur en nitrates et en nitrites de l'eau de mer et des eaux interstitielles (et, concomitamment, les concentrations de phosphate et d'acide silicique en utilisant l'analyse en flux segmenté) est la suivante :

a) Quelques millilitres d'eau non traitée ou d'eaux interstitielles fraîchement extraites (ou fraîchement décongelées) doivent être analysés, généralement après dilution double (eau) ou triple (eaux interstitielles), tandis que le système d'analyse en flux segmenté est constamment rincé à l'azote ;

b) Les concentrations totales en  $\text{NO}_x$  (nitrate + nitrite) doivent être déterminées par colorimétrie à 520-540 nm après la réduction du nitrate en nitrite à pH 8 en utilisant une bobine de cadmium cuivré ;

i) La teneur en nitrite est mesurée séparément par colorimétrie à 520-540 nm après sa réaction avec le sulfanilamide dans des conditions acides ;

ii) La concentration en nitrates se mesure en retranchant la concentration mesurée de nitrites des valeurs totales de  $\text{NO}_x$  ;

c) La teneur en phosphate doit être déterminée par colorimétrie à 820 nm (sulfate de dihydrazine) ou 880 nm (acide ascorbique) selon la méthode au bleu de molybdène ;

d) La concentration en acide silicique doit être mesurée par colorimétrie à 660 nm (chlorure stanneux) ou 820 nm (acide ascorbique) en formant un complexe de molybdate de silice.

135. Les données doivent être rapportées en mol/l (ou nmol/l,  $\mu\text{mol/l}$  ou mmol/l, selon la gamme de concentration spécifique du constituant) et les données sur la phase solide en mg/kg ou en pourcentage pondéral. Il convient de toujours rapporter les données avec les entrées vides (le cas échéant), les limites de quantification et les résultats en fonction du matériel de référence certifié et/ou du matériel de référence pour les nutriments dans l'eau de mer. Chaque échantillon doit être analysé doublement ou triplement. La précision analytique pour chaque échantillon ne doit

pas dépasser 5 % d'écart-type relatif. Les étalonnages pour chaque constituant/nutriments des eaux interstitielles doivent être effectués en utilisant de l'eau de mer standard AISPO avec au moins six étalons. Le coefficient de détermination ( $r^2$ ) de chaque courbe d'étalonnage doit être supérieur à 0,98. Les concentrations moyennes en nutriments se calculent à partir de mesures effectuées en double ou en triple et affichées sous forme de graphiques de profondeur. Il convient de fournir des informations sur la qualité analytique (c'est-à-dire l'exactitude, la précision) pendant la mesure.

136. Il faut effectuer des mesures pour  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  à la fois dans la colonne d'eau et dans les eaux interstitielles tandis que les mesures pour  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{Si(OH)}_4$  s'effectuent dans la colonne d'eau uniquement.

137. Ces mesures permettent de déterminer la production primaire (colonne d'eau uniquement), le taux de respiration, la reminéralisation, la désoxygénation et les flux benthiques, ainsi que la zonation d'oxydoréduction dans les sédiments.

## E. Variable mesurée : oxygène

138. La méthodologie à suivre pour mesurer la distribution de l'oxygène dans la colonne d'eau est décrite dans Langdon (2010), McTaggart *et al.* (2010), et Uchida *et al.* (2010). Il convient de consulter Bittig *et al.* (2018) pour ce qui est des optodes. Une méthode de laboratoire automatisée qui peut être utilisée, à l'aide d'un support logiciel, est présentée par l'Oceanographic Data Facility de la Scripps Institution of Oceanography (<https://scripps.ucsd.edu/ships/shipboard-technical-support/odf/chemistry-services/dissolved-oxygen>).

139. Les observations de l'oxygène dans les fonds marins couvrent à la fois les mesures de la consommation d'oxygène et la profondeur de pénétration de l'oxygène dans les sédiments. Les mesures de consommation se font surtout sur la couche supérieure des sédiments et doivent être effectuées *in situ* (c'est-à-dire directement sur le plancher océanique). Des mesures de la distribution de l'oxygène le long de la colonne stratigraphique doivent être obtenues en laboratoire à partir de carottes récupérées avec des carottiers multitubes (pour les décimètres supérieurs) et via un carottage par gravité pour déterminer la profondeur de pénétration (c'est-à-dire la profondeur à laquelle la concentration d'oxygène tombe à zéro) (par exemple, Mewes *et al.*, 2014). L'oxygène doit être mesuré à l'aide de capteurs, qu'il s'agisse de sondes à oxygène optiques (optodes) ou d'électrodes de Clark, pour permettre des mesures à la résolution spatiale requise et éviter le risque de contamination par l'oxygène atmosphérique qui est associé aux méthodes basées sur l'échantillonnage. Il convient de recourir à des microcapteurs (microélectrodes et optodes à fibres optiques) pour enregistrer les profils verticaux de la concentration en oxygène dans les eaux interstitielles. Des capteurs optiques plus grands et plus stables dans le temps devraient être utilisés (macrooptodes) pour les mesures de séries chronologiques de l'oxygène dans les chambres benthiques ou les eaux de fond. Les capteurs doivent être soigneusement étalonnés en laboratoire et les enregistrements obtenus *in situ* doivent être validés en comparant les mesures prises au-dessus des sédiments avec les concentrations dans les eaux de fond déterminées au moyen des méthodes mentionnées précédemment.

140. De fortes dynamiques spatiales et saisonnières sont attendues dans le cas de la demande en oxygène des fonds marins. Les mesures *in situ* effectuées au cours des expéditions par profilage ou par incubation en chambre doivent donc couvrir différents intervalles de temps relatifs aux principaux événements de productivité et d'exportation (par exemple, les efflorescences algales, les pics de flux verticaux et les dépôts de phytodétritus). Pour tenir pleinement compte de la variabilité saisonnière,

ces mesures doivent être complétées par des séries temporelles de mesures de la demande en oxygène effectuées de manière autonome par profilage répété et/ou par incubation en chambre (voir ci-dessous) avec des plateformes mobiles (engin de ramassage de la faune benthique) sur des périodes plus longues de plusieurs mois ou tout au long de l'année.

141. La demande en oxygène se mesure *in situ* à l'aide de chambres benthiques et de microprofileurs (Boetius et Wenzhöfer, 2013). Les incubations en chambre déterminent la demande totale en oxygène, également appelée consommation d'oxygène de la communauté sédimentaire, et les microprofileurs mesurent le flux diffusif d'oxygène. Pour mesurer le flux diffusif d'oxygène, les microcapteurs d'oxygène pénètrent les sédiments par petites étapes verticales au moyen de microprofileurs. Pour bien caractériser la demande en oxygène, les mesures *in situ* devraient généralement inclure la demande totale et le flux diffusif d'oxygène. Si la méthodologie et le paramètre envisagé (c'est-à-dire la demande en oxygène totale ou le flux diffusif d'oxygène) sont cohérents tout au long des observations de référence, l'une des deux mesures est considérée comme suffisante. Si une seule approche est retenue, il est préférable d'opter pour la mesure de la demande en oxygène totale, car cela couvre l'ensemble de la communauté sédimentaire et inclut la consommation d'oxygène ayant lieu dans les nodules et la respiration de l'épifaune des nodules. Cependant, les mesures du flux diffusif d'oxygène, qui concernent principalement la respiration microbienne, représentent une option acceptable, étant donné que la contribution de la faune est généralement faible dans les sédiments d'eau profonde et que l'on s'attend à ce que la majeure partie de la respiration ait lieu dans les sédiments plutôt que dans les nodules.

142. L'analyse de la demande en oxygène totale devrait se faire sur un laps de temps suffisamment long pour permettre de déterminer avec fiabilité le taux de diminution à partir des relevés d'oxygène compte tenu des performances de la sonde. Le flux diffusif d'oxygène se calcule à partir du profil bathymétrique d'oxygène en faisant correspondre les mesures avec un modèle unidimensionnel de diffusion et de respiration. Comme les profils *in situ* n'atteignent généralement pas la profondeur de pénétration de l'oxygène dans les environnements d'eaux profondes où les taux de respiration sont faibles, les mesures doivent couvrir la couche de sédiments où se produit une consommation significative d'oxygène (voir le paragraphe suivant).

143. Pour les profils verticaux, qu'il s'agisse de mesures *in situ* visant les flux ou de mesures dans des carottes axées sur la profondeur de pénétration de l'oxygène, le diamètre de l'extrémité du capteur et les intervalles verticaux entre les mesures consécutives doivent être inversement proportionnels à la pente du gradient d'oxygène et, par conséquent, doivent être plus petits dans les décimètres supérieurs qu'en dessous. En général, le diamètre des pointes doit être inférieur à 100  $\mu\text{m}$  pour les 0,5 m supérieurs et inférieur à 1 mm dans les couches plus profondes. Les intervalles verticaux peuvent commencer à 250  $\mu\text{m}$ , tandis qu'ils peuvent augmenter jusqu'à la fourchette centimètre-décimètre en dessous de 0,5 m. Les changements de concentration dans des intervalles de profondeur consécutifs doivent être bien inférieurs à 2 % de la concentration de l'eau de fond. Les profils *in situ* utilisés pour les calculs du flux diffusif d'oxygène devraient couvrir la couche qui contribue de manière significative à la consommation globale d'oxygène. Ils doivent couvrir au moins les 20 premiers centimètres ou atteindre la profondeur à laquelle les taux de respiration volumétrique (déterminés par la modélisation unidimensionnelle de transport-réaction) tombent en dessous de 10 % du taux maximal observé dans la partie supérieure du profil. Dans le cas des mesures de la consommation d'oxygène totale au moyen des chambres, la fréquence des observations n'est pas déterminante, car la diminution de l'oxygène est lente et une lecture toutes les deux minutes suffit.

Des fréquences plus élevées peuvent être utilisées dans le cas où les lectures de la sonde montrent une grande dispersion.

144. Pour étudier la profondeur de pénétration de l'oxygène et la zonation d'oxydoréduction dans toute la couche sédimentaire oxique, il convient de mesurer l'oxygène à partir des eaux de fond recouvrant les sédiments et poursuivre les mesures dans les eaux interstitielles sur de longues carottes jusqu'à la profondeur où l'oxygène tombe à zéro ou atteint un minimum.

145. Il importe de mesurer l'oxygène dissous ( $O_2$ ) et de fournir les données brutes sous forme de concentrations (mol/l).

146. À partir des observations de l'oxygène dans la colonne d'eau, il convient de déterminer les éléments suivants : l'utilisation apparente de l'oxygène, la production nette de la communauté, le flux net d'exportation du carbone, les inventaires d'oxygène dans l'océan, ainsi que la désoxygénation et la consommation due à l'oxydation des métaux réduits. Pour les sédiments, il convient de déterminer ce qui suit : la profondeur de pénétration de l'oxygène, la respiration volumétrique des différentes couches de sédiments, les taux de consommation d'oxygène/demande en oxygène de la communauté sédimentaire, les taux de reminéralisation du carbone et les taux nets de flux de matière organique vers les fonds marins. En outre, il importe de décrire la zonation d'oxydoréduction dans les sédiments.

## F. Variable mesurée : système des carbonates

147. En lieu et place de l'alcalinité des carbonates (décrite dans le document [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) lu de pair avec le document paru sous la cote [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#)), la mesure de l'alcalinité totale permet de caractériser le système des carbonates, car des molécules autres que les composés des carbonates et des bicarbonates, comme le borate, le sulfure d'hydrogène et le carbone organique dissous, contribuent généralement à cette variable.

148. On trouvera des informations détaillées concernant l'acquisition de données sur les variables du système des carbonates, y compris la qualité des données, dans la littérature sur l'océanographie chimique et la biogéochimie, comme Dickson *et al.* (2007) et la Commission européenne (2011).

149. Pour limiter les incidences sur la suite complète du système d'acide carbonique de l'eau de mer (c'est-à-dire  $[CO_2]$ ,  $[H_2CO_3]$ ,  $[HCO_3^-]$ ,  $[CO_3^{2-}]$ ,  $[H^+]$ ), il faut combiner la pression, la température et la salinité avec deux des éléments suivants : le carbone inorganique dissous, l'alcalinité des carbonates, le  $pCO_2$  et le pH (Millero, 2013). Alors que l'alcalinité totale est une variable fiable du système des carbonates qui peut être mesurée *ex situ* sans provoquer d'artéfact, le carbone inorganique dissous, le pH et le  $pCO_2$  sont sensibles aux changements de pression et de température ainsi qu'au dégazage induit lors de la récupération d'échantillons du fond marin à la surface de la mer. Par conséquent, le pH et le  $pCO_2$  doivent être mesurés *in situ* pour éviter les artéfacts d'échantillonnage *ex situ* qui ne peuvent être corrigés lors du traitement des données.

150. Pour tenir compte des contributions à l'alcalinité totale d'autres produits chimiques tels que le borate et le sulfure d'hydrogène, il convient d'effectuer des mesures supplémentaires pour les eaux interstitielles des sédiments. Comme il est difficile de mesurer les espèces individuelles, ces variables supplémentaires sont généralement la concentration totale de bore (c'est-à-dire la somme du borate et de l'acide borique) et la concentration totale de sulfure (c'est-à-dire la somme de  $[S_2^-]$ ,  $[HS^-]$  et  $[H_2S]$ ). Il s'agit de variables fiables qui peuvent être mesurées *ex situ*.

151. Il convient de se rapporter à la grille de spécification des variables océaniques essentielles du GOOS pour de plus amples informations sur les réseaux d'observation mondiaux actuels, y compris les techniques de détection disponibles (principalement pour la teneur en CO<sub>2</sub> et le pH, par exemple dans le cas de Biogeochemical Argo) et la capacité d'observation future.

152. Il faudrait déterminer le système des carbonates à l'aide de l'alcalinité totale et d'au moins un des éléments suivants : carbone inorganique dissous, pH et pCO<sub>2</sub> (Dickson *et al.*, 2007 ; Commission européenne, 2011). Il convient de prendre en compte d'autres variables, telles que la concentration totale de bore, la concentration totale de sulfure et le carbone organique dissous, si elles contribuent à l'alcalinité totale (Luff *et al.*, 2001 ; Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001).

153. Les méthodologies pour chacune d'entre elles sont les suivantes :

a) Pour déterminer l'alcalinité totale des échantillons d'eaux interstitielles, il faut prélever des aliquotes et y injecter une solution de HCl diluée, observer la modification du pH par spectroscopie, potentiométrie ou optique (choisir l'indicateur pH le plus indiqué) et ajouter de l'azote ou de l'argon à la solution dans le récipient de titrage pour en éliminer le CO<sub>2</sub> et le H<sub>2</sub>S (par exemple, Wallmann *et al.*, 2006 ; Haffert *et al.*, 2013) ;

b) Pour les échantillons de la colonne d'eau, il convient de suivre la méthodologie décrite dans les directives de la communauté de l'acidification des océans, [Dickson *et al.* (2007) et la Commission européenne (2011)] ;

c) La teneur totale en carbone inorganique dissous doit être déterminée par coulométrie après extraction d'aliquotes dans les eaux interstitielles. Il faut préserver les échantillons de toute dégradation microbienne supplémentaire par l'adjonction d'une solution de HgCl<sub>2</sub> et les stocker dans des flacons hermétiquement fermés rincés à l'azote gazeux pour éviter tout échange de gaz avec l'atmosphère. Le carbone inorganique dissous doit être converti en CO<sub>2</sub> en traitant l'échantillon avec de l'acide phosphorique. Pour la mesure, il faut transférer le gaz au coulomètre avec un gaz vecteur (hélium purifié). Les sulfures dissous dans l'échantillon doivent être précipités sous forme de monosulfure de cuivre (CuS) en ajoutant du sulfate de cuivre (CuSO<sub>4</sub>) à l'échantillon. Selon une méthode analogue, il convient de déterminer la signature isotopique δ <sup>13</sup>C du carbone inorganique par spectrométrie de masse du rapport isotopique. La signature isotopique du carbone stable dans le carbone inorganique dissous fournit des informations supplémentaires qui aident à discriminer la production de carbone inorganique dissous organoclastique des voies d'oxydation du méthane ;

d) Il faut mesurer les profils de pH *in situ* à l'aide de microélectrodes en verre (par exemple, Wenzhöfer *et al.*, 2001 ; Revsbech et Jorgensen, 1986) ;

e) Le pCO<sub>2</sub> ou la concentration de CO<sub>2</sub> dissous se mesure *in situ* à l'aide de microoptodes (par exemple, Wenzhöfer *et al.*, 2001) ;

f) La concentration totale de bore est mesurée par spectrométrie d'émission optique à plasma induit par haute fréquence ou par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif ;

g) La concentration totale de sulfure se mesure par spectrophotométrie (bleu de méthylène) (Grasshoff *et al.*, 1999 ; Haffert *et al.*, 2013) ;

h) Il faut mesurer la quantité totale de carbone dissous sur le même échantillon que le carbone inorganique dissous, comme décrit dans la section H.

154. Comme certaines des variables du système des carbonates marins sont perturbées par des mesures relatives à d'autres espèces (par exemple, Luff *et al.*,



2001 ; Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001), il faut signaler la propagation des incertitudes lors de la mesure des variables. Le facteur le plus important pour la propagation des incertitudes du système de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) marin est le choix des incertitudes d'entrée elles-mêmes (Orr *et al.*, 2018). Étant donné que les échantillons peuvent être conservés facilement et que les mesures sont effectuées avec une faible incertitude, il convient d'utiliser la mesure de la somme des variables (alcalinité totale, carbone inorganique dissous, concentration totale de bore, concentration totale de sulfure), mais d'autres combinaisons, telles que le pH et le carbone inorganique dissous peuvent être utilisées pour calculer l'alcalinité des carbonates et les types de carbonates si la part de borate et de sulfure d'hydrogène dans l'alcalinité totale peuvent être négligées.

155. Il est capital d'utiliser des échantillons de matériaux de référence certifiés dans l'analyse du carbone inorganique dissous et de l'alcalinité totale pour évaluer la chimie de l'eau de mer dans le temps et pour calculer avec précision le pCO<sub>2</sub> et le pH des échantillons. À cet égard, il convient d'obtenir le matériel de référence de l'eau de mer auprès de l' AISPO ou de la Scripps Institution of Oceanography. Il convient de consulter Dickson *et al.* (2007) pour calculer l'écart-type des mesures. S'agissant de la propagation des incertitudes, il convient de consulter la documentation d'Orr *et al.* (2018). Les mêmes références valent pour ce qui a trait aux routines complémentaires des logiciels permettant de calculer les variables de la chimie des carbonates (seacarb, CO2SYS pour Excel, CO2SYS pour MATLAB, mocsy) et à la documentation y relative. En outre, il existe des logiciels en accès libre pour d'autres systèmes acide-base, tels que le borate et le sulfure, qui contribuent au pH et à l'alcalinité totale (AquaENV ; Hofmann *et al.* 2010), et pour les effets de la pression (SUGAR Toolbox ; Haffert *et al.*, 2013).

156. À partir de ces mesures, il faut calculer les éléments suivants : les états de saturation des minéraux carbonatés, comme l'aragonite et la calcite ainsi que les minéraux silicates ; la profondeur de compensation des carbonates ; la lysocline ; les taux de réaction pour la dissolution des minéraux carbonates/silicates ; la reminéralisation de la matière organique et l'oxydation des métaux réduits. Il convient de déterminer la zonation d'oxydoréduction.

## G. Variable mesurée : métaux traces

157. Il importe de consulter la publication *Sampling and Sample-handling Protocols for Geotraces Cruises* (également connue sous le nom de « Geotraces cookbook ») pour obtenir des recommandations spécifiques sur les procédures d'échantillonnage, de nettoyage et de manipulation des échantillons appropriées pour les éléments traces (particulaires et totaux dissous) et leurs isotopes dans l'eau de mer, ainsi que sur les procédures permettant d'obtenir des mesures exactes et précises.

158. Pour évaluer le cycle des éléments traces et la toxicité, il convient de déterminer la spéciation physique et chimique des métaux traces dissous plutôt que les concentrations totales dissoutes. Les méthodes de détermination de la spéciation physique des métaux traces dans le pool total dissous (qui comprend les colloïdes et les nanoparticules ainsi que les espèces réellement dissoutes) ne sont pas couvertes par le Geotraces cookbook. Aucun guide des meilleures pratiques n'a encore été publié sur ce sujet, il convient donc de consulter la littérature la plus récente au moment de l'échantillonnage.

159. Pour le fractionnement granulométrique de l'eau de mer et des eaux interstitielles, il est notamment possible de recourir aux méthodes suivantes :

a) Filtration séquentielle donnant lieu à différentes fractions granulométriques :  $> 0,2 \mu\text{m}$  (particules),  $< 0,2 \mu\text{m}$  (total dissous),  $0,02\text{-}0,2 \mu\text{m}$  (colloïdes inorganiques tels que oxyhydroxydes de fer, argiles, oxydes de Mn),  $< 0,02 \mu\text{m}$  (soluble : petits colloïdes organiques, réellement dissous), acidification des échantillons non filtrés réalisés à bord (pour les concentrations totales dissolubles) ;

b) Ultrafiltration avec un seuil de masse moléculaire de 1 kDa (où une fourchette comprise entre 1 kDa et  $0,2 \mu\text{m}$  contient toutes les matières colloïdales et nanoparticulaires, et une fourchette inférieure à 1 kDa est définie comme un ensemble véritablement dissous), réalisée à bord si le volume d'échantillon disponible le permet, ce qui est le principal facteur contraignant lorsque l'objectif est de réaliser une ultrafiltration pour les eaux interstitielles.

160. D'autres méthodes existent pour évaluer la spéciation chimique, notamment :

a) Méthodes voltamétriques, analyse en laboratoire ;

b) Gradients de diffusion dans les échantillonneurs passifs en couche mince pour les concentrations de métaux labiles, échantillonnage à bord, analyse en laboratoire.

161. Les échantillons doivent être conservés de manière adéquate (par exemple, par acidification avec du HCl ultrapur jusqu'à un pH de  $\sim 1,8$  pour l'analyse de la concentration en métaux traces ; se reporter notamment au Geotraces cookbook pour plus de détails) ou congelés (par exemple pour l'analyse de la spéciation chimique, l'analyse des ligands).

162. Il convient de consulter Planquette et Sherrell (2012) pour obtenir des détails sur l'échantillonnage et le traitement des échantillons pour les métaux traces particuliers dans la colonne d'eau au moyen de la filtration *in situ*, de la filtration en bouteille et des pièges à sédiments.

163. Les méthodes d'analyse les plus indiquées pour les métaux traces dans l'eau de mer et les eaux interstitielles fluctuent en fonction des avancées technologiques et de la disponibilité des instruments, de sorte qu'il est possible de recourir à différentes méthodes d'analyse. L'utilisation d'analyses et de traitements de données appropriés doit être éprouvée avec les métadonnées requises. En général, les données sur la concentration des métaux s'obtiennent par spectrométrie d'émission optique à plasma inductif et par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif. Avant l'analyse par plasma inductif, les échantillons de sédiments doivent être traités par pression acide ou par digestion par micro-ondes avec des combinaisons d'acides appropriées, par exemple HF + HClO<sub>4</sub> ou HF + HCl + HNO<sub>3</sub> (Paul *et al.*, 2018, Nöthen et Kasten, 2011). Pour les métaux traces dans l'eau de mer et les eaux interstitielles, il est fortement recommandé d'utiliser un dispositif de préconcentration et de séparation de la matrice SeaFAST. Des matériaux de référence certifiés pour les métaux traces et les contaminants inorganiques en phase solide (MESS-4, NIST-2702) et l'eau de mer (par exemple les normes d'intercalibration NASS-7, CASS-6, SLEW-3 ou Geotraces) ou, s'ils n'existent pas, des normes internes (par exemple pour les eaux interstitielles) doivent être traités et mesurés avec les échantillons pour documenter l'exactitude et la précision de analyses.

164. Il convient de mesurer les concentrations en fer, manganèse, cobalt, cuivre, nickel, zinc, cadmium, arsenic, plomb et vanadium. Les résultats doivent être présentés en fractions de mole par unité de masse ou de volume (par exemple, nmol kg<sup>-1</sup> ou nmol l<sup>-1</sup>). Ils doivent être déterminés dans chacune des fractions définies de manière opérationnelle (particules, total dissous  $< 0,2 \mu\text{m}$ , et nanoparticules/colloïdes  $0,02\text{-}0,2 \mu\text{m}$ ) en notant la spéciation chimique (concentrations totales,

concentration labile, spéciation à oxydoréduction, complexation avec des ligands organiques).

165. Sur la base de ces mesures, il convient de déterminer les flux de métaux traces, la répartition entre les différentes espèces physiques et chimiques, les concentrations labiles, les types et les concentrations de nanoparticules et de colloïdes, et la zonation à oxydoréduction dans le sédiment (y compris la variabilité spatiale et temporelle).

## H. Variable mesurée : matières organiques et inorganiques

166. Les observations de référence devraient porter sur la quantité, la qualité et la labilité de la matière organique dissoute et particulaire, ainsi que sur le carbone inorganique particulaire dans la colonne d'eau et sur le plancher océanique, y compris leur variabilité temporelle et spatiale, en utilisant des mesures par approximation appropriées. Les observations des matières particulaires dans la colonne d'eau doivent inclure les particules organiques et inorganiques.

167. Les observations de référence doivent principalement porter sur une caractérisation bien répliquée du carbone inorganique particulaire, de la matière organique particulaire et de l'azote organique dissous dans la colonne d'eau et dans les décimètres supérieurs des sédiments, là où les taux de conversion biogéochimique sont les plus élevés et où les connaissances actuelles suggèrent que l'impact sera probablement le plus prononcé. Concernant l'analyse des sédiments, outre la résolution identifiée dans la section III.A, le carbone inorganique particulaire et la matière organique particulaire devraient être mesurés dans les sédiments plus profonds et plus anciens de certains sites afin d'aider à décrire les différents milieux présents dans la zone, y compris la productivité passée et les régimes de dépôt.

168. Pour l'analyse des fonds marins, il convient de déterminer la répartition de la quantité et les caractéristiques du carbone inorganique particulaire et de la matière organique particulaire dans des sous-échantillons prélevés dans des couches de profondeur distinctes des carottes récupérées, tandis qu'il convient d'analyser l'azote organique dissous dans les eaux interstitielles extraites de couches de profondeur distinctes. Dans les décimètres supérieurs du sédiment, les échantillons nécessaires à l'analyse sont prélevés à l'aide d'échantillonneurs de pointe capables de récupérer la couche superficielle semi-liquide molle (par exemple carottier multitubes, carottiers manuels montés sur un robot télécommandé). Les strates plus profondes doivent être carottées avec un carottier à gravité ou un carottier à piston.

### 1. Matière organique dissoute

169. Il convient de quantifier l'azote organique dissous en termes de carbone organique dissous parallèlement aux mesures de l'azote total dissous, généralement par oxydation catalytique à haute température et après élimination du carbone inorganique et des matières organiques volatiles par acidification et purge avec un gaz inerte. Le ratio entre le carbone organique dissous et l'azote organique dissous (calculé en soustrayant la somme de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NO}_2^-$  de l'azote dissous total) fournit une première indication de la composition chimique de l'azote organique dissous ; il doit servir à la caractérisation générale de la qualité de l'azote organique dissous (c'est-à-dire sa disponibilité potentielle pour les organismes en tant que source de nourriture). Il faut procéder à la caractérisation moléculaire générale de l'azote organique dissous sur la base d'une analyse optique par contraste coloré et fluorescent. Cela peut se faire à l'aide d'instruments disponibles dans le commerce qui permettent de collecter facilement des spectres d'excitation et d'émission par spectroscopie de fluorescence et de les combiner avec des mesures par spectroscopie d'absorption.

170. Il convient de consulter Dickson *et al.* (2007) pour connaître les meilleures pratiques de mesure du carbone organique dissous dans la colonne d'eau.

171. Dans la colonne d'eau, il faut mesurer le carbone organique dissous et l'azote dissous.

172. Les paramètres à mesurer dans les eaux interstitielles sont les suivants : le carbone organique dissous, l'azote total dissous, les acides aminés et les glucides dissous, ainsi que les caractéristiques optiques de l'azote organique dissous (matière organique dissoute colorée, matière organique dissoute fluorescente).

173. Dans la colonne d'eau, les observations servent à déterminer la contribution du carbone organique dissous à la production nette de la communauté et aux flux d'exportation de carbone.

174. Pour les sédiments, les observations permettent de déterminer la quantité et la qualité de la matière organique et sa variabilité spatio-temporelle afin de quantifier et d'expliquer les taux de reminéralisation de la matière organique. Ils sont interprétés en combinaison avec la complexation des métaux traces et la biodisponibilité.

## 2. Matières particulaires

175. Concernant les matières particulaires, un certain nombre de variables sont utilisées pour décrire les particules en suspension (total des matières en suspension) et le transport des particules dans l'océan, qu'il s'agisse des fractions organiques ou inorganiques. Les particules peuvent être collectées dans la colonne d'eau à l'aide de plusieurs techniques d'échantillonnage :

- a) Par filtration de l'eau en recourant à des bouteilles Niskin ou Go-Flo ;
- b) Avec des pompes *in situ* ;
- c) Avec des pièges à sédiments.

176. Chacune de ces techniques d'échantillonnage présente des avantages et des inconvénients. Il convient donc d'allier toutes ces techniques. Alors que les techniques d'échantillonnage basées sur la filtration d'échantillons d'eau prélevés à l'aide de dispositifs d'échantillonnage de l'eau tels que les bouteilles Niskin ou Go-Flo sont limitées à des volumes relativement faibles (< 12 l), il faudrait utiliser des pompes *in situ*, capables de filtrer de grands volumes (des centaines de litres par heure) pour collecter de plus grandes masses de particules, car celles-ci sont nécessaires pour certaines recherches (telles que l'activité de radio-isotopes spécifiques). Il convient de procéder à un profil bathymétrique en attachant des pompes *in situ* individuelles en séquence sur un câble (par exemple un câble CTD) et en les programmant pour pomper à des profondeurs cibles pendant deux à quatre heures. Les particules obtenues par filtration de l'eau de mer dans des bouteilles et avec des pompes *in situ* servent à déterminer les concentrations, le type et la quantité de particules ; ces techniques sont adaptées aux recherches de métaux traces. Le fait que les particules s'enfoncent ou non et, si c'est le cas, à quelle vitesse (c'est-à-dire leur contribution aux flux d'exportation) dépend de leur taille, de leur forme et de leur densité. Les flux d'export doivent être déduits indirectement en mesurant l'activité des radiotraceurs (voir sect. I). En outre, des mesures directes des flux de particules s'obtiennent à l'aide de pièges à sédiments, qui collectent les particules qui s'enfoncent à une certaine profondeur sur une période de plusieurs jours à plusieurs mois. Il convient d'évaluer directement la quantité, le type et la qualité des matières particulaires qui s'enfoncent.

177. Il importe de consulter le Geotraces cookbook [Bishop *et al.* (2012) et Planquette et Sherrell (2012)] pour obtenir des conseils sur les meilleures pratiques

en matière de méthodes d'échantillonnage et de traitement des échantillons pour les matières particulaires via la filtration *in situ* et la filtration sur pont à partir de bouteilles Go-Flo, avec un accent particulier sur les métaux traces. Il faut également consulter ledit ouvrage pour connaître les modifications recommandées pour ce qui est de la méthode de détermination du carbone organique particulaire et de l'azote particulaire telle qu'elle a été publiée à l'origine dans le rapport 19 de la JGOFS (Knap *et al.*, 1996), où figurent les recommandations pour la JGOFS et qui est une méthode largement employée et citée pour les échantillons de petit volume de carbone organique particulaire et d'azote particulaire [c'est-à-dire < 10 l].

178. Il faut consulter McDonnell *et al.* (2015) pour y trouver une synthèse des méthodes de collecte des particules (> 0,2 µm) et leur application dans les études du cycle biogéochimique à partir des bouteilles, des pompes *in situ* et des pièges à sédiments avec des détails sur les types de filtres recommandés, les protocoles d'échantillonnage des pièges à sédiments, y compris le nettoyage, la préservation et le traitement des échantillons, et les biais de collecte des pièges à sédiments. On trouvera des détails sur l'échantillonnage des particules, le traitement des échantillons et la détermination des types, de la composition et de la concentration des particules, de la masse des particules en suspension et des flux de particules auprès de Lam *et al.* (2018), Boxhammer *et al.* (2018) et Huffard *et al.* (2020), et il est aussi possible de consulter les lignes directrices sur l'observation des océans publiées par la Société océanographique du Japon ainsi que le protocole du Groupe de coordination international sur la couleur des océans pour des informations sur l'échantillonnage et les mesures du carbone organique particulaire.

179. S'agissant des techniques optiques pour la caractérisation à distance et *in situ* des particules marines sans collecte et récupération, on peut consulter l'ouvrage de Boss *et al.* (2015), qui couvre les techniques pour évaluer les propriétés en vrac, y compris la masse des particules, la distribution de la taille des particules et les informations sur la forme des particules, ainsi que les propriétés optiques des particules individuelles telles que le type et la taille des particules individuelles. En outre, les auteurs passent en revue les progrès de la technologie d'imagerie et son utilisation pour l'étude des particules marines *in situ*. On trouvera plus de détails dans Giering *et al.* (2020) et Huffard *et al.* (2020).

180. On trouvera dans la fiche de spécification des variables océaniques essentielles du GOOS de plus amples informations sur les réseaux d'observation mondiaux actuels et des liens vers la littérature sur les innovations en matière d'observation autonome des données.

181. Les paramètres à mesurer dans la colonne d'eau sont les suivants : la matière organique particulaire (carbone organique particulaire, azote organique particulaire, phosphore organique particulaire), la silice biogène, le carbone inorganique particulaire, le carbone organique total, l'azote total, la matière totale en suspension, le flux de carbone organique particulaire, le flux de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>), le flux de silice biogène, les particules lithogènes, les oxydes et oxyhydroxydes de fer et de manganèse, la concentration de la matière particulaire, le flux et la demande de carbone et la stœchiométrie Redfield (C:N:P) de la matière organique particulaire.

182. La quantité et la qualité de la matière qui s'enfonce varient de façon saisonnière et interannuelle. Il faut donc mettre l'accent sur un échantillonnage hebdomadaire à mensuel de la production primaire et sur une résolution mensuelle à annuelle pour les flux d'export.

183. En observant la matière organique dans les sédiments, il faut se concentrer sur la quantité de matière particulaire ainsi que sur la quantité de matière organique biodisponible et sa qualité (c'est-à-dire sa fraîcheur et sa stabilité). Il est possible

d'opter pour diverses approches (par exemple, Pusceddu *et al.*, 2009 ; Meckler *et al.*, 2004, et leur bibliographie), mais il faut un ensemble central de valeurs indicatives cohérent tout au long des études de référence. Afin d'obtenir des informations sur la quantité de matière organique biodisponible, il faut mesurer le carbone organique total et l'azote total, généralement au moyen d'un analyseur élémentaire après élimination du carbone inorganique par acidification. Le ratio entre le carbone organique total et l'azote total (le ratio C:N) fournit une première indication de la qualité de la matière organique particulaire. On peut obtenir des informations plus précises sur la qualité de la matière organique par la mesure des équivalents de pigments chloroplastiques, notamment la chlorophylle-a et ses produits de dégradation ; par simple analyse fluorométrique ; par chromatographie liquide haute pression ou par la mesure du carbone biopolymérique, notamment des glucides, des protéines et des lipides hydrolysables (par analyse chimique par voie humide). La fraîcheur de la matière organique particulaire doit être déterminée en utilisant le ratio entre la chlorophylle-a et les équivalents de pigments chloroplastiques (ou l'indice de chlore, ce qui revient au même), ou sur la base d'analyses de la composition spécifique des classes de biomolécules (par exemple, le ratio entre les glucides hydrolysables et les glucides totaux, les protéines et les lipides ; l'indice de dégradation basé sur la composition en acides aminés ; ou les taux d'acide gras avec différents niveaux de saturation).

184. Il convient de mesurer le carbone inorganique particulaire, ainsi que le carbone organique total et l'azote total, à l'aide d'un analyseur d'éléments CNS (carbone, azote, soufre). Le carbone inorganique particulaire est souvent repris sous la teneur en carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) en pourcentage du poids de l'échantillon de sédiment sec.

185. La distribution de la matière organique particulaire devrait être hétérogène, en particulier près de la surface des sédiments. En raison de leur faible densité, le dépôt de particules de matière organique sur les fonds marins dépend généralement de la configuration des courants à petite échelle et de la morphologie des fonds, ce qui conduit à des distributions inégales et à des accumulations locales, par exemple dans de petites dépressions. Il faut recourir à des méthodes statistiques appropriées pour décider du nombre de réplifications nécessaires et de la résolution appropriée. Ces informations doivent être accompagnées des données brutes. Le nombre de répliquats ne devrait jamais être inférieur à trois carottes par site et par campagne d'échantillonnage. Il convient d'utiliser, dans la mesure du possible, des relevés d'imagerie des fonds marins (systèmes d'imagerie par câble, engins sous-marins autonomes) ou des séries chronologiques (systèmes terrestres, engins de ramassage de la faune benthique) pour obtenir des informations semi-quantitatives sur la variabilité spatiale et temporelle de l'approvisionnement, du stock permanent et de la transformation de la matière organique particulaire fraîche sur le fond marin (observations semi-quantitatives de la distribution des phytodétritus verdâtres dans l'imagerie couleur, observations quantitatives du pigment chloroplastique avec l'imagerie par fluorescence ou les techniques hyperspectrales).

186. Il est possible de déterminer à partir des mesures des matières particulaires dans la colonne d'eau des paramètres tels que la production primaire, l'acidification des océans, les flux d'export, l'apport de carbone et l'atténuation de la matière organique dans la colonne d'eau. À partir de la fraction de particules inorganiques (carbone inorganique particulaire, silice biogène), il convient de déterminer l'origine principale de la biomasse (c'est-à-dire les organismes calcifiants ou silicifiants) ainsi que la quantité de carbone organique particulaire de ballast, qui est un facteur important de l'exportation de carbone organique particulaire à partir de la zone euphotique (Klaas et Archer, 2002). Pour les sédiments, les observations doivent servir à quantifier le stock permanent et le renouvellement du carbone benthique et évaluer sa disponibilité pour la reminéralisation par les communautés benthiques. Ces informations doivent

être combinées avec des observations des flux d'export de matières particulaires organiques et inorganiques, de la consommation d'oxygène, du système des carbonates, des nutriments et des métaux traces au moyen de modèles de transport-réaction afin d'évaluer quantitativement le cycle biogéochimique benthique de la matière organique, des nutriments et des éléments traces.

## I. Variable mesurée : traceurs des isotopes radioactifs (radiotraceurs)

187. Pour l'échantillonnage, le traitement des échantillons et l'analyse des radionucléides de période longue et des radionucléides à courte période dans l'eau de mer (par exemple  $^{230}\text{Th}$  et  $^{210}\text{Pb}$ , respectivement), des particules du panache de sédiments en suspension et des sédiments, il convient de suivre les recommandations détaillées du Geotraces cookbook. Les paramètres à mesurer sont les suivants :  $^{230}\text{Th}$ ,  $^{234}\text{Th}$ ,  $^{210}\text{Po}$ ,  $^{210}\text{Pb}$ ,  $^{231}\text{Pa}$ ,  $^{224}\text{Ra}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{227}\text{Ac}$  dissous, colloïdaux et particulaires, ainsi que le rayonnement alpha brut.

188. Afin de déterminer l'activité des radionucléides à courte période (par exemple  $^{210}\text{Pb}$ ) dans les sédiments :

a) Il convient de sceller quelques grammes d'échantillons de sédiments séchés et homogénéisés de manière étanche aux gaz et de les laisser pendant au moins plusieurs semaines pour s'assurer que les radio-isotopes sont en équilibre séculaire (c'est-à-dire que l'activité radio-isotopique est constante car le taux de production est égal au taux de désintégration) ;

b) Il faut mesurer l'activité totale de  $^{210}\text{Pb}$  et  $^{226}\text{Ra}$  directement par spectrométrie gamma [détecteur à cristal de germanium de haute pureté (germanium à large énergie)] ;

c) En outre, le  $^{210}\text{Pb}$  total peut être mesuré indirectement par spectrométrie alpha (détecteur silicium dit PIPS) grâce à son isotope petit-fils  $^{210}\text{Po}$  ;

d) L'étalonnage externe doit s'effectuer à l'aide d'un matériau de référence certifié tel que IAEA-RGU-1 (minerai d'uranium).

189. Il faut déterminer l'activité du radionucléide de période longue dans les sédiments ( $^{230}\text{Th}$  et  $^{231}\text{Pa}$ ), les particules et dans la colonne d'eau (série Ra) par :

a) La spectrométrie gamma (Yokoyama et Nguyen, 1980) ;

b) La spectrométrie alpha (Lao *et al.*, 1992) ;

c) La spectrométrie de masse (Geibert *et al.*, 2019) ;

d) Pour l'analyse des sédiments et des particules, utiliser l'AIEA-385 (sédiment de la mer d'Irlande) (Pham *et al.*, 2008) comme matériau de référence certifié ;

e) Pour les analyses de la colonne d'eau, utiliser éventuellement l'AIEA-443 (eau de la mer d'Irlande) (Pham *et al.*, 2011) comme matériau de référence certifié.

190. Au lieu de mesurer le rayonnement alpha, on peut mesurer individuellement les paramètres suivants :  $^{230}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  et  $^{231}\text{Pa}$ , puis calculer le rayonnement alpha brut attendu sur la base des équilibres avec leurs isotopes fils respectifs.

191. L'activité doit être présentée comme une activité totale, dissoute et particulaire, en dpm/g ou Bq kg<sup>-1</sup>. Toutes les activités radio-isotopiques (à l'exception de leurs ratios) doivent être corrigées pour tenir compte de l'interférence du sel se trouvant

dans les eaux interstitielles pendant l'analyse (Kuhn, 2013 ; Geibert *et al.*, 2019) et il faut consigner la procédure et les corrections exactes.

192. Sur la base de ces mesures, il convient de déterminer : les concentrations et l'activité, le déficit en  $^{230}\text{Th}$ , les flux de radionucléides, les flux d'éléments descendants et les taux de sédimentation. En outre, il convient de déterminer la profondeur de la bioturbation, son activité et son mode (c'est-à-dire le mélange diffus ou non local), le niveau de rayonnement et les réactions entre les eaux interstitielles et les minéraux (par exemple, la dissolution/précipitation des carbonates) dans les sédiments.

193. Des modèles numériques de transport-réaction ou des solutions analytiques sont disponibles pour analyser les données. Par exemple, le modèle de concentration initiale constante est une approche simple utilisée pour calculer les taux de sédimentation des sédiments au large. En utilisant l'activité moyenne du  $^{230}\text{Th}$  ou du  $^{231}\text{Pa}$  dans la couche bioturbée de sédiments non perturbés (dans laquelle on n'observe aucune tendance significative de profondeur pour l'excès de  $^{230}\text{Th}$  ou l'excès de  $^{231}\text{Pa}$ ), on peut déterminer la profondeur à laquelle l'activité s'est réduite à la moitié de ce niveau. La différence entre cette profondeur et le fond de la couche bioturbée, divisée par la période radioactive en question, est une approximation du taux de sédimentation à cet endroit.

## J. Qualité des données

### 1. Océanographie chimique

194. Cinq programmes travaillant avec des données océanographiques, à savoir l'Alliance for Coastal Technologies, le projet AtlantOS, l'IMOS, la Commission technique mixte d'océanographie et de météorologie maritime et le projet United States Integrated Ocean Observing System Quality Assurance/Quality Control of Real-Time Oceanographic Data, ont publié conjointement une synthèse des meilleures pratiques existantes en matière d'assurance qualité (Bushnell *et al.*, 2019), qu'il convient de consulter pour obtenir des détails sur la conservation des données s'agissant de l'assurance qualité, des listes de contrôle, des recommandations en matière de maintenance, des moyens d'améliorer l'incertitude des mesures et des recommandations générales en matière d'assurance qualité concernant les données océanographiques. Le Système des meilleures pratiques océanographiques (Ocean Best Practices System), récemment créé, y est également identifié comme un moyen d'élaborer, de partager, de documenter et de conserver des processus d'assurance qualité plus spécifiques.

195. En océanographie chimique, les incertitudes liées au processus d'échantillonnage, au traitement des échantillons et aux mesures analytiques influent sur les valeurs des données obtenues à partir d'échantillons d'eau. Ces incertitudes peuvent être réduites en augmentant le nombre d'observations. Il convient de les distinguer d'un autre type d'incertitude, à savoir l'incertitude ou la variabilité d'une valeur de données pour des conditions environnementales similaires dans l'espace et dans le temps, qui résulte d'un échantillonnage ou d'un enregistrement de données répétés (par exemple, un échantillonnage effectué à la même heure et au même endroit sur trois années différentes, ou trois échantillons prélevés à des endroits similaires mais non identiques dans un rayon d'environ 10 km). Une grande rigueur analytique (c'est-à-dire l'exactitude et la précision) permet de faire la distinction entre les sources d'incertitude.

196. Pour les métaux traces, il est indiqué dans Geotraces qu'il convient de mesurer deux catégories de répliquats : les répliquats de terrain et les répliquats analytiques. La



réplication analytique est l'analyse répétée d'un seul échantillon. Il s'agit de la mesure la plus précise possible pour une analyse donnée. La réplication de terrain est l'analyse de deux ou plusieurs échantillons prélevés dans une seule bouteille d'échantillonnage. Elle comporte une composante de variation supplémentaire due au sous-échantillonnage, au stockage et à la variabilité naturelle au sein de l'échantillon. La variance des répliqués de terrain et des répliqués analytiques doit être égale lorsque l'échantillonnage et le stockage n'ont aucun effet sur l'analyse (en supposant que l'analyte est distribué de manière homogène dans la bouteille d'échantillonnage).

## 2. Biogéochimie

197. Le nombre d'échantillons répliqués ou d'observations nécessaires pour décrire correctement les conditions biogéochimiques de référence dans les diverses unités physiographiques (voir sect. III.A) dépend non seulement de la variabilité naturelle existante, mais aussi des changements relatifs à identifier, survenus en réponse aux activités minières. Il convient de recourir à des outils statistiques appropriés, tels que l'analyse de puissance (Sweetman *et al.*, 2019) pour évaluer l'effort d'échantillonnage nécessaire pour détecter un changement à un niveau spécifique et avec une puissance statistique spécifique. Le niveau cible de changement à résoudre pour des variables spécifiques dépend principalement de l'ampleur du changement généralement associé aux impacts liés à l'exploitation minière, ainsi que de la pertinence de la variable en tant qu'indicateur de l'état, de la détérioration et du rétablissement de l'écosystème. À titre indicatif, la réplication choisie doit permettre de détecter des écarts de moins de 30 % par rapport aux conditions de référence, avec une puissance statistique d'au moins 0,95 (Ardron *et al.*, 2019). Les statistiques sur le niveau de changement qui peut être détecté pour les variables individuelles doivent être rapportées avec les données de référence.

198. Pour décider d'un effort d'échantillonnage initial, il convient de recueillir les informations disponibles sur la variabilité naturelle, en gardant à l'esprit que trois répliqués doivent toujours être considérées comme un minimum. Il faut revoir régulièrement la réplication requise pour les variables au fur et à mesure qu'émergent de nouvelles informations sur la variabilité naturelle et la pertinence des variables respectives à partir des observations de référence, des études d'impact et de la modélisation intégrée des conditions de référence et des changements.

## K. Gestion des données

199. On trouve dans les notes techniques du Programme international de découverte des océans et de son prédécesseur, le Programme intégré de forages océaniques, des informations sur les données, la gestion et la conservation des échantillons (ainsi que sur l'échantillonnage et l'analyse biogéochimique et géologique) qu'il convient de suivre.

200. Les métadonnées servent à déterminer si l'échantillonnage et les analyses ont été effectués de manière appropriée ainsi qu'à retracer les données fournies jusqu'à leur origine. Elles doivent être disponibles pour toutes les variables chimiques. Les métadonnées relatives à l'échantillonnage et à l'enregistrement des échantillons ainsi que les données qui en résultent doivent respecter les lignes directrices définies par le Centre international d'assemblage de données Geotraces ([www.bodc.ac.uk/geotraces/](http://www.bodc.ac.uk/geotraces/)), le CIEM et le groupe de travail sur la gestion des données marines. On trouve de plus amples informations et des protocoles de métadonnées dans le guide des meilleures pratiques de gestion des données compilé par le Bureau de gestion des données d'océanographie biologique et chimique sur la base de l'expérience acquise par les programmes de recherche océanique Globec et JGOFS. Il s'agit d'un recueil

de recommandations de bonnes pratiques pour la gestion des données obtenues lors de croisières de recherche. Il peut se télécharger à l'adresse suivante : <http://bco-dmo.org/resources>. On trouvera d'autres directives relatives à la gestion des données et des métadonnées dans le répertoire du Système des meilleures pratiques océanographiques et au sein de la communauté du programme Argo.

## **VI. Propriétés géologiques**

### **A. Introduction**

201. En combinaison avec les paramètres biogéochimiques (voir sect. V), les propriétés géologiques visent à caractériser l'habitat et à déterminer l'hétérogénéité du plancher océanique et de l'environnement sous-marin (bathymétrie et géomorphologie, caractéristiques géologiques, sédiments et stratigraphie, diagenèse, altération et remobilisation, géochimie et minéralogie du substrat rocheux, géochimie et minéralogie des ressources minérales) et à mieux choisir l'emplacement des points d'échantillonnage nécessaires pour caractériser la répartition et la composition de la faune locale.

202. Les variables suivantes constituent la base d'un référentiel géologique :

a) Bathymétrie : utilisée pour cartographier les caractéristiques morphologiques à grande et petite échelle des fonds marins ; peut être utilisée pour planifier d'autres types d'échantillonnage ;

b) Propriétés des sédiments et classification de l'habitat : important pour la caractérisation de l'habitat benthique ; en outre, les propriétés servent à quantifier la déformation et les changements des propriétés physiques des sédiments du fond marin pendant l'exploitation minière pour pouvoir élaborer un système d'exploitation.

203. Les propriétés des ressources sont importantes pour la caractérisation de l'habitat. Elles constituent la cible principale de toute activité d'exploration dans la Zone. Certaines caractéristiques des ressources peuvent constituer des informations d'intérêt commercial et peuvent être soumises à la confidentialité en vertu des contrats conclus avec l'Autorité. Toutefois, il convient de présenter une synthèse des informations nécessaires à l'établissement des données environnementales de référence.

### **B. Méthodologie générale**

204. Les données et les informations sur la géologie et la morphologie des fonds marins peuvent être recueillies à l'aide des moyens suivants :

a) un sondeur acoustique multifaisceaux (avec des dispositifs de coque et/ou des systèmes montés sur robot sous-marin télécommandé ou véhicule sous-marin autonome) ;

b) un sonar à balayage latéral (avec des dispositifs montés sur navire, robot sous-marin télécommandé, véhicule sous-marin autonome ou autres) ;

c) un profilage du sous-sol (par exemple, avec la technologie Chirp) ;

d) des photographies et enregistrements vidéo obtenus par une caméra vidéo, une caméra montée sur traîneau, un robot (sous-marin télécommandé), un véhicule sous-marin autonome ou des submersibles.

205. Il existe diverses approches méthodologiques pour réaliser des études géologiques et acquérir des données précises et de qualité sur les variables géologiques ; il convient de recourir à l'une quelconque des pratiques communément admises.

206. Concernant les échantillons de sédiments nécessaires à l'analyse, il faut utiliser, pour les décimètres supérieurs du sédiment, une carotte multitubes, un carottier manuel monté sur un robot télécommandé ou un équipement fiable similaire, et, pour les échantillons plus profonds, un carottier à gravité.

207. On trouvera des méthodologies spécifiques pour l'échantillonnage des sédiments et la bathymétrie dans les publications du Programme international de découverte des océans (ancien Programme intégré de forages océaniques 2003-2013) et dans le répertoire du Système des meilleures pratiques océanographiques (<https://repository.oceanbestpractices.org>).

208. Il importe de consulter les normes relatives aux levés hydrographiques publiées par l'Organisation hydrographique internationale (Organisation hydrographique internationale, 2020).

### **C. Résolution de l'échantillonnage**

209. Il faut choisir et adapter la résolution d'échantillonnage appropriée selon que les informations serviront à évaluer des ressources à grande échelle ou à cartographier des habitats locaux. Pour les levés à grande échelle de toute la zone d'exploration, il faut des cartes bathymétriques et rétrodiffusées avec des résolutions supérieures à 80-100 m. Dans les zones où d'autres échantillonnages intermittents sont entrepris ou lorsque les conditions indiquent une plus grande variabilité, ou encore dans les zones où l'on prévoit un impact indirect de l'exploitation minière (panaches de sédiments et de rejets), il convient d'opter pour un échantillonnage à plus haute résolution.

### **D. Variable mesurée : bathymétrie**

210. Pour cartographier le plancher océanique, il convient d'utiliser les méthodes suivantes pour obtenir des données à haute résolution spatiale sur l'état physique des habitats des fonds marins : bathymétrie multifaisceaux, cartographie rétrodiffusée, sonar à balayage latéral ou sonar à ouverture synthétique, à l'aide de dispositifs embarqués ou remorqués en profondeur par des robots sous-marins télécommandés ou des véhicules sous-marin autonomes.

211. Il faut utiliser un étalonnage approprié pour obtenir des données bathymétriques et de rétrodiffusion du fond marin fiables et cohérentes (Lamarche et Lurton, 2018). Il est recommandé d'harmoniser les paramètres d'acquisition et la conception spécifique des relevés dédiés à la rétrodiffusion ; ils doivent être comparables entre les différents secteurs octroyés et les différents contractants. Les normes relatives aux levés hydrographiques se trouvent dans les publications de l'Organisation hydrographique internationale (par exemple, Organisation hydrographique internationale, 2020). En outre, des références à des publications sur la normalisation des formes du relief sous-marin sont disponibles aux adresses suivantes : <https://iho.int/en/bathymetric-publications> et [www.gebco.net](http://www.gebco.net).

### **E. Variable mesurée : propriétés des sédiments**

212. Pour décrire les propriétés des sédiments, il faut étudier la minéralogie et les lithoclastes des sédiments, la distribution granulométrique, la porosité et la

stratigraphie globale. La lithologie est l'étude des caractéristiques physiques d'une roche. La sédimentologie porte sur l'origine, le transport, le dépôt et les altérations diagénétiques des matériaux qui composent les sédiments et les roches sédimentaires. La stratigraphie est l'étude de la manière dont les roches sédimentaires sont accumulées et distribuées au fil du temps. Les échantillons carottés doivent être prélevés à l'aide d'une série d'outils permettant d'échantillonner les 30 cm supérieurs des sédiments (carottage manuel et carottage multitube), les 50 cm supérieurs (carottage en boîte) et plusieurs mètres de profondeur (carottage à gravité).

213. Les phénomènes océanographiques physiques ainsi que l'exploitation minière peuvent générer des structures sédimentaires sur le plancher océanique. Par conséquent, les structures sédimentaires des fonds marins doivent être étudiées et cartographiées à l'aide de l'imagerie optique. L'imagerie optique acquise par le déploiement de diverses plateformes, notamment des robots sous-marins télécommandés, des véhicules sous-marins autonomes et des caméras remorquées ou déposées, permet une caractérisation quantitative ou qualitative d'éléments ou de motifs géologiques, sédimentologiques (ondulations, marques et coulées liées aux courants de fond des grands fonds marins) et biologiques ainsi que de leurs interrelations. Il convient de décrire les taux et la profondeur de la bioturbation et les types de structures. Il faut opter pour des approches de mosaïquage basées sur le système d'information géographique pour imager des zones complexes ou plus grandes des fonds marins (Garcia *et al.*, 2015), en indiquant le pourcentage de chevauchement utilisé.

214. Les échantillons carottés doivent être manipulés et stockés de manière à maximiser leur utilisation pour les études scientifiques, en suivant les meilleures pratiques de transport, d'échantillonnage et de stockage (Basu *et al.*, 2020).

215. La granulométrie est une propriété physique fondamentale des sédiments. Elle est corrélée aux conditions dynamiques du milieu marin et est importante pour interpréter sa stabilité en situation de charge. L'introduction de techniques automatisées de granulométrie peut présenter une valeur ajoutée en termes d'efficacité et de précision (Jaijel *et al.*, 2021). D'après Jaijel *et al.* (2021), un spectromètre moderne typique à diffraction laser a une échelle de taille allant jusqu'à 2 000  $\mu\text{m}$ , ce qui couvre la grande majorité des sédiments mous du plancher marin dans les océans du monde. Il convient de mesurer la distribution granulométrique des sédiments en vrac à l'aide d'une méthodologie standard et d'une manipulation appropriée (Jaijel *et al.*, 2021, et leur bibliographie).

216. Les caractérisations sédimentologiques se font par examen des échantillons à la loupe (sédiments non consolidés) et au microscope pétrographique (lames de frottis, coupes fines) (par exemple Marsaglia *et al.*, 2013, 2015a et 2015b). Il convient de déterminer la composition minéralogique d'un point de vue quantitatif et qualitatif. Il existe plusieurs méthodes et combinaisons de méthodes, notamment la minéralogie détaillée, l'analyse minérale par microsonde électronique, la diffraction des rayons X et/ou la minéralogie quantitative automatisée utilisant des flux de libération des minéraux et des techniques quantitatives de microscopie électronique à balayage. Elles servent à obtenir une analyse modale quantitative et une pétrographie virtuelle. En outre, il faut obtenir des mesures quantitatives à l'aide de l'analyse de Rietveld, notamment pour caractériser pleinement la surface des fonds marins des futurs secteurs d'exploitation et pour définir la fraction d'argile (particules de taille  $< 2 \mu\text{m}$ ) pour la modélisation des dommages environnementaux potentiels causés par les panaches.

217. La composition chimique des sédiments est analysée dans un laboratoire équipé de systèmes de qualité conformes aux normes internationales, notamment en

effectuant des mesures par spectroscopie à fluorescence X, spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif et spectrométrie optique à plasma inductif (voir sect. V).

218. On trouvera des détails sur les procédures de description visuelle des carottes et sur l'équipement analytique ainsi que sur l'échantillonnage des sédiments, la préparation des échantillons et les analyses et techniques générales dans Przeslawski *et al.* (2018), Simpson et Batley (2016), Marsaglia *et al.* (2013, 2015a et 2015b), Rothwell et Rack (2006), Mazzullo *et al.* (1988) ainsi que d'autres ressources aux adresses suivantes <https://repository.oceanbestpractices.org/> et <http://publications.iodp.org/index.html>.

219. Il convient de mesurer les paramètres suivants :

a) Présence de sédiments : épaisseur et attitude du litage (orientation ou angle), contacts du litage (par exemple, gradation, netteté et affouillement), structures sédimentaires (par exemple, litage stratifié, litage gradué, litage transversal, fractures ou micro-failles, structures d'écoulement de fluide et bioturbation), couleur des sédiments (à l'aide, par exemple, d'un nuancier de couleurs de sol Munsell pour la classification) ;

b) Composition des sédiments : texture (sable, limon, argile), composition minérale, composition fossile, teneur en éléments, concrétions, matériel biogène, identification des composants macroscopiques biogènes et non biogènes ;

c) Diagenèse précoce : degré de diagenèse, de lithification ou de cémentation (présence de ciment silicique ou calcaire) ;

d) Propriétés physiques et mécaniques : densité, densité en vrac, porosité des sédiments, saturation en fluide, résistance au cisaillement et granulométrie ;

e) État d'oxydoréduction : profondeur à laquelle les conditions sédimentaires passent de l'état oxygène à l'état suboxygène.

220. Les informations recueillies devraient servir à déterminer les caractéristiques du substrat du fond marin et les caractéristiques géomorphologiques, ce qui permet d'obtenir une compréhension détaillée des conditions préalables à l'exploitation minière des secteurs concédés.

## F. Classification de l'habitat

221. Pour faciliter d'autres efforts d'échantillonnage, il convient d'effectuer les descriptions qualitatives des caractéristiques géomorphologiques de base, les classifications des habitats et les perturbations non biogéniques résultant du carottage à une échelle appropriée à la ressource et à la variabilité de l'habitat, en utilisant la terminologie de référence pour la normalisation des noms des caractéristiques sous-marines que fournit l'Organisation hydrographique internationale (2019).

## G. Qualité des données

222. On trouvera des détails sur l'assurance qualité des observations océanographiques, y compris les normes et les orientations, dans Bushnell *et al.* (2019), entre autres. Il convient de vérifier toute la méthodologie au regard des plans d'assurance qualité (Simpson et Batley, 2016). Des orientations relatives au contrôle de la qualité des levés hydrographiques et des directives sur le traitement des données sont disponibles sur le site <https://iho.int/fr/normes-et-specifications>.

## H. Gestion des données

223. Une série de carottes représentative du sédiment du fond marin avant toute activité minière, avec les métadonnées appropriées, devrait être entreposée dans un dépôt adapté pour comparaison ultérieure et, éventuellement, des tests supplémentaires.

224. Il convient de consigner toutes les observations dans un tableau en respectant les formats de données conventionnels. Les observations devraient être accompagnées de photographies en gros plan de haute qualité avec une échelle de référence.

225. On trouvera un modèle de document de bonnes pratiques sur la gestion des données dans le Système de bonnes pratiques océanographiques (2020). Il est possible de télécharger le modèle à l'adresse suivante : <https://repository.oceanbestpractices.org/handle/11329/1245>.

## VII. Communautés biologiques

### A. Introduction

226. Les données environnementales de référence concernant les communautés biologiques devraient comprendre des données spatiales et temporelles sur les communautés pélagique et benthique et leurs fonctions écosystémiques ainsi que des informations sur les mammifères marins, les oiseaux, les tortues, les poissons et les grands ensembles de necton et de plancton de surface. Les données ainsi recueillies seront diverses et il faudrait qu'elles soient suffisamment abondantes pour permettre d'évaluer l'impact potentiel de l'exploitation minière sur les fonds marins et la colonne d'eau.

227. La définition des communautés biologiques repose sur la détermination des variables suivantes :

a) Communautés pélagiques : le système pélagique comprend l'ensemble de la colonne d'eau, de la surface de la mer au fond marin. Les organismes pélagiques vont des bactéries aux baleines. Étant donné que cet immense volume d'eau et les organismes qui le peuplent se déplacent à travers des sites d'exploration potentiels, il convient de prélever des échantillons au-delà de la zone d'impact immédiat des activités d'exploitation minière, de manière à tenir compte de toutes les eaux et de tous les organismes qui pénètrent dans cette zone, en sortent ou peuvent interagir avec elle ;

b) Communautés benthiques : le benthos désigne le biote adulte vivant dans ou sur la couche sédimentaire ou à proximité du fond marin. Les organismes benthiques comprennent aussi bien des bactéries et des protistes que des métazoaires. L'exploitation minière les touche directement, en ce qu'elle détruit ou altère leur habitat, et indirectement, car elle rend l'eau plus trouble et déplace les sédiments ;

c) Connectivité : il est essentiel de comprendre la diversité génétique, la biogéographie et les schémas de connectivité moléculaire d'un habitat ainsi que les contraintes qui le caractérisent, son endémisme et ses modes de renouvellement pour savoir comment cet habitat pourrait se rétablir à la suite d'une perturbation ;

d) Fonctionnement de l'écosystème : il convient de connaître les différentes fonctions écosystémiques afin de comprendre comment des perturbations de faible ampleur peuvent se répercuter sur la structure du réseau trophique et sur le recyclage de la matière organique par la communauté benthique locale ;

e) Écotoxicologie : les métaux et autres contaminants rejetés dans le cadre des activités d'exploitation peuvent influencer sur la physiologie des organismes ; il importe donc de comprendre leur potentiel de toxicité ;

f) Mammifères marins, requins, tortues et necton de surface : il importe d'enregistrer la présence d'espèces diverses dans le secteur visé par le contrat, en particulier celle d'espèces protégées sensibles, menacées ou en danger, dont les voies de migration saisonnières peuvent traverser le secteur. Il convient d'envisager d'évaluer la sensibilité de ces espèces au bruit et à certaines fréquences sonores et de déterminer la profondeur à laquelle elles peuvent être rencontrées et l'impact que la lumière ou de futures activités d'exploitation pourraient avoir sur elles ;

g) Oiseaux marins : les oiseaux marins constituent l'un des groupes d'oiseaux les plus menacés au monde. Les installations en mer influent sur leur comportement. Ces oiseaux sont des révélateurs de la santé globale de l'écosystème, car les métaux lourds et les substances toxiques s'accumulent dans leur organisme.

## B. Méthodologie générale

228. Il faut procéder à des échantillonnages dans le temps pour appréhender la manière dont les paramètres biologiques varient d'une saison à l'autre. Ces paramètres, qui recouvrent notamment la concentration de métaux et d'autres contaminants dans les tissus biologiques, sont utilisés dans les études écotoxicologiques. Il convient également de tenir compte des caractéristiques du cycle biologique, par exemple des schémas de migration des espèces pélagiques, qui peuvent traverser le secteur visé par le contrat ou la zone de référence.

229. Afin de rendre compte de la diversité et des schémas de connectivité au niveau régional, il pourrait falloir comparer des spécimens recueillis à différentes échelles spatiales, variant par exemple de dizaines de kilomètres à des milliers de kilomètres. Pour ce faire, il faudra peut-être prélever des échantillons sur des sites éloignés afin d'établir des données de référence, ou bien s'appuyer sur des données provenant de sources tierces.

230. Il est recommandé d'utiliser la meilleure résolution possible pour procéder à toutes les identifications taxonomiques, et d'étayer le processus d'identification au moyen d'échantillons moléculaires des unités taxonomiques visées.

## C. Résolution de l'échantillonnage

### 1. Échantillonnage pélagique

231. Les communautés biologiques du domaine pélagique se répartissent entre des zones de différente profondeur, à savoir : la zone photique (0 à 200 m), où filtre suffisamment de lumière pour que le phytoplancton assure la photosynthèse ; la zone mésopélagique, ou zone crépusculaire (200 à 1 000 m), où l'on trouve essentiellement des animaux des couches diffusantes profondes ; la zone bathypélagique, ou océan intérieur (> 1 000 m), qui est peuplée d'organismes spécialisés des abysses. Chacune de ces zones se décompose en plusieurs couches. Sur le plan horizontal, en revanche, la répartition des communautés biologiques peut rester très homogène sur des centaines de kilomètres, quoique parsemée de transitions ponctuelles sur les fronts océaniques et dans les zones tourbillonnaires. On trouvera de plus amples informations sur l'échantillonnage et l'analyse de microorganismes du domaine pélagique à la sous-section 5 (Microbiote) des présentes directives.

232. Il convient de prélever des échantillons dans les strates verticales de chaque biome. Aux points d'échantillonnage précis cités à la section III.A, on préférera les intervalles bathymétriques suivants : de la surface à 50 m de profondeur ; de 50 à 100 m ; de 100 à 200 m ; de 200 à 500 m ; de 500 à 1 000 m ; de 1 000 m à 10 m au-dessus du fond marin.

233. Les prélèvements par filet peuvent être utilement complétés par le recours à des systèmes d'imagerie, en particulier à plus de 1 000 m de profondeur, au-delà de la portée maximale des sonars des navires. Parmi ces systèmes, on peut citer les profileurs vidéographiques sous-marins, que l'on immerge au moyen d'un câble afin de capturer un profil vertical, les submersibles utilisés pour capturer des profils obliques [voir Robison *et al.* (2013)] et une série d'autres dispositifs servant à établir des profils de bioluminescence [voir Heger *et al.* (2008)]. Les robots sous-marins télécommandés et engins sous-marins autonomes seront probablement des outils précieux dans le cadre de ces études en profondeur.

## 2. Échantillonnage benthique

234. Il est recommandé que l'échantillonnage benthique porte sur l'ensemble des classes de taille, les différents substrats (dont les sédiments et les nodules), la biogéochimie du domaine (voir sect. V), le fonctionnement de l'écosystème et la génétique. On trouvera de plus amples informations sur certaines variables dans les sections ci-après.

235. Il convient que l'utilisation des dispositifs de prélèvement et la gestion des échantillons à bord se fassent dans le respect de pratiques optimales telles que celles qui sont décrites ci-après :

a) Les équipements d'échantillonnage de sédiments doivent être déposés délicatement sur le fond marin (déploiement par le côté du navire, faible vitesse du câble, recours à la télémétrie), afin de minimiser toute vague d'étrave ;

b) Les carottes rectangulaires destinées à l'échantillonnage de la macrofaune ne doivent pas être sous-échantillonnées. Les sous-échantillons provenant d'une seule et même carotte rectangulaire et les carottes prélevées simultanément par un carottier multitubes n'étant que de pseudo-réplicats, il convient de ne pas les considérer comme des réplicats véritables (voir sect. III. A) ;

c) Les échantillons et spécimens devraient être conservés à la plus basse température possible (tamisage en chambre froide, tri sur glace et de préférence à bord, conservation des spécimens et des résidus du tamisage dans de l'éthanol froid, préservation de la chaîne du froid pendant le transport et le stockage des échantillons), de manière à préserver la qualité de l'ADN.

236. Il convient de déterminer le nombre d'échantillons nécessaires sur la base de l'analyse de puissance (Jumars, 1981) et des courbes de raréfaction des échantillons exploratoires. En ce qui concerne la macrofaune, le nombre d'échantillons exploratoires devrait se situer entre 5 et 10 carottes par unité physiographique. Il est ressorti de précédents travaux de recherche qu'il fallait disposer au minimum de 20 carottes rectangulaires pleines, et idéalement de plus de 30 carottes, pour obtenir une base de référence solide permettant la comparaison statistique de l'abondance des espèces de la macrofaune dans une unité physiographique avant et après la conduite d'activités d'exploitation minière. Le nombre effectif de carottes requises devrait être déterminé sur la base de l'analyse de puissance et des courbes de raréfaction de la zone étudiée. En ce qui concerne la mégafaune, il est nécessaire de procéder à une analyse de puissance pour optimiser le modèle d'étude. Il convient de définir chaque transect dans l'optique de pouvoir y rencontrer plus de 500 organismes individuels, et d'en définir cinq au minimum (Simon-Lledo *et al.*, 2019).



237. Il est recommandé de cibler les stratégies d'échantillonnage sur les unités physiographiques qui seront directement touchées par les activités d'exploitation (c'est-à-dire les plaines où la couverture de nodules est dense), celles qui pourraient en subir indirectement les effets, compte tenu d'autres variables (par exemple, les zones où les panaches pourraient se déposer), et les sites de référence adaptés.

#### **D. Variable mesurée : communautés pélagiques**

238. Il est recommandé d'étudier la structure verticale de la colonne d'eau par sondage acoustique au moyen d'un dispositif embarqué (Simrad EK60 ou équivalent) à fréquences multiples (18, 38, 70, 120 et 200 kHz) et calibré avant le départ de chaque expédition. Il convient de sonder les transects de jour et de nuit pour estimer le total du biovolume ou de la biomasse, à raison, par exemple, de 10 transects par site, tous les 8 milles marins, depuis un navire se déplaçant à une vitesse de 8 nœuds (Cox *et al.*, 2013). Après traitement des données, on obtiendra une estimation de la biomasse en fonction du niveau de profondeur et de la biomasse totale intégrée de la surface jusqu'à 1 000 m de profondeur (Irigoien *et al.*, 2014). Les couches de dispersion des ondes sonores doivent être identifiées et classées selon une méthode d'analyse multifréquence permettant de distinguer les poissons, les calmars et les crustacés (Benoit-Bird *et al.*, 2017). Les études par sondeur acoustique, à réaliser au moyen d'un Simrad EK60 ou d'un système équivalent, doivent se prolonger sur au moins trois cycles de 24 heures, de sorte que l'on puisse quantifier les flux diels de migration verticale (voir Klevjer *et al.*, 2016).

239. Chaque fois que possible, il convient de se rapporter aux points de référence antérieurs décrits dans les données mondiales relatives à la dispersion des ondes sonores disponibles dans diverses banques d'archives, dont celles des centres mondiaux de données océanographiques et des centres nationaux de données ; les ensembles de données mondiaux, tels que le *Mesopelagic Biogeography Dataset* (Proud *et al.*, 2017).

240. On trouvera ci-après une liste des catégories dont se composent les communautés pélagiques et les méthodes d'échantillonnage correspondantes :

a) Phytoplancton : il convient de cartographier la production primaire (chlorophylle-a) sur l'ensemble de la zone d'échantillonnage à partir d'outils d'imagerie satellitaire multispectrale adaptés [radiomètre avancé à très haute résolution (AVHRR), *Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor* (SeaWiFS), spectromètres imageurs à moyenne résolution (MERIS et MODIS)]. L'échantillonnage s'impose pour calibrer et vérifier les estimations de la production primaire établies à partir des données satellites. La réplication est indispensable pour déterminer les variations naturelles survenant dans l'espace et le temps. On peut obtenir des données relatives au phytoplancton à différents degrés de profondeur à partir d'échantillons d'eau recueillis au moyen de bouteilles de Niskin montées sur une sonde CTD ;

b) Zooplancton (méro- et holo-) : il est recommandé de prélever les échantillons de zooplancton au moyen de filets, dans l'optique de recueillir des spécimens de référence pour identification et séquençage ADN, et d'utiliser différentes méthodes d'échantillonnage pour les différentes classes de taille. Afin de classer et de quantifier les espèces de macroplancton et de mésoplancton, on pourra se servir de la vidéo haute définition, d'équipements d'imagerie acoustique active (soit à des appareils multifaisceaux), de tubes photomultiplicateurs (permettant de mesurer la bioluminescence), d'imagerie haute définition et d'imagerie acoustique et de sonars bioacoustiques. Afin de déterminer la composition d'une communauté, il importe d'étudier la répartition et la structure d'assemblage des espèces pour chaque

zone échantillonnée puis de combiner les données pour l'ensemble de la zone au moyen d'outils d'imagerie haute définition et d'imagerie acoustique. Il est possible d'obtenir des données complémentaires à partir d'ADN environnemental [étudié au moyen de séquenceurs ADN *in situ* (voir Danovaro *et al.*, 2020)], en procédant comme suit :

i) Zooplancton : il est recommandé de prélever les échantillons de zooplancton au moyen de filets, d'outils optiques (par exemple les profileurs vidéographiques sous-marins) et d'engins sous-marins autonomes et robots sous-marins télécommandés en vue de recueillir des spécimens de référence pour identification et séquençage ADN, et d'utiliser différentes méthodes d'échantillonnage pour les différentes classe de taille. Il convient d'utiliser des filets d'une ouverture de maille inférieure à 1 mm ; les filets Bongo et pompes à plancton sont à utiliser en eaux plus profondes, en combinaison, le cas échéant, avec un filet ouvrant-fermant multiple permettant de prélever en une fois des échantillons à différentes profondeurs (voir [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) et [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#)). Les filets devraient être équipés de débitmètres, de sorte qu'il soit possible de mesurer le volume échantillonné, ainsi que de capteurs de profondeur et de température, et les échantillons devraient être recueillis à partir des 100 m au-dessus du fond marin jusqu'à la surface, par deux passages de filet au moins pour chaque station d'échantillonnage ;

ii) Necton mésopélagique : il convient d'utiliser un plus grand filet tel que le filet à macrozooplancton ou à krill décrit dans Wenneck *et al.* (2008), soit un chalut pélagique permettant de capturer des échantillons représentatifs de poissons et crustacés et autres organismes de la couche diffusante à différents niveaux de profondeur. Ce chalut présente cinq queues, chacune équipée d'une benne d'un volume de sept litres. On peut également utiliser des modèles plus grands du MOCNESS (*Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sensing System*). Il est recommandé de prélever des échantillons à partir des 100 m au-dessus du fond marin jusqu'à la surface, en remorquant le chalut à l'horizontale à la profondeur correspondant à chaque couche diffusante, et d'observer le processus en parallèle au moyen d'un sondeur acoustique pour vérifier que l'opération se déroule bien dans la zone cible. Le processus d'échantillonnage est décrit dans Cook *et al.* (2013). De la surface à 200 m de profondeur, il est recommandé d'utiliser plusieurs filets, dont un avec un cul de chalut à mailles de 350 µm et un autre à mailles de 200 µm. Pour les systèmes de filets ouvrants-fermants multiples, la taille des mailles peut varier de 64 µm à 3 mm, selon l'objectif visé et les organismes recherchés ;

iii) Zooplancton gélatineux : le zooplancton gélatineux constitue une part importante de la biomasse du plancton. On le trouve en abondance et en grande diversité de la couche épipélagique à la couche abyssopélagique, notamment dans la couche limite benthique. Les outils optiques (par exemple les profileurs vidéographiques sous-marins) ou les transects par véhicule sous-marin autonome et véhicule télécommandé sont les meilleurs moyens d'étudier le zooplancton gélatineux. Ces dispositifs devraient être placés le long de la colonne d'eau à des intervalles de profondeur similaires à ceux des filets remorqués ;

iv) Plancton benthopélagique : la couche située à proximité du fond pourra être échantillonnée à l'aide de filets à plancton, qui devront toutefois être munis d'émetteurs acoustiques, de profondimètres ou d'altimètres précis, montés sur le cadre de l'équipement pour réduire le risque de dommages lors des contacts avec le fond. Elle pourra également être échantillonnée à l'aide de filets à plancton montés sur des traîneaux remorqués sur le fond marin (par exemple, le

« traîneau Brenke »). Il est possible de prélever des échantillons quantitatifs de zooplancton au moyen de pompes à plancton amarrées à des hauteurs très précises à proximité du fond marin et des échantillons qualitatifs au moyen de capteurs de sédiments amarrés ;

c) Microbiote : Ensemble des organismes invisibles à l'œil nu, plus petits que la méiofaune. Concrètement, le microbiote est l'ensemble des organismes de taille inférieure à 32 µm et comprend le nanoplancton, les protistes, les bactéries, les archées et les virus. Les communautés microbiennes de la colonne d'eau et des eaux proches du fond peuvent jouer un rôle crucial dans les cycles biogéochimiques. On trouvera les directives relatives à l'échantillonnage et à l'analyse des prélèvements à la sous-section 5 de la section E ;

d) Necton : le necton comprend des organismes de taille très variable, depuis le micronecton (2 à 20 cm) aux grands poissons et calmars. La méthode d'échantillonnage diffère en fonction de la classe de taille concernée :

i) Il est recommandé de recueillir les échantillons de petit necton au moyen de filets de prélèvement (MOCNESS) ;

ii) En ce qui concerne les organismes de taille supérieure, il convient d'utiliser des chaluts semi-hauturiers afin de recueillir des spécimens et d'appliquer des méthodes acoustiques pour estimer la biomasse et catégoriser la couche diffusante profonde.

241. Les différents organismes zooplanctoniques devraient être identifiés au rang taxonomique le plus bas possible. Pour les organismes holoplanctoniques, il s'agira du rang de l'espèce. En ce qui concerne le méroplancton, l'identification pourrait devoir se faire selon des groupes plus généraux (par exemple larves d'échinodermes, larves de polychètes trochophores, œufs, etc.). L'analyse moléculaire peut être utile à l'identification des taxons holoplanctoniques aussi bien que méroplanctoniques.

242. Il convient d'obtenir des données d'imagerie et des informations taxonomiques pour tous les groupes fauniques, et d'utiliser des techniques moléculaires pour identifier des caractéristiques génétiques à des fins de comparaison taxonomique entre les secteurs visés par des contrats.

243. Les paramètres à mesurer sont les suivants : concentration de chlorophylle-a ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), composition et biomasse du phytoplancton, migration dielle du micronecton et du zooplancton, abondance des populations et composition et biomasse du zooplancton et d'autres groupes fauniques.

244. Sur la base de ces mesures et de celles obtenues concernant d'autres paramètres (productivité primaire, densité et diversité univariée et multivariée des groupes fauniques), on déterminera les classes de taille et les groupes fonctionnels.

## **E. Variable mesurée : communautés benthiques**

245. Les organismes benthiques peuvent être divisés en une série de classes de taille et de groupes fonctionnels. Les méthodes d'échantillonnage devraient être les mêmes, chaque fois que faire se peut, mais chaque groupe se prête à des considérations différentes. Les groupes en question sont les suivants :

a) Mégafaune : les organismes visibles sur des images, d'une taille généralement supérieure à 1 cm ;

b) Macrofaune : généralement des crustacés annélides, amphipodes, tanaïdes et isopodes, des mollusques et des petits échinodermes, que l'on parvient de plus souvent à retenir avec un maillage de 250 à 300 µm. Les échantillons prélevés dans

les abysses contiennent également de nombreux foraminifères d'une taille comparable à celle des organismes de la macrofaune (Bernstein *et al.*, 1978), ainsi que de grands organismes méiofauniques tels que des nématodes, mais ceux-ci sont rarement étudiés. Aux fins des présentes directives, on a retenu l'approche proposée par Hessler et Jumars (1974), consistant à exclure de la macrofaune au sens strict les taxons les plus petits qui sont mieux représentés dans les échantillons méiofauniques. Il est possible d'échantillonner les populations des plus grandes espèces des taxons de la méiofaune de manière plus précise en utilisant l'unité supérieure généralement réservée à la macrofaune, et de considérer ces populations comme faisant partie de la macrofaune au sens large. Dans la zone de Clarion-Clipperton, la macrofaune au sens strict est dominée par deux groupes taxonomiques, à savoir les polychètes et les tanaïdes ;

c) Méiofaune : généralement des nématodes, des copépodes harpacticoïdes, des ostracodes, des kinorhynches et d'autres petits invertébrés (méiofaune métazoaire), retenus par un tamis d'un maillage de 32 µm. Cette classe de taille comprend également d'abondants foraminifères de petite taille (méiofaune foraminifère). Pour des raisons pratiques, ne sont le plus souvent considérés que les organismes retenus par des tamis d'un maillage de 150, 125 ou 63 µm ;

d) Faune associée aux nodules polymétalliques : dans les zones où ils sont abondants, les nodules contribuent largement à structurer l'habitat benthique. Dans les champs de nodules, l'épifaune se compose en majorité d'octocoralliaires, d'éponges, d'actiniaires et de foraminifères, et l'endofaune, que l'on rencontre dans les sédiments des crevasses des nodules, d'organismes de la méiofaune ;

e) Microbiote : ensemble des organismes invisibles à l'œil nu, plus petits que la méiofaune. Il s'agit concrètement des organismes de taille inférieure à 32 µm ;

f) Poissons et détritivores démersaux : animaux mobiles, souvent prédateurs actifs dans la couche limite benthique ; ce groupe comprend également les espèces qui exploitent les carcasses, par exemple de baleines ou des poissons, qui se déposent sur le fond marin.

## 1. Mégafaune

246. La mégafaune concernée, au sens le plus large possible, par les activités d'exploitation minière devrait être évaluée au moyen d'images capturées le long de transects droits répliqués dans des strates ou des unités physiographiques définies. Il convient, chaque fois que possible, de s'appuyer sur des photographies (images fixes) plutôt que sur des vidéos (images mobiles), car cela facilite grandement l'analyse et le contrôle de la qualité des images. Il est possible d'extraire des images fixes à partir d'images vidéo de très bonne facture, mais la qualité des photographies est quasiment toujours meilleure. Lorsque c'est possible, il est recommandé d'inclure des images vidéo permettant d'évaluer la présence de formes plus rares, très mobiles (par exemple, des poissons) et de disposer de plusieurs angles de vue et d'observations comportementales.

247. Il convient que la résolution des appareils photographiques soit suffisante pour discerner de manière fiable et avec assez de détail les organismes de la mégafaune de taille supérieure à 10 mm (soit par exemple des images de 40 × 40 pixels pour chaque zone de 10 × 10 mm du fond marin), et que les paramètres d'exposition puissent être réglés manuellement. Afin de caractériser de manière fiable les organismes de la mégafaune de taille supérieure à 10 mm, il est possible d'utiliser des images vidéo d'une résolution suffisante (par exemple, en haute définition 720p, à environ 1 million de pixels par image, au minimum). Il faudrait idéalement récupérer des images au

format brut, c'est-à-dire des données traitées *a minima* émanant du capteur photographique.

248. En ce qui concerne l'imagerie des fonds marins, il convient d'utiliser une plateforme permettant de capturer des images à haute résolution, bien éclairées, d'échelle et de qualité constantes, afin de pouvoir identifier de manière fiable les individus mégafauniques de la taille définie (généralement 10 mm). On pourra se servir d'un engin sous-marin autonome, d'un robot sous-marin télécommandé, d'un engin se déplaçant sur le fond ou encore d'un dispositif photographique remorqué. Il est recommandé de maintenir un niveau d'altitude constant tout au long du processus, de sorte que les images soient toujours capturées à la même distance du fond marin, et de récupérer les données de navigation de la plateforme automatiquement et à intervalle régulier (par exemple 1 Hz) au moyen d'un transpondeur acoustique.

249. Il convient de définir les positions de départ et le cap du transect de manière randomisée et de répliquer les transects. Le nombre de répliqués devrait être déterminé et justifié par une analyse de puissance statistique et ne pas être inférieur à 5 par strate cible (Simon-Lledo *et al.*, 2019). Les transects doivent être indépendants les uns des autres, c'est-à-dire qu'un long transect ne devrait pas être séparé en plusieurs segments adjacents. Il existe des stratégies efficaces permettant d'obtenir des transects indépendants. On peut notamment capturer de multiples transects droits en suivant une trajectoire en zig-zag. Les transects ne devraient pas recouper plusieurs unités physiographiques.

250. Il convient de déterminer la longueur des transects à partir des données disponibles pour la région afin de s'assurer de rencontrer, dans chaque transect, un nombre d'organismes mégafauniques suffisant pour pouvoir évaluer les paramètres d'intérêt potentiel de manière efficace et fiable. Dans le cadre de l'évaluation de la biodiversité, il importe de définir chaque transect dans l'optique de pouvoir y rencontrer plus de 500 organismes individuels par transect (Simon-Lledo *et al.*, 2019).

251. Il convient de définir la largeur des transects à partir de l'altitude effective à laquelle les images sont prises (généralement, aux alentours de 2 m). Si l'on peut compter sur suffisamment de données de position et sur des méthodes d'échantillonnage spatial fiable, il est recommandé de capturer des transects adjacents qui se chevauchent, de manière à constituer une mosaïque recouvrant une zone plus vaste, à condition que la résolution de cette mosaïque soit assez bonne pour permettre d'identifier les organismes de plus de 10 mm de manière fiable.

252. Il convient de dresser une liste des taxons dont on ne peut savoir s'ils sont vivants, par exemple les invertébrés vivant dans une coquille ou un tube (c'est le cas de la majorité des taxons des classes des polychètes et des gastéropodes). Il peut être nécessaire d'exclure ces taxons de l'analyse quantitative.

253. Il est recommandé d'analyser séparément les xénophyophores (mégafaune protiste) (Gooday *et al.*, 2017, 2020b), dont l'abondance est généralement plusieurs fois supérieure à celle des organismes de la mégafaune métazoaire.

254. Dans le cadre de la plupart des activités d'analyse, il convient de considérer les transects d'images comme des unités d'échantillonnage (c'est-à-dire que tous les organismes dont la présence a été enregistrée dans chaque transect devraient être additionnés et considérés comme formant une unique unité).

255. Toutes les images doivent être mises à l'échelle sur la base d'approches photogrammétriques, à partir des propriétés optiques connues de l'appareil photographique, de la position de l'appareil sur le dispositif de capture, du journal de l'altimètre et des données relatives au tangage et au roulis du véhicule. Dans le rapport d'étude, il conviendra d'indiquer la surface du fond marin couverte.

256. Il est recommandé d'annoter les images au moyen d'un logiciel spécialisé tel que BIIGLE (Langenkämper *et al.*, 2017). On pourra utiliser avec profit l'un quelconque des outils d'annotation fort adaptés disponibles dans le domaine de l'analyse d'images du fond marin (Gomes-Pereira *et al.*, 2016 ; Schoening *et al.*, 2016).

257. Il convient d'analyser les images de manière aléatoire (afin d'éviter tout biais de séquence ou biais temporel). Tous les individus mégafauniques d'une taille supérieure à 10 mm devraient être repérés et faire l'objet d'annotations. Il convient de se rapporter au plus haut niveau de résolution taxonomique possible, c'est-à-dire à celui du morphotype (unité taxonomique opérationnelle) afin d'assurer la cohérence du processus d'identification, qui se fait généralement au rang du genre ou de la famille (Howell *et al.*, 2019). On calculera les dimensions physiques de chaque individu sur la base des tailles de pixel, qui sont connues.

258. Chaque fois que possible, l'observation d'espèces à partir de photos ou d'enregistrements vidéo devrait être vérifiée par analyse taxonomique et ou général de plusieurs spécimens recueillis. Il est ressorti d'études récentes que certains groupes mégafauniques, par exemple celui des ophiures, peuvent recouvrir des complexes d'espèces (voir, par exemple, Christodoulou *et al.*, 2020).

259. Il convient de présenter les résultats de manière à en faciliter l'utilisation et la comparaison future dans le cadre d'autres études, de sorte qu'il soit possible d'intégrer les données dans des évaluations notamment régionales. Cela suppose en général de présenter des matrices d'abondance des espèces morphologiques et les valeurs de densité (chiffres au mètre carré), les nombres de Hill [diversité d'ordre 0, 1 et 2, soit 0 : richesse en espèces morphologiques (S) ; 1 : forme exponentielle de l'indice de Shannon ( $\exp H'$ ) ; 2 : forme inverse de l'indice de Simpson ( $1/D$ )] et une analyse multivariée (comprenant idéalement des données antérieures, à des fins de comparaison).

260. Les paramètres à mesurer sont les suivants : abondance chiffrée (nombre d'individus au mètre carré) des spécimens de chaque zone échantillonnée, pour les groupes taxonomiques/fonctionnels pertinents et pour l'ensemble de la communauté métazoaire/xénophyophore. Il convient également de consigner la taille de chaque individu rencontré et toutes observations précises concernant sa localisation (par exemple, le fait qu'il ait été ou non attaché à un nodule).

261. Sur la base de ces mesures, on déterminera la densité et les statistiques qui permettront de décrire la structure de la communauté (mesures de diversité univariées et multivariées), ainsi que les schémas de répartition. Il est recommandé d'accompagner les résultats de cartes ou d'images capturées pour chaque zone, sur lesquelles apparaîtraient éventuellement l'ampleur des habitats des fonds marins identifiés.

## 2. Macrofaune

262. Il est recommandé d'échantillonner la macrofaune en suivant la méthode définie dans l'étude technique n° 13 de l'Autorité, intitulée *Deep Sea Macrofauna of the Clarion-Clipperton Zone*. On trouvera de plus amples informations dans les documents [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) et [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#).

263. L'échantillonnage devrait couvrir aussi bien les organismes de la macrofaune vivant sur des nodules que ceux vivant dans les sédiments. Une fois la carotte à bord, il convient d'en photographier la surface après avoir siphonné l'eau surjacente sur un tamis à l'aide d'un tuyau en plastique, et de traiter les résidus de tamisage de l'eau surjacente avec les sédiments de surface.

264. En ce qui concerne la faune associée aux nodules, il convient d'identifier l'épifaune manifestement visible à la surface des nodules, une fois les carottes rectangulaires prélevées. Il est recommandé de capturer des images de la faune vivant sur les nodules lorsqu'elle y est toujours attachée, dans de petits aquariums spéciaux remplis d'eau de mer filtrée et froide (4 °C) ; puis de séparer les organismes des nodules, d'en prélever pour analyse ADN un fragment à conserver dans une éprouvette de 2 mL emplie d'éthanol à 96 % (à -20 °C) et de fixer l'organisme ainsi échantillonné dans une éprouvette séparée, avant de replacer les nodules dans le contenant d'origine. Il convient de filtrer toute l'eau ayant été en contact avec les nodules à travers un tamis de 32 µm et de reverser les résidus dans le contenant d'origine. La taille et le poids des nodules devraient être consignées, puis ceux-ci préservés dans de la formaline ou de l'éthanol froid.

265. Il est recommandé d'effectuer toutes les étapes du traitement des échantillons de faune sédimentaire dans un laboratoire à basse température. Les eaux de surface présentes dans le carottier devraient être siphonnées sur un tamis (de 250 µm ou 300 µm). Il convient ensuite de photographier la surface encore intacte de la carotte puis de sa coupe transversale, en prenant note de toute bioturbation et de la profondeur à laquelle interviendrait tout changement dans la couleur des sédiments, afin de repérer toute évolution verticale dans le type de sédiments observés. Les sédiments devraient être divisés entre différentes couches correspondant aux profondeurs suivantes : 0 à 3 cm, 3 à 5 cm et 5 à 10 cm, et chaque couche tamisée en utilisant de l'eau de mer filtrée froide. L'échantillon le moins profond devrait être trié immédiatement et les résidus des couches plus profondes conservés dans de l'eau de mer filtrée froide, en laboratoire à basse température, jusqu'au moment de leur traitement. Il est de plus en plus courant que les échantillons soient nécessaires à la fois à l'analyse morphologique et à l'analyse moléculaire ; il importe donc de réfléchir à deux fois avant d'utiliser le formaldéhyde comme agent de fixation, puisque celui-ci peut empêcher l'analyse moléculaire. Aux fins de l'analyse morphologique et de l'analyse moléculaire, les couches de sédiments des premières couches (de 0 à 3 cm et de 3 à 5 cm) devraient être tamisées dans un laboratoire réfrigéré (à 4 °C) au moyen d'eau de mer filtrée froide et les résidus préservés dans du formaldéhyde tamponné à 10 % ou dans de l'éthanol à 96 %. La couche inférieure (de 5 à 10 cm) devrait être tamisée en laboratoire au moyen d'eau de mer filtrée froide et les résidus fixés dans du formaldéhyde tamponné à 10 % ou dans de l'éthanol à 96 %. Si le volume de résidus est important, il pourra falloir utiliser une solution de formaldéhyde plus concentrée pour bien fixer les spécimens. Il est recommandé de ne pas utiliser de solutions de formaldéhyde pour fixer les groupes de crustacés tels que les isopodes et les tanaïdes, et de conserver plutôt ces taxons dans de l'éthanol à 96 % préalablement refroidi. Il convient de fixer les échantillons dans une solution de formaldéhyde pendant 24 heures au moins, puis de les transférer dès que possible dans une solution d'éthanol à 70-80 %.

266. Dans le cadre des études moléculaires et morphologiques et des études de biodiversité, les résidus de la couche supérieure (de 0 à 3 cm) devraient être tamisés et conservés, l'échantillon maintenu à la plus basse température possible, et tous les métazoaires triés par groupes taxonomiques aisément identifiables au-dessus d'un lit de glace. Il est recommandé de prendre des images réelles des spécimens avant de les préserver dans l'éthanol. Pour préserver les nématodes, on peut utiliser une combinaison de diméthylsulfoxyde, d'éthylènediaminetétraacétate de disodium et de solution saline saturée (Yoder *et al.*, 2006). Il est recommandé de passer les autres couches au tamis et d'examiner les résidus comme indiqué ci-dessus ou de les préserver dans de l'éthanol à 96 %. Les polychètes devraient être conservés dans de l'éthanol froid à 80 %, les nématodes dans une combinaison de diméthylsulfoxyde, d'éthylènediaminetétraacétate de disodium et de solution saline saturée (et stockés

à 4 °C) et tous les autres groupes dans de l'éthanol froid à 96 %. L'éthanol devrait être changé dans un délai de 24 à 48 heures et les échantillons stockés à une température de -20 °C.

267. Les paramètres à enregistrer sont les suivants : classification taxonomique de chaque espèce morphologique, matrices des espèces par station indiquant les données d'abondance (nombre d'individus par échantillon), séquences génétiques.

268. Sur la base de ces mesures, on déterminera la densité, les statistiques relatives à la richesse spécifique qui permettront de décrire la structure de la communauté (mesures de diversité univariées et multivariées), ainsi que les schémas de répartition.

### 3. Méiofaune (y compris la méiofaune foraminifère)

269. La méiofaune métazoaire doit être échantillonnée selon la méthode décrite dans l'étude technique n° 7 de l'Autorité, intitulée *Marine Benthic Nematode Molecular Protocol Handbook (Nematode Barcoding)* [guide pratique pour l'étude moléculaire des nématodes benthiques (codage à barres des nématodes)].

270. Pour l'analyse de la biodiversité, il conviendra de se limiter aux taxons de la faune sédimentaire communément admis comme méiofauniques, tels que les nématodes, les copépodes harpacticoïdes ou les kinorhynches. Les taxons macrofauniques (polychètes et tanaïdes, par exemple) capturés dans les échantillons pourront être notés mais ne devront pas être pris en compte dans les estimations d'abondance de la méiofaune.

271. Au moins une carotte par déploiement de carottier multitubes doit être réservée à la caractérisation morphologique de la méiofaune métazoaire, et une carotte à la caractérisation morphologique des foraminifères. D'autres carottes doivent être destinées à la caractérisation moléculaire de ces groupes et d'autres eucaryotes de petite taille (petits protistes nus, par exemple) (Gooday *et al.*, 2020a) par codage à barres (barcoding) ou métabarcodage. Le métabarcodage peut être pratiqué sur la méiofaune extraite des sédiments ou sur des échantillons de sédiments. Ces derniers constitueraient des échantillons d'ADN environnemental.

272. Si les nodules sont abondants, leur déplacement, lors du carottage, peut perturber le sédiment de manière plus ou moins importante. Un ordre de priorité doit donc être fixé avant chaque déploiement, les carottes de sédiments les moins perturbés devant être destinées aux analyses les plus prioritaires et les rangs de priorité modifiés par roulement à chaque déploiement.

273. Une fois à bord, toutes les carottes doivent d'abord être photographiées. L'eau surjacent de la carotte destinée à l'analyse de la méiofaune métazoaire doit être siphonnée à l'aide d'un tuyau en plastique sur un tamis de 32 µm. Les résidus du tamisage seront traités avec les sédiments de surface. La découpe de la carotte s'effectue après inspection visuelle. Généralement, la présence de nodules empêche la découpe. Si tel est le cas, la section de 0 à 5 cm de la carotte peut être conservée entière. Sinon, les nodules peuvent être retirés et les carottes tranchées à l'aide d'un coupe-tube au niveau des couches suivantes : 0-1 cm, 1-2 cm, 2-3 cm, 3-4 cm et 4-5 cm (les profondeurs indiquées à la section III.A, mais pas au-delà de 5 cm de profondeur dans le sédiment).

274. La carotte utilisée pour l'analyse des foraminifères doit être découpée comme décrit ci-dessus et chaque tranche de sédiment conservée séparément dans une solution de formaldéhyde à 4 % tamponnée au borax (formol à 10 %).

275. La température et la solution chimique utilisée pour la conservation des échantillons de méiofaune doivent être clairement indiquées (type et concentration). La méthode de conservation à suivre sera fonction de l'analyse prévue. Par exemple,



les échantillons devant faire l'objet d'une étude morphomoléculaire (c'est-à-dire d'un codage à barres) seront conservés dans une solution de diméthylsulfoxyde et d'éthylènediaminetétraacétate de disodium saturée en sel (Yoder *et al.*, 2006) à 4 °C. Cette méthode permet non seulement d'utiliser les échantillons pour l'étude des caractéristiques morphologiques (spécimens de référence) mais également d'extraire par la suite du matériel génétique des mêmes spécimens (codage à barres de l'ADN), établissant ainsi un lien entre la morphologie et l'identification moléculaire (Bhadury *et al.*, 2006). Les échantillons destinés à l'analyse par métabarcodage doivent être congelés à au moins -20 °C immédiatement après l'échantillonnage (Macheriotou *et al.*, 2020). En outre, les échantillons seront conservés dans une solution de formaldéhyde à 4-8 % et d'eau de mer tamponnée au borax, mais ces spécimens ne pourront être utilisés que pour l'analyse morphologique. Il convient de réserver au moins une carotte pour le métabarcodage des eucaryotes de petite taille (protistes et métazoaires). On prélèvera sur chaque carotte, à l'aide d'une cuillère stérile, trois sous-échantillons de sédiments (d'un volume d'environ 2 ml) qui seront placés directement dans des flacons en plastique, dans 5 ml d'une solution de conservation appropriée, et conservés à -20 °C. Les nodules, le cas échéant, seront conservés séparément pour une analyse ultérieure de la faune qui leur est associée.

276. Une fois au laboratoire, les échantillons seront traités selon l'une ou l'autre des procédures standard d'extraction de la méiofaune. Pour la méiofaune métazoaire, il est recommandé de suivre la méthode de la flottation et de la centrifugation (à une force centrifuge relative de 1 905, par exemple), connue pour permettre de recueillir jusqu'à au moins 80 % de la faune (McIntyre et Warwick, 1984). La flottation donnant des résultats irréguliers, il convient de trier les échantillons de foraminifères à la main. On s'efforcera d'inclure des éléments « à coquille molle » à chambre unique (monothalame) dans les évaluations de la biodiversité, car ils sont abondants et dominants parmi les foraminifères présents dans les échantillons prélevés dans la zone de Clarion-Clipperton et l'océan Indien. Cependant, à des fins de suivi, l'analyse peut porter sur les taxons à coquille dure et à chambres multiples, qui sont moins abondants et diversifiés, mais mieux connus et moins longs à étudier que les monothalamides (approche dite « micropaléontologique »).

277. Des tamis à mailles de 150, 125 et 63 µm sont couramment utilisés dans les études sur les foraminifères. L'ouverture de maille dépend du choix à opérer entre la nécessité d'analyser des résidus plus fins et celui d'obtenir un grand nombre d'espèces et de données (Gooday et Goineau, 2019). Un tamis de 125 µm est recommandé pour une utilisation générale dans les études de biosurveillance (Schönfeld *et al.*, 2012), mais une ouverture de maille de 63 µm peut fournir des informations supplémentaires sur les espèces sensibles (Lo Giudice Capelli et Austin, 2019), tandis qu'une ouverture de 150 µm retient divers monothalamides de plus grande taille peu représentés dans les fractions plus fines (Goineau et Gooday, 2017, 2019). Idéalement, les trois fractions (> 150 µm, de 125 à 150 µm, et de 63 à 125 µm) devraient être analysées, mais si cela n'est pas pratique, une seule fraction (> 150 µm, > 125 µm ou > 63 µm) peut être utilisée, mais de manière systématique.

278. Les résidus de tamisage pour l'analyse morphologique doivent être colorés dans une solution de rose Bengale (1 g dans 1 l d'eau du robinet), par exemple, en plaçant le tamis dans un bain de la solution colorante jusqu'au lendemain et en lavant ensuite les résidus sur le tamis pour éliminer l'excès de colorant. Le tri des foraminifères doit être effectué dans l'eau, dans une boîte de Pétri, par exemple. Les monothalamides délicats doivent être retirés de la boîte à l'aide d'une pipette et conservés dans du glycérol sur des lames à cavité en verre, les lames restant découvertes afin que les spécimens soient accessibles. Les espèces à coquille dure plus robustes doivent être conservées sur des lames micropaléontologiques sèches. On trouvera de plus amples renseignements sur le traitement des échantillons de foraminifères, notamment le

fractionnement humide et le tamisage des sédiments, les moyens de distinguer les spécimens « vivants » des spécimens morts et le problème de la fragmentation, dans Goineau et Gooday (2017, 2019) et Gooday et Goineau (2019). Ces articles et leurs suppléments comportent de nombreuses photographies de monothalamides communs et, pour la plupart, non décrits. On se reportera à Schönfeld *et al.* (2012) et Alve *et al.* (2016) pour les recommandations concernant l'approche micropaléontologique de l'utilisation des foraminifères multichambre dans les études de suivi.

279. Les paramètres qui doivent être enregistrés sont les listes d'espèces ou genres, les espèces ou genres par matrice de station indiquant la densité d'abondance rapportée à 10 cm<sup>2</sup>, et les séquences de gènes.

280. Sur la base de ces mesures, on déterminera la densité et les statistiques permettant de décrire la structure de la communauté (mesures de diversité univariées et multivariées).

#### 4. Faune associée aux nodules polymétalliques

281. La vitesse de croissance des nodules étant extrêmement lente, il faudra attendre des millions d'années pour que ce substrat dur soit rétabli, une fois retiré. Il importe donc de déterminer les proportions dans lesquelles les espèces sont réparties entre les sédiments meubles et les nodules dans les gisements de nodules abyssaux, ainsi que les fonctions ou rôles de ces espèces dans cet habitat.

282. Les échantillons doivent être collectés à l'aide d'un carottier-boîte (zone d'échantillonnage d'au moins 0,25 m<sup>2</sup>), d'un carottier monté sur robot télécommandé ou de tout autre dispositif de prélèvement benthique permettant de recueillir des échantillons de sédiments et de nodules non perturbés.

283. Tous les nodules polymétalliques se trouvant dans les sédiments doivent être soigneusement retirés, photographiés et examinés pour établir la présence d'épifaune. Le traitement ultérieur dépendra de la faune étudiée.

284. Tous les organismes épifauniques fixés à la surface extérieure des nodules doivent être photographiés immédiatement, soigneusement retirés et conservés dans de l'éthanol à 96 % en vue d'une analyse microscopique et d'autres analyses ultérieures en laboratoire. La surface de chaque nodule, séparément, doit ensuite être lavée sur un tamis à maille de 32 µm ; le matériau tamisé sera considéré comme faisant partie de la faune sédimentaire ambiante. Les sédiments meubles présents sur le nodule doivent être lavés séparément, de préférence sur un tamis à mailles fines (20-25 µm). Les matériaux tamisés seront considérés comme faisant partie de chaque couche de sédiment contenant la faune. Pour recueillir la méiofaune métrazoaire présente dans les fissures des nodules, ceux-ci doivent être soigneusement lavés afin d'éliminer les sédiments qui y adhèrent, mesurés et pesés. Les nodules propres seront décomposés mécaniquement si nécessaire et fixés dans du formaldéhyde tamponné ou une solution de diméthylsulfoxyde et d'éthylènediaminetétraacétate de disodium saturée en sel, par exemple, en vue d'analyses morphologiques et moléculaires (on gardera à l'esprit que la fixation peut affecter l'intégrité physique des nodules). L'échantillon pourra alors être traité selon l'une ou l'autre des procédures standard d'extraction de la méiofaune. Il est cependant recommandé de suivre la méthode de la flottation et de la centrifugation (à une force centrifuge relative de 1 905, par exemple), connue pour permettre de récupérer jusqu'à au moins 80 % de la faune (McIntyre et Warwick, 1984). Ensuite, le surnageant doit être lavé sur un tamis à mailles de 20-32 µm. Le résidu de tamisage doit être soigneusement examiné au stéréomicroscope (grossissement de 40×). Tous les organismes faunistiques doivent être identifiés au niveau taxonomique le plus bas possible, comptés, triés et conservés séparément dans une solution de diméthylsulfoxyde et d'éthylènediaminetétraacétate

de disodium saturée en sel à 4 °C afin de pouvoir être utilisés ultérieurement pour l'identification moléculaire.

285. Pour les études sur les foraminifères, les nodules doivent être pris à la surface des carottes prélevées par carottier-boîte ou carottier multitubes, placés dans des récipients distincts et conservés dans une solution de formaldéhyde à 4 % tamponnée au borax (formol à 10 %). Il convient d'utiliser des récipients à ouverture large afin de pouvoir en retirer facilement les nodules sans endommager les foraminifères fragiles qui y seraient incrustés. Au laboratoire, il faudra laver soigneusement les nodules, si nécessaire à la pipette, pour enlever tout sédiment qui adhérerait à la surface. Le lavage doit cependant être réduit au minimum et les nodules manipulés aussi précautionneusement et aussi peu que possible. Lorsqu'ils sont propres, les nodules sont placés dans un bol d'eau suffisamment profond pour qu'ils soient entièrement recouverts et examinés au stéréomicroscope muni d'un appareil-photo numérique. Il est plus fréquent de trouver des foraminifères sur la partie supérieure des nodules, avec des concentrations parfois plus fortes sur les points les plus élevés, mais on peut également en trouver sur le dessous. Il convient de photographier les différents morphotypes afin de constituer un catalogue rendant compte de leur diversité. Dans la mesure du possible, le nombre de spécimens de chaque type doit être enregistré. Il est cependant difficile de le faire pour certaines formes, comme les grandes formations réticulées et les systèmes tubulaires aux limites mal définies.

286. Les paramètres à enregistrer sont l'identification taxonomique au niveau le plus bas possible (idéalement le niveau de l'espèce), l'abondance par nodule (volume/poids du nodule) et les séquences de gènes.

287. Sur la base de ces mesures, on déterminera la densité et les statistiques permettant de décrire la structure de la communauté (mesures de diversité univariées et multivariées) ainsi que les schémas de répartition.

## 5. Microbiote

288. Les échantillons de sédiments doivent être collectés au moyen d'un carottier manuel monté sur robot télécommandé, d'un carottier manuel embarqué dans un sous-marin habité, d'un carottier-boîte, d'un carottier-boîte guidé par vidéo ou d'un carottier multitubes guidé ou non par vidéo, l'échantillonneur étant scellé aussi près que possible du point de collecte afin d'éviter toute contamination pendant la récupération.

289. Les échantillons d'eau doivent être collectés à l'aide d'une bathysonde-rosette équipée d'un échantillonneur d'eau ou, *in situ*, à l'aide d'une unité de filtration et d'extraction de particules telle que le système McLane WTS, l'échantillonneur étant scellé aussi près que possible du point de collecte pour éviter toute contamination pendant la récupération. Il convient de prélever ces échantillons dans les couches d'eau importantes définies par l'échantillonnage de la colonne d'eau (voir sect. V). Les couches à échantillonner comprennent, sans s'y limiter, la couche de surface, le maximum de chlorophylle profond, la couche anoxique et la couche située à proximité du fond.

290. Les échantillons qui seront cultivés doivent être conservés à 4 °C. Ceux qui ne seront pas cultivés doivent être conservés à -80 °C ou dans de l'azote liquide (après avoir été filtrés au moyen d'un dispositif de filtration des microbes, avec un film de microfiltration dans le cas des échantillons d'eau).

291. Une numération microbienne doit être obtenue par coloration fluorescente à l'aide de colorants spécifiques de l'ADN (le DAPI, par exemple) ou par PCR en temps réel avec des amorces oligonucléotidiques spécifiques des groupes à analyser

(Labrenz *et al.*, 2004). Si des cultures sont réalisées, elles doivent l'être à bord du navire d'échantillonnage.

292. Il convient d'obtenir l'ADN microbien par extraction au phénol-chloroforme ou à l'aide de kits d'extraction d'ADN. Il est recommandé de recourir à la spectrophotométrie (Qbit, nanodrop) et à l'électrophorèse sur gel d'agarose pour détecter la pureté et l'intégrité de l'ADN, respectivement. Les échantillons d'ADN microbien qualifiés doivent être séquencés par un dispositif de séquençage à haut débit (Hiseq X, NovaSeq, Sequel II, MinION, GridION ou PromethION, par exemple, et pour le métabarcodage, MiSeq). En outre, un séquençage des amplicons doit être effectué pour les gènes marqueurs importants (gène de l'ARNr 16S, gènes fonctionnels, par exemple).

293. Les ARN microbiens doivent être obtenus au moyen de kits d'extraction d'ARN ou de réactifs similaires, aussi tôt que possible après la collecte de l'échantillon. On recourra à la spectrophotométrie et à l'électrophorèse sur gel d'agarose pour en détecter la pureté et l'intégrité, respectivement. Les échantillons d'ARN microbien qualifiés doivent être séquencés par un dispositif de séquençage à haut débit. Les ARN spécifiques seront analysés par PCR en temps réel, avec des amorces oligonucléotidiques spécifiques.

294. Aucune méthode standard n'a encore été définie pour les analyses faisant intervenir le séquençage à haut débit. Les méthodes communément acceptées sont FastQC pour le contrôle de la qualité, SPAdes pour l'assemblage des lectures de séquençage, MetaBAT 2 pour le binning des contigs, DADA2 pour la génération de variants de séquences d'amplicons, BLAST+ pour l'alignement des séquences et l'annotation des gènes, CheckM pour l'évaluation de la qualité de l'assemblage et du binning (Breitwieser *et al.*, 2017).

295. Les résultats de l'analyse du séquençage génomique ou du binning métagénomique de la population microbienne doivent être fournis.

296. Les paramètres qui doivent être enregistrés sont l'identification, l'abondance et les séquences de gènes.

297. Sur la base de ces mesures, on déterminera la diversité microbienne, la composition de la communauté, l'abondance et les différences fonctionnelles de différents groupes.

## 6. Poissons et détritivores démersaux

298. Il est recommandé d'appliquer au moins deux des trois principales méthodes d'échantillonnage, à savoir le chalutage de fond, les systèmes appâtés et les transects d'images. On notera que les transects vidéo et les images recueillies par robot sous-marin télécommandé, engin sous-marin autonome ou caméra lestée ne sont pas idéaux pour l'échantillonnage des poissons, qui peuvent être attirés ou effrayés, la composition et l'abondance des espèces dans les échantillons est ainsi biaisée. Pour les transects d'images, la méthode à suivre est celle décrite à la sous-section 1. En ce qui concerne les chaluts de fond, ils peuvent être tractés seuls ou derrière un traîneau vidéo. La capture donnera des spécimens de référence pour la taxonomie et le séquençage d'ADN. Les pièges et les lignes longues ont l'inconvénient de ne capturer que certaines espèces : ils ne doivent donc pas être utilisés pour les études de biodiversité. Les caméras appâtées montées sur atterrisseur permettent un échantillonnage non biaisé de la faune fréquentant les appâts dans une zone donnée. Pour les amphipodes, de petits pièges de type viron peuvent être fixés aux pieds de l'atterrisseur vidéo pour capturer des spécimens de référence (Jamieson, 2015).

299. Les systèmes de caméra présentent un inconvénient : les espèces sont souvent difficiles à distinguer sur les images. S'ils sont tout de même utilisés, il faudra procéder à au moins 10 largages répliqués de caméra appâtée dans chaque zone d'échantillonnage. L'échantillonnage au chalut de fond a lui aussi un inconvénient en ceci que les chaluts peuvent avoir un impact négatif sur les espèces et les habitats benthiques vulnérables (Duran Munoz *et al.*, 2020).

300. Les paramètres à enregistrer sont l'identification taxonomique au niveau le plus bas possible (idéalement le niveau de l'espèce), l'abondance, les séquences de gènes (si des échantillons sont collectés), la taille des individus, l'heure d'arrivée après la pose de l'appât et le nombre maximum d'individus observés pour chaque espèce (pour les atterrisseurs appâtés).

301. Sur la base de ces mesures, on déterminera la densité, les statistiques relatives à la richesse spécifique permettant de décrire la structure de la communauté (mesures de diversité univariées et multivariées) ainsi que les schémas de répartition.

## F. Variable mesurée : connectivité

302. Des études de connectivité des populations doivent être réalisées pour les espèces clefs, au moyen d'échantillons provenant de plusieurs lieux géographiques ou habitats. Pour chaque espèce, le nombre d'individus de chaque population devrait idéalement être relativement important (supérieur à 10 à 20 individus par site), de sorte que seules les espèces relativement abondantes soient évaluées et utilisées comme indicateurs de l'ensemble de l'assemblage. Toutefois, compte tenu de la densité relativement faible de certaines espèces dans la zone de Clarion-Clipperton, même un petit nombre d'individus (3 à 5 par site) devraient suffire pour des études de connectivité (Taboada *et al.*, 2018).

303. Selon le contexte, pour collecter un nombre suffisant d'individus, il pourra être nécessaire de recourir à d'autres échantillonneurs que ceux indiqués ci-dessus. Par exemple, dans les habitats benthiques, il pourrait falloir utiliser des dispositifs tels que des traîneaux épibenthiques, pour garantir la capture d'un nombre suffisant d'individus de macrofaune. Cependant, on évitera d'utiliser de tels dispositifs lorsqu'ils risqueraient d'avoir un impact négatif sur des éléments sensibles. Les échantillons destinés aux études de connectivité doivent être collectés et stockés de manière à conserver l'ADN le mieux possible, comme l'expliquent en détail Glover *et al.* (2016). Pour la conservation de grands spécimens ou de parties de grands spécimens, il convient d'utiliser de l'éthanol à 96 % (au lieu d'éthanol à 80 %).

304. Pour l'analyse, il est recommandé de suivre la méthode de la taxonomie inverse (Janssen *et al.*, 2015). Les échantillons de référence des spécimens étudiés doivent être conservés, car il faudra procéder à un examen plus détaillé des caractères morphologiques (par microscopie électronique à balayage, par exemple) pour distinguer les espèces cryptiques identifiées par des outils d'identification moléculaire.

305. Le choix des marqueurs moléculaires dépendra du taxon sélectionné. Dans certains cas, la variabilité génétique obtenue par les méthodes standard, telles que l'utilisation des marqueurs moléculaires les plus courants que sont le COI et le gène de l'ARNr 16S, par exemple, peut ne pas être suffisante pour une analyse plus approfondie. Il convient d'adopter une approche combinée en utilisant des marqueurs moléculaires communs et des marqueurs microsatellites, notamment des microsatellites hautement polymorphes (Taboada *et al.*, 2018), qui peuvent être employés pour des études à petite échelle.

306. Outre les microsatellites, pour les études de génétique des populations, il y a lieu d'explorer d'autres techniques moléculaires, notamment l'utilisation des polymorphismes à nucléotide unique générés lors d'études de génome à représentation réduite, qui peuvent facilement être appliquées à des organismes non modèles à un coût relativement faible. Ainsi, le ddRADseq peut générer de plusieurs centaines à plusieurs milliers de polymorphismes à nucléotide unique, ce qui permet non seulement de réaliser des études de génomique des populations à échelle fine, mais aussi d'étudier la phylogénomique, les stratégies d'adaptation ou l'introgession, entre autres processus à l'échelle des populations (Andrews *et al.*, 2016).

307. Il est recommandé de suivre des méthodes de modélisation reposant sur divers outils. Les flux de gènes et les schémas de migration déduits des données génétiques doivent être comparés à des facteurs environnementaux tels que les courants océanographiques. L'utilisation de modèles océanographiques pour estimer le transport des larves (voir sect. IV, sect. D) peut permettre d'expliquer certains des schémas constatés dans la différenciation des populations à grande échelle et la connectivité des espèces (Taboada *et al.*, 2018 ; Kenchington *et al.*, 2019).

308. Étant donné que de nouveaux logiciels sont sans cesse développés, on indiquera clairement dans les résultats des études menées pour la collecte des données de référence les outils qui ont été utilisés aux fins des analyses et des hypothèses sous-jacentes.

309. À partir de ces études, on déterminera la connectivité et la biogéographie pour les espèces clefs de chaque groupe fonctionnel, dont on déduira la connectivité et la biogéographie pour les assemblages plus larges.

310. Les paramètres à déterminer en particulier sont les suivants :

a) Les distances génétiques minimales, à l'aide de réseaux d'haplotypes, à partir de la p-distance non corrigée et des modèles à deux paramètres de Kimura entre et au sein des espèces pour établir les distances génétiques intra et inter-espèces ;

b) Pour la diversité génétique, les coefficients d'hétérozygotie attendus ( $H_e$ ) et observés ( $H_o$ ) et de consanguinité ( $F_{IS}$ ) doivent être calculés pour chaque espèce, station d'échantillonnage et région, à l'aide d'un package du logiciel R ou, par exemple, du programme Genodive (Meirmans et Van Tienderen, 2004) ;

c) Pour la structure de la population, une méthode parmi les suivantes doit être utilisée :

i) Une méthode de délimitation de groupes génétiquement semblables (clustering) telle que déterminée à l'aide des programmes Structure (Pritchard *et al.*, 2000) et DAPC ; ce dernier est inclus dans le package adegenet du logiciel R (Jombart *et al.*, 2010), qui permet de représenter graphiquement les affinités génétiques entre les échantillons ;

ii) Une méthode de distance, telle que l'indice de fixation ( $F_{ST}$ ), pour mesurer l'ampleur de la différenciation génétique entre les populations, en utilisant les valeurs  $F_{ST}$  par paire pour comparer les sites et les régions d'échantillonnage ; la répartition hiérarchique des variations génétiques sera déterminée par analyse de la variation moléculaire ;

d) Pour les schémas de migration, la fonction divMigrate du package diveRcity de R (Keenan *et al.*, 2013) doit être utilisée pour estimer la migration contemporaine relative entre les stations d'échantillonnage. À défaut, on pourra recourir aux programmes Lamarc (Kuhner, 2006) ou Migrate (Beerli et Palczewski, 2010) ;

e) Isolement par la distance et ruptures génétiques : un test de Mantel corrélant les distances géographiques et les estimations  $F_{ST}$  de Slatkin par paires linéarisées ( $F_{ST}/1-F_{ST}$ ) et log-transformées doit être réalisé à l'aide de différents packages R ou de programmes tels que Genodive ; en outre, l'occurrence d'éventuels obstacles à la détermination de la structure génétique des populations doit être évaluée à l'aide de programmes tels que Barrier (Manni *et al.*, 2004).

## G. Variable mesurée : fonctionnement de l'écosystème

311. Les échantillons d'endofaune (au moins 10 à 12 sites choisis au hasard) nécessaires à l'analyse de l'abondance naturelle des isotopes en vue de la détermination de la structure du réseau trophique doivent être prélevés à 0-1 cm et 1-2 cm pour la méiofaune, et à 0-1 cm, 1-5 cm et 5-10 cm pour la macrofaune. Il est recommandé de prélever des échantillons de mégafaune chaque fois que possible [au moins 10 individus par taxon (ophiures, par exemple)]. On mènera les expériences de marquage isotopique sur au moins 10 sites choisis au hasard, avec des mesures répliquées en chambre benthique sur chaque site (Sweetman *et al.*, 2019).

312. Les échantillons de méiofaune pour l'analyse des isotopes stables doivent être prélevés par mégacarottier ou carottier multitubes, dans la couche de 0,5 cm. Les sédiments doivent être stockés à l'état congelé (à -20 °C ou plus froid) sans conservateur jusqu'à l'analyse ultérieure en laboratoire. Il faut les tamiser sur un tamis de 32 µm avec de l'eau de mer froide et filtrée. La macrofaune doit être collectée au moyen d'un carottier-boîte de 0,25 m<sup>2</sup> et prélevée à 0-1 cm, 1-5 cm et 5-10 cm de profondeur de sédiment, les tranches de sédiments tamisées sur un tamis de 300 µm avec de l'eau de mer froide et filtrée. Sinon, ou en complément, les échantillons de macrofaune pourront être collectés au traîneau épibenthique.

313. Les échantillons destinés à l'analyse de la structure du réseau trophique de base de l'endofaune (le nombre de niveaux trophiques, par exemple) doivent être prélevés sur les mêmes sites que les échantillons destinés à l'analyse de la structure des communautés de méiofaune et de macrofaune, sur au moins 10 à 12 sites choisis au hasard. Dans la mesure du possible, la mégafaune (holothuries, par exemple) sera collectée par robot sous-marin télécommandé lors de transects ou par chalutage (il faudrait collecter au moins 10 individus de chaque grand taxon). Les études de marquage isotopique visant à quantifier les activités microbiennes et fauniques et les liens au sein du réseau trophique doivent être menées *in situ* à l'aide d'une chambre benthique (montée sur robot télécommandé ou atterrisseur), sur au moins 10 sites choisis au hasard, avec des mesures répliquées en chambre benthique sur chaque site (Sweetman *et al.*, 2019).

314. Les résidus de tamisage des échantillons de méiofaune et de macrofaune doivent être placés dans un sac en plastique, congelés dans de l'azote liquide et conservés à -20 °C. Ne jamais utiliser de fixatif à base d'alcool pour fixer les échantillons destinés à l'étude des isotopes stables. La mégafaune collectée par robot télécommandé ou par chalut doit être immédiatement transférée en chambre froide : jusqu'à 10 individus de chaque taxon seront stockés individuellement dans des sacs en plastique, congelés dans l'azote liquide et conservés à -20 °C.

315. De retour au laboratoire, il conviendra de trier la méiofaune et la macrofaune en prenant soin que les échantillons se réchauffent le moins possible. La faune doit être débarrassée des débris organiques qui y sont attachés en la lavant dans de l'eau de mer froide filtrée et placée dans des coupelles d'analyse isotopique pré-pesées en étain ou en argent (si calcaire). Pour la mégafaune, il faudra prélever les tissus cibles (paroi corporelle, muscle, bras d'ophiure, par exemple) en laboratoire, en prenant soin qu'ils se réchauffent le moins possible, et les placer sur une feuille d'aluminium. Tous

les échantillons doivent être mis à sécher pendant deux à trois jours à 45 °C, et les tissus broyés manuellement avec un mortier et un pilon. Les tissus de la mégafaune calcaire doivent être placés dans des coupelles d'analyse isotopique en argent. Les individus et les tissus calcaires (bras d'ophiures, par exemple) doivent ensuite être acidifiés à l'acide chlorhydrique à 10 % pour éliminer les carbonates, puis de nouveau mis à sécher à 45 °C pendant trois jours, avant d'être soumis à une nouvelle procédure d'acidification si tous les carbonates n'ont pas été éliminés. Les échantillons isotopiques doivent ensuite être préparés pour l'analyse (selon les indications données par le laboratoire qui analyse les échantillons) et envoyés pour être analysés comme décrit dans la littérature (Hardy *et al.*, 2008, Levin *et al.*, 2009, et Sweetman *et al.*, 2013, par exemple).

316. Afin de quantifier les types d'aliments dominants, des échantillons de matière organique particulière collectée dans des pièges à sédiments et des échantillons de sédiments (voir sect. V.H) seront préparés en vue d'une analyse des isotopes stables. S'ils ont été conservés dans une solution de formaldéhyde, la signature isotopique de ces échantillons devra être corrigée.

317. Les études de marquage isotopique nécessaires pour décrire les activités et les liens au sein du réseau trophique seront menées *in situ* à l'aide de chambres benthiques montées sur robots télécommandés ou sur atterrisseurs. Pour déterminer l'activité métabolique microbienne et faunistique hétérotrophe, des cultures de phytoplancton marquées au  $^{13}\text{C}$  doivent être utilisées (Sweetman *et al.*, 2019). L'activité microbienne autotrophe pourra être déterminée en utilisant du bicarbonate marqué au  $^{13}\text{C}$  comme traceur. En outre, les études de marquage réalisées à l'aide de bicarbonate ou de glucose marqués au  $^{13}\text{C}$  permettent de mieux détecter les liens au sein du réseau trophique, par exemple en identifiant la faune qui se nourrit de microorganismes (Sweetman *et al.*, 2019). Les études de marquage menées *in situ* doivent être suivies des méthodes de Stratmann *et al.* (2018) ou de Sweetman *et al.* (2019) et durer 36 à 48 heures. La métabolisation du carbone organique (issu du phytoplancton marqué au  $^{13}\text{C}$ ) en dioxyde de carbone peut être quantifiée dans ces expériences si les chambres utilisées sont équipées d'un échantillonneur à seringue. Si tel est le cas, les échantillons doivent être prélevés à heures fixes (par exemple toutes les six à huit heures) pendant l'expérience, au moyen de l'échantillonneur à seringue. Au laboratoire, les échantillons doivent être filtrés (à l'aide d'un filtre en acétate de cellulose de 0,45  $\mu\text{m}$ ) et fixés dans des exéteurs avec 5 à 0  $\mu\text{l}$  de chlorure de mercure à 6 % pour l'analyse du carbone inorganique total dissous et de la spectrométrie de masse à rapport isotopique  $^{13}\text{C}$  (Sweetman *et al.*, 2010). La hauteur d'eau dans la chambre et la surface de cette dernière doivent toujours être notées afin que l'on puisse déterminer le volume d'eau présent dans la chambre à la fin de chaque expérience. À la fin de l'expérience, si la chambre était montée sur robot télécommandé, on recueillera les microbes et la faune présents dans les sédiments à l'aide d'un carottier manuel ou d'un carottier à lame. La plupart des chambres montées sur atterrisseur prélèvent de manière automatique les sédiments exposés au substrat marqué. Une fois à bord, les sédiments sont transférés dans une chambre froide et des échantillons de microbes doivent en être prélevés aux profondeurs de 0-1 cm, 1-5 cm et 5-10 cm. Ces échantillons sont ensuite homogénéisés et congelés dans de l'azote liquide dans des bouteilles en verre (préalablement lavées au méthanol et au dichlorométhane dans un rapport 1:1 et séchées), puis transférés à -20 °C. Des échantillons distincts doivent être prélevés aux mêmes profondeurs pour établir la teneur en eau des sédiments. La méiofaune doit être échantillonnée à l'aide d'un carottier manuel (chambres montées sur robot télécommandé) ou d'un carottier à seringue (chambres benthiques sur atterrisseur) aux profondeurs de 0-1 cm et 1-2 cm, tamisée sur un tamis de 32  $\mu\text{m}$  et transférée dans une solution de formaldéhyde à 4 % et d'eau de mer tamponnée (10 % de formol). La macrofaune doit être prélevée par



carottier à lame (chambres montées sur robot télécommandé), ou dans le reste de la chambre si l'échantillon provient d'une chambre benthique montée sur atterrisseur, tamisée sur un tamis de 300  $\mu\text{m}$  et conservée dans du formol. Pour la signature isotopique de la population microbienne et de la faune ambiantes, les échantillons seront prélevés à l'aide de carottiers manuels, de carottiers-boîte ou de mégacarottiers montés sur robots télécommandés, et préparés et conservés de la même manière. Bien que la conservation au formol puisse affecter les signatures  $\delta^{13}\text{C}$  de 0,5 à 1 partie par millier, il est probable que le marquage de la faune sera nettement plus élevé (500 à 1 000 parties par millier), ce qui dispense de congeler les échantillons. De plus, la conservation des échantillons de populations ambiantes dans du formol annule l'effet conservateur du formol sur les signatures isotopiques lors du calcul du rythme de la prise alimentaire. Au laboratoire, la quantité de marqueurs absorbés dans les acides gras microbiens et la biomasse de la faune (activité métabolique/alimentation) sera déterminée selon les méthodes décrites dans Stratmann *et al.* (2018) et Sweetman *et al.* (2019).

318. Il convient de générer les données relatives à l'abondance naturelle des isotopes dans la faune ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ), les échantillons prélevés par piège à sédiments et les sédiments à l'aide d'un spectromètre de masse à rapport isotopique (que l'on trouve dans les instituts de recherche ou les laboratoires privés). Les données issues des échantillons conservés dans du formol doivent être corrigées en conséquence. On utilisera les valeurs corrigées et les valeurs relatives aux sources trophiques pour déterminer les sources basales dont se nourrit la faune échantillonnée, au moyen d'un modèle de mélange isotopique (MixSIAR, par exemple) (Harbour *et al.*, 2020), plus le nombre de niveaux trophiques présents dans le réseau trophique benthique.

319. Les paramètres qui doivent être enregistrés pour l'analyse des isotopes naturels sont les listes d'espèces, les signatures  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  et la biomasse ( $\mu\text{g}$  de carbone et d'azote), ainsi que les méthodes d'analyse, le nombre d'échantillons et les estimations d'erreur appropriées.

320. Pour les études de marquage isotopique, les paramètres à enregistrer sont les suivants : listes d'espèces, taux d'absorption du carbone par les microbes, la méiofaune et la macrofaune de diverses sources organiques et inorganiques (en  $\text{mmol C m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ), identification des principales populations de faune se nourrissant de microbes, et profondeur du mélange de matière organique et de sédiments sur de courtes périodes si des échantillons de sédiments sont collectés pour la détermination du  $^{13}\text{C}$  organique total. Il convient de fournir les moyennes, ainsi que le nombre d'échantillons et les estimations d'erreurs appropriées.

321. Il conviendra également de consigner les signatures isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) des tissus de la faune benthique, la production de carbone inorganique dissous marqué au  $^{13}\text{C}$ , les signatures  $^{13}\text{C}$  des acides gras microbiens et de la biomasse faunique, la répartition en profondeur des détritus marqués au  $^{13}\text{C}$  dans les sédiments.

322. Sur la base de ces mesures, on déterminera ce qui suit : la quantité de carbone absorbée par la biomasse des microbes et de la faune des fonds marins par unité de surface et par unité de temps (activité métabolique ou alimentaire), le nombre de niveaux du réseau trophique, les sources alimentaires dominantes consommées, la contribution de divers aliments au régime alimentaire de différents types de faune, la structure trophique de la méiofaune et de la macrofaune, les taux du cycle du carbone (microbes et faune), les taux de mélange des sédiments à court terme et les taux de respiration.

## H. Variable mesurée : écotoxicologie

323. Pour établir le risque écotoxicologique que peut présenter l'exploitation des minerais, il convient d'utiliser plusieurs sources de données (ou sources de résultats). Les sources de données peuvent être compartimentées en éléments distincts permettant de constituer des preuves d'un poids suffisant pour établir le risque toxique relatif de telle ou telle ressource et de telle ou telle opération (méthode du poids de la preuve) (Regoli *et al.*, 2019). On trouvera dans le guide pratique sur l'évaluation de la qualité des sédiments (Simpson et Batley, 2016) des renseignements complémentaires sur les mesures pertinentes, mais il faut garder à l'esprit qu'aucune d'elles n'a encore été expérimentée en haute mer.

324. Il est recommandé d'intégrer dans le poids de la preuve les données provenant des sources de résultats suivantes :

- a) Propriétés physico-chimiques des sédiments ou minéraux ;
- b) Bioanalyse écotoxicologique en laboratoire ;
- c) Bioaccumulation des métaux dans les espèces indicatrices ;
- d) Effets sublétaux ou biomarqueurs chez les espèces indicatrices.

325. Chaque source de résultats doit être analysée à l'aide des méthodes quantitatives qui conviennent le mieux ; elles devraient toutes être analysées lors de la collecte des données de référence.

326. Il est recommandé de procéder à une caractérisation minéralogique des ressources et des sédiments pour déterminer la proportion relative des espèces de métaux et de minéraux, ce afin de détecter les métaux et les mélanges de métaux qui contribueront au risque toxique global possible pour les espèces biologiques.

327. En outre, des échantillons biologiques des principales espèces dominantes de la biomasse ou du réseau trophique (provenant au minimum de trois groupes taxonomiques ; voir cependant l'analyse figurant dans ECHA 2008, partie R.10.3.2) devraient être prélevés dans les zones benthiques et pélagiques (profondeur totale de l'eau) plus de quatre fois au cours d'un cycle saisonnier de 12 mois au moins afin de déterminer les concentrations de référence des métaux et des autres contaminants organiques et les niveaux des biomarqueurs biochimiques et cellulaires parmi les principales espèces benthiques, abyssopélagiques et bathypélagiques. Les biomarqueurs sont les signaux de détresse avancés de la santé de l'écosystème (Andersen, 1997 ; Simpson et Batley, 2016 ; Mestre *et al.*, 2017).

328. Il convient d'évaluer l'activation des modes de détoxification par antioxydants au moyen d'analyses de biomarqueurs établis (résumées dans Simpson et Batley, 2016), notamment l'analyse de l'activité tissulaire de superoxyde dismutase, réalisée par détermination spectrophotométrique de la réduction du cytochrome c par le système xanthine oxydase/hypoxanthine à 550 nm (par exemple, McCord et Fridovich, 1969). Parmi les autres bioanalyses d'antioxydants pouvant être effectuées figurent la quantification de la concentration de la protéine métallothionéine par polarographie différentielle à impulsions (par exemple, Bebianno et Langstone, 1989 ; Mourgaud *et al.*, 2002), et les analyses enzymatiques des activités de catalase, de glutathion peroxydase et de glutathion S-transférase (Auguste *et al.*, 2016).

329. Ensuite, il est recommandé de déterminer l'écotoxicité relative, pour les organismes biologiques, de diverses phases (particulaires et aqueuses, par exemple) de minéraux ou de sédiments bruts, en utilisant des espèces biologiques substitutives dans des expériences de laboratoire contrôlées et normalisées. La toxicité brute d'une ressource peut être établie sans connaissance a priori de la composition minérale

précise. À l'aide de protocoles de laboratoire établis, on peut évaluer la toxicité relative des phases de la ressource brute (par rapport aux normes connues des minéraux purs censés être présents dans la ressource en question). Il convient de quantifier à l'aide de protocoles de laboratoire établis la toxicité relative des différentes phases de la ressource brute (par rapport aux normes connues des minéraux purs, par exemple  $\text{CuFeS}_2$ ). Il est recommandé de mener des expériences en phase aqueuse (par exemple la lixiviation de minéraux métallifères à partir d'une surface minérale récemment exposée) et des expériences en phase solide pour simuler l'opération minière prévue, en reproduisant la taille des fragments et particules et la durée et la température de la lixiviation (par exemple, Brown et Hauton, 2018 ; Knight *et al.*, 2018). Il convient de consulter Simpson et Batley (2016) et les protocoles standard reconnus au niveau international (par exemple, ECHA 2008 et ECHA 2016) et de les utiliser pour établir l'écotoxicité des ressources brutes.

330. Le potentiel de toxicité des panaches de rejets de sédiments issus de processus d'assèchement, pour les espèces biologiques substitutives présentes à la profondeur de rejet prévue, devrait être évalué en tenant compte du plan d'extraction, de remontée à la surface par colonne montante, d'assèchement et d'expédition communiqué par l'exploitant. Les espèces biologiques modèles peuvent comprendre des cultures de cyanobactéries (*Prochlorococcus*, *Synechococcus* ou *Cyanobium*, par exemple) dans la zone épipélagique, de zooplancton (copépodes calanoïdes ou cyclopoïdes, par exemple) ou de cnidaires (ou de types analogues de zooplancton gélatineux) (*Aurelia* ou *Nematostella*, par exemple) pour les panaches de rejet dans les zones mésopélagiques et bathypélagiques, ainsi que des poissons (*Oryzias melastigma*, par exemple) (Bo *et al.*, 2011 ; Kong *et al.*, 2008).

331. Il convient de déterminer la concentration létale ( $CL_{50}$ ) ou la toxicité de la dose létale ( $LD_{50}$ ) des éventuels panaches de rejet de sédiments issus des processus d'assèchement, pour les espèces macrofauniques supplétives adéquates, ainsi que les effets toxiques chroniques ou sublétaux de l'exposition aux phases solide ou aqueuse du minéral brut ou du panache d'assèchement, et de mesurer l'activité des biomarqueurs les plus pertinents.

## **I. Variable mesurée : mammifères marins, requins, tortues et necton de surface**

332. Pour recueillir des données sur les mammifères marins, les requins, les tortues et le necton de surface, il convient d'utiliser une combinaison de transects visuels embarqués en suivant les méthodes standard décrites dans Buckland *et al.* (2001), Barlow et Forney (2007), Verfuss *et al.* (2018) et sur le site Web du projet SCANS II. Ainsi, pendant la journée, un navire quadrille la zone de chaque station à une vitesse constante de 9 à 10 nœuds en remorquant des hydrophones pour détecter les vocalisations des mammifères marins. Les informations ainsi recueillies doivent être complétées par des données provenant de stations de surveillance acoustique passive déployées sur des mouillages océanographiques afin de suivre en continu les vocalisations des mammifères marins sur plusieurs cycles annuels complets.

333. Les paramètres à relever sont la taille du groupe, les espèces rencontrées (pour les mammifères marins, il est possible d'identifier des individus précis) et l'abondance de ces espèces. Dans la mesure du possible, des photographies doivent être prises.

## J. Variable mesurée : oiseaux marins

334. Pour se faire une idée précise de la répartition et de l'abondance des oiseaux marins et des effets des activités humaines sur eux en mer, il peut être utile d'obtenir des données provenant de plusieurs sources. Il est recommandé de surveiller l'attraction exercée par les infrastructures et les navires (qu'ils soient en transit ou stationnaires) sur les oiseaux marins ainsi que les collisions d'oiseaux marins avec les infrastructures et les navires, d'effectuer des recensements systématiques d'oiseaux marins, de compiler et d'analyser les données de suivi des oiseaux marins collectées dans le passé, y compris les données cartographiques aisément disponibles obtenues au moyen de systèmes d'information géographique, telles que les zones marines d'importance pour la conservation des oiseaux et la biodiversité et les zones clés pour la biodiversité, et d'analyser les programmes de surveillance de certains sites de nidification (pour déterminer par exemple le nombre de reproducteurs, les paramètres démographiques ou le succès de reproduction). En outre, dans la mesure du possible, il convient d'effectuer un suivi des espèces et des populations concernées.

335. L'abondance et l'attraction des oiseaux marins doivent être étudiées à partir de plateformes stationnaires ou de navires au moyen de relevés visuels, d'images ou de radars. Les relevés visuels effectués à partir de navires stationnaires doivent comprendre des comptages instantanés d'oiseaux couvrant un angle d'observation correspondant à un demi-cercle (généralement dans un rayon de 300 à 500 m) pendant 10 à 15 minutes à intervalles réguliers (20 à 60 minutes, par exemple) (Gjerdrum *et al.*, 2012 ; Bolduc et Fifield, 2017). Il est recommandé d'utiliser des radars marins pour estimer l'abondance des oiseaux marins et le risque de collision (Gauthreaux et Belser, 2003 ; Desholm et Kahlert, 2005 ; Bertram *et al.*, 2015 ; Assali *et al.*, 2017). En outre, il convient d'évaluer l'abondance et l'attraction des oiseaux de mer en recensant les individus à l'aide de transects à partir de navires ou d'avions (Camphuysen *et al.*, 2004) ; Ronconi et Burger, 2009 ; Gjerdrum *et al.*, 2012).

336. Dans la mesure du possible, des recherches devraient être systématiquement menées pour récupérer les carcasses d'oiseaux de mer tués dans une collision, afin de procéder à une analyse des contaminants dans les différents tissus et de congeler les carcasses aux fins de leur préservation dans une infrastructure permanente, de sorte qu'elles puissent être utilisées ultérieurement comme référence pour déceler de nouveaux contaminants (Gochfeld, 1973 ; Barbieri *et al.*, 2010 ; Amélineau *et al.*, 2016). L'objectif est de créer une base de référence permettant de comparer ce que contiennent les tissus des carcasses collectées pendant les opérations. L'analyse portera sur un large éventail de contaminants, en particulier ceux qui peuvent être libérés au cours des activités minières.

337. Il est recommandé de solliciter et d'utiliser des jeux de données pertinentes pour évaluer l'importance de telle ou telle zone pour les oiseaux marins (entre autres prédateurs marins). Il existe des données de suivi en mer pour de nombreux superprédateurs marins. Plusieurs initiatives mondiales visent actuellement à collationner et analyser des compilations de données sur les espèces migratrices marines afin de circonscrire les zones maritimes d'importance, notamment les zones d'importance pour les oiseaux et la biodiversité (<https://maps.birdlife.org/marineibas>) et les zones clés pour la biodiversité ([www.keybiodiversityareas.org](http://www.keybiodiversityareas.org)). Parmi ces initiatives figurent la base de données sur le suivi des oiseaux de mer ([www.seabirdtracking.org](http://www.seabirdtracking.org)), les interconnexions migratoires dans l'océan (<https://mico.eco>) et la base de données de suivi des déplacements des animaux ([www.movebank.org/cms/movebank-main](http://www.movebank.org/cms/movebank-main)).

338. Grâce aux données de suivi, il est possible de retracer l'origine des oiseaux marins présents dans une zone donnée et donc de déterminer la population d'origine

et de la surveiller. Les données de suivi permettent également d'obtenir des estimations précises de la taille de la population et des espèces qui visitent une zone donnée (certaines d'entre elles sont difficiles à identifier en mer depuis un navire ou une plateforme), du statut de nidification, de la saisonnalité, des populations qui visitent particulièrement la zone en question et même de la répartition par âge et par sexe des animaux visiteurs. Il convient d'utiliser ces données pour déterminer les colonies de nidification d'origine. Les programmes de surveillance menés dans ces colonies de nidification sont une source de données de référence supplémentaires qu'il convient d'examiner.

339. Les paramètres devraient être relevés tout au long de l'année, comme suit :

a) À partir des relevés visuels, des recensements et des comptages par relevés photographiques ou radar : abondance relative et absolue des oiseaux marins, identifiés au rang taxonomique le plus bas possible, généralement celui de l'espèce, et, chaque fois que possible, par sexe, âge, saisonnalité et plumage ; indices de diversité ; utilisation faite de la zone et de l'itinéraire au fil du temps ;

b) À partir des données de suivi : proportion estimée d'oiseaux de chaque colonie d'une zone définie et le long d'un itinéraire défini utilisant cette zone ou cet itinéraire au fil du temps, identifiés selon l'espèce, la population, la colonie de nidification, le statut de nidification, le sexe et l'âge ;

c) À partir des programmes de surveillance : taille de la population, succès de reproduction, survie des individus à différents stades (juvénile, immature et adultes), âge de recrutement, tendances de population et estimations de la viabilité de la population et du délai d'extinction ;

d) À partir des collisions et des carcasses récupérées : nombre de décès par jour au fil du temps, ventilé par espèce, sexe, maturité sexuelle, stade de mue et état corporel. Il est recommandé de prélever des tissus hépatiques, musculaires, adipeux et des plumes, et de déterminer la concentration de contaminants (liste de la Convention de Stockholm) dans ces tissus ; il convient d'analyser le contenu de l'estomac et de déterminer la quantité présente de microplastiques et de microfibres.

## K. Qualité des données

340. Pour l'échantillonnage temporel, il est recommandé de s'en tenir plus ou moins à une même zone d'un relevé à l'autre, dans la mesure du possible. La taille des échantillons servant à l'analyse temporelle doit être suffisamment grande pour pouvoir déterminer de façon fiable les paramètres utiles. Pour améliorer la comparabilité, la taille des échantillons doit rester constante d'un relevé à l'autre.

341. Les jeux de données collectées ou analysées par différents chercheurs devraient être standardisés aux fins de comparaison. Cette étape est particulièrement importante pour les enquêtes sur les séries chronologiques ou les enquêtes faisant intervenir plusieurs exploitants. Lorsque des incohérences sont constatées, un contrôle supplémentaire de la qualité est nécessaire.

342. Des comparaisons entre les relevés de la mégafaune peuvent être faites même si les méthodologies d'acquisition ne sont pas identiques. Toutefois, pour que la comparaison soit fiable, il faut disposer d'images quantifiées avec précision (à l'échelle) et d'une qualité d'image aussi homogène que possible (résolution, lumière, équilibre des couleurs, etc.). Pour toute comparaison ultérieure, il convient d'être attentif à la possibilité de biais méthodologiques entre les relevés ; par exemple, les modèles de contrôle des taxons clés doivent être évalués pour veiller à ce qu'ils soient

clairement distincts dans les différents jeux de données, en partant du principe qu'il existe un biais méthodologique, sauf preuve du contraire.

343. Pour que la qualité des images soit convenable, la lumière devrait être suffisante pour que l'ensemble de l'image du fond marin soit éclairé quasi uniformément à l'altitude cible, les paramètres de l'imageur tels que le zoom et l'exposition devraient rester inchangés tout au long du relevé et la caméra ne devrait pas être déplacée par rapport à la plateforme sur laquelle elle est montée pour un transect donné (par exemple en utilisant un système de rotation et d'inclinaison sur un robot télécommandé).

344. Toutes les images doivent être mises à l'échelle avec précision selon une méthode photogrammétrique, ce qui nécessite des données précises sur l'altitude de l'image et le tangage et le roulis. Les données altimétriques doivent être précises à  $\pm 10$  mm. Il convient d'obtenir des images de contrôle du fond marin à une échelle connue pour vérifier les calculs. Une autre méthode consiste à projeter des lasers sur le fond marin.

345. De nombreux organismes ne peuvent être identifiés au rang de l'espèce qu'en examinant des caractéristiques non visibles sur les photographies (par exemple, des caractéristiques cachées, internes ou microscopiques). Les techniques moléculaires et autres (par exemple, la génomique, la transcriptomique ou la génétique des populations) nécessitent des spécimens. Il convient donc de se procurer des échantillons précis de spécimens individuels correspondant à des images *in situ* et des images *ex situ*, et des échantillons de tissus et un échantillon pour l'analyse morphologique provenant du même individu. La meilleure façon d'obtenir ces échantillons est d'utiliser un véhicule télécommandé ou occupé par une personne. Ce protocole est particulièrement important pour les nombreux taxons – notamment les formes à corps mou (par exemple les anémones) – dont l'aspect diffère largement selon qu'ils sont vivants sur le fond marin ou en surface, après avoir été collectés.

346. Toutes les identifications devraient se faire au rang taxonomique le plus bas possible. En outre, les clés et références taxonomiques utilisées pour déterminer les désignations doivent être communiquées afin d'assurer l'équivalence entre les éléments d'identification.

347. L'identification moléculaire par codage à barre (séquençage Sanger) et du métabarcodage (variants de séquences d'amplicons) doit permettre d'obtenir une liste d'espèces ou de genres en faisant correspondre les données génétiques acquises à celles disponibles dans les bases de données de référence publiques telles que GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)). Pour ce faire, on peut utiliser le Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, outil de recherche d'alignement local de base) ou le classificateur du Ribosomal Database Project.

348. La méthode adéquate pour évaluer la biomasse est un modèle de cycle écologique des matériaux ; à cet égard, la classification par taille est plus utile que la classification par taxon.

349. Lorsqu'il faut des échantillons plus grands que ceux qui peuvent être collectés au moyen de méthodes précises, l'échantillonnage au chalut ou à la luge épibenthique peut être approprié. Il convient d'agir avec prudence, car ces techniques sont susceptibles de perturber des zones relativement importantes du plancher océanique ; leur utilisation peut nécessiter une évaluation de l'impact sur l'environnement (voir [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) et [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#)) et peut affecter d'autres activités d'échantillonnage.

350. Pour déterminer si le nombre d'individus collectés est suffisant pour caractériser les communautés, il est recommandé d'établir une courbe de collecte, également

appelée analyse de Chao, ce qui est probablement nécessaire étant donné le faible nombre d'individus et la grande diversité.

351. Pour garantir la fiabilité des statistiques, un nombre suffisant de réplicats doivent être échantillonnés. Le nombre d'échantillons répétés dépend de la densité ou de la richesse du taxon concerné et de sa variance. Afin de démontrer la fiabilité statistique, la puissance déterminée à l'issue d'une analyse de la variance reposant sur un contrôle a priori et a posteriori devrait être rapportée aux données réelles issues du référentiel. L'analyse de puissance devrait être présentée selon l'échelle d'ampleur de l'effet de Cohen (faible  $d = 0,2$ , moyen  $d = 0,5$ , fort  $d = 0,8$ ) (Cohen, 1988). Il convient de communiquer le nombre d'échantillons répétés nécessaires pour obtenir une puissance de 95 % (Ardron *et al.*, 2019).

352. Le nombre de nodules nécessaires à l'étude de l'association faunistique dépend de l'abondance de nodules dans la zone d'étude et du nombre de nodules effectivement collectés dans un carottier ou un appareil de prélèvement. Au moins 25 nodules environ devraient être collectés au hasard pour l'étude de la biodiversité benthique. Pour une meilleure couverture spatiale, il est recommandé que des échantillons d'au moins trois carottes soient prélevés par zone physiographique au cours de la génération des données de référence et de l'étude de surveillance.

353. Lorsque le procédé d'échantillonnage n'est pas équilibré, les indices de diversité doivent être raréfiés au nombre le plus faible de réplicats.

354. Le nombre d'oiseaux marins est propre à un site donné ; il ne sera pas possible d'établir l'origine, le statut de nidification, l'âge ou le sexe des oiseaux marins observés. L'identification des oiseaux marins en mer n'est pas une tâche facile et devrait être effectuée par un ornithologue qualifié au moyen d'un des guides d'identification des oiseaux marins à l'échelle mondiale (tels que Harrison, 2000 ; Howell et Zuflet, 2019). La plupart des données de suivi des oiseaux marins sont faussées ou limitées à certaines espèces (des petites, mais surtout des espèces de taille moyenne à grande), à certaines périodes du cycle annuel et à certains stades de vie (généralement les adultes reproducteurs).

## L. Gestion des données

355. Il est recommandé de générer des métadonnées pour tous les spécimens collectés, y compris sur la profondeur, la latitude et la longitude et leur substrat d'origine (par exemple, nodule, endofaune, association avec d'autres organismes). À partir des métadonnées, des catalogues d'espèces doivent être créés sur le modèle Darwin Core.

356. Il est recommandé de déposer systématiquement des spécimens témoins dans des musées ou des collections nationales afin que la communauté scientifique puisse y avoir accès. La méthode de conservation devrait être adaptée au type d'analyse (par exemple, formol ou éthanol pour l'identification morphologique, éthanol ou congélation pour l'analyse moléculaire). Certains types d'analyse (par exemple, l'écotoxicologie) ne permettent pas de conserver l'échantillon dans son intégralité ; dans ce cas, plusieurs échantillons de tissus doivent être prélevés (au moins dans les muscles, les plumes, la graisse intestinale et le foie) et conservés séparément.

357. Il est recommandé de conserver les extractions d'ADN dans les espaces de stockage cryogénique des musées. Les séquences génétiques devraient être déposées dans des référentiels gratuits tels que GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)) ou le Barcode of Life Data System ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)). Les génotypes devraient être déposés dans des référentiels gratuits tels que Dryad (<https://datadryad.org/stash>) ou Pangaea ([www.pangaea.de](http://www.pangaea.de)). Les données de RADseq devraient être déposées dans

des référentiels gratuits tels que la base de données Sequence Read Archive du National Center for Biotechnology Information ([www.ncbi.nlm.nih.gov/sra](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra)). Les données de séquençage Sanger et à haut débit doivent être archivées dans des bases de données accessibles au public avec toutes les métadonnées appropriées, en particulier les données de géoréférencement. Il convient d'utiliser le référentiel GenBank pour les données Sanger et la base Sequence Read Archive pour les données de séquençage à haut débit ; il est à noter que les données de séquençage à haut débit sont censées être chargées en mode démultiplexé, c'est-à-dire avec deux fichiers de lecture par échantillon.

358. Dans la mesure du possible, les identifications doivent être étayées par preuves photographiques, au cas où les données doivent être réexaminées.

359. Idéalement, il faudrait que les images soient conservées telles qu'elles ont été prises par l'appareil (au format de fichier brut) et telles qu'elles ont été traitées pour l'analyse (dans un autre format de fichier). Les fichiers d'images brutes et d'images traitées devraient être liés aux métadonnées du relevé par l'attribution d'un nom d'image unique, afin que les jeux de données puissent être aisément combinés.

360. Le contractant est invité à communiquer à l'Autorité les données brutes et les informations sur le lieu et la méthode de conservation des spécimens dans le cadre des rapports annuels et sous la forme de métadonnées dans la base de données de l'Autorité, DeepData.

## VIII. Bibliographie

Allen, JT, Fuda, J-L Perivoliotis, L, Munoz-Mas, C, Alou, E, Reeve, K (2018) Guidelines for the delayed mode scientific correction of glider data. WP 5, Tâche 5.7, D5.15. Version 4.1. Palma de Mallorca, Spain, SOCIB – Balearic Islands Coastal Observing and Forecasting System for JERICO-NEXT, 20pp (JERICO-NEXT-WP5-D5.15-140818-V4.1) <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-430>.

Allen, JT, Munoz, C, Gardiner, J, Reeve, KA, Alou-Font, E, Zarokanellos, N (2020) Near-Automatic Routine Field Calibration/Correction of Glider Salinity Data Using Whitespace Maximization Image Analysis of Theta/S Data. *Frontiers in Marine Science*, 7:398,14pp. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00398>.

Alve, E, Korsun, S, Schönfeld, J, Dijkstra, N, Golikova, E, Hess, S, Husum, K, Panieri, G (2016) Foram-AMBI: a sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Mar. Micropaleontol.* 122, 1-12.

Amélineau F, Bonnet D, Heitz O, Mortreux V, Harding AMA, Karnovsky N, Walkusz W, Fort J, Grémillet D (2016) Microplastic pollution in the Greenland Sea: Background levels and selective contamination of planktivorous diving seabirds. *ENVIRONNEMENT POLLUT* 219:1131-1139.

Andersen, NR (1997) An early warning system for the health of the oceans. *Oceanography* 10.1 (1997): 14-23. <https://doi.org/10.5670/oceanog.1997.39>.

Andrews KR, Good JM, Miller MR, Luikart G, Hohenlohe, PA (2016) Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17, 81-92.

Ardron JA, Simon-Lledó E, Jones DO, Ruhl HÁ (2019). Detecting the Effects of Deep-Seabed Nodule Mining: Simulations Using Megafaunal Data from the Clarion-Clipperton Zone. *Frontiers in Marine Science*, 6:604.



Assali C, Bez N, Tremblay Y (2017) Seabird distribution patterns observed with fishing vessel's radar reveal previously undescribed sub-meso-scale clusters. *Scientific Reports* 7:1423.

Auguste, M, Mestre, NC, Rocha, TL, Cardoso, C, Cuff-Gauchard, V, Le Bloa, S, Cambon-Bonavita, MA, Shillito, B, Zbinden, M, Ravaux, J, Bebianno, MJ (2016) Development of an ecotoxicological protocol for the deep-sea fauna using the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*. *Aquatic Toxicology* 175: 277-285. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.03.024>.

Barbieri E, Passos EDA, Filippini A, Dos Santos IS, Garcia CAB (2010) Assessment of trace metal concentration in feathers of seabird (*Larus dominicanus*) sampled in the Florianópolis, SC, Brazilian coast. *ENVIRON MONIT ASSESS* 169:631-638.

Barlow, J, Forney, KA (2007) Abundance and population density of cetaceans in the California Current ecosystem. *Fishery Bulletin*, 105, 509-526.

Basu, S, Jones, A, Mahzari, P (2020) Best Practices for Shale Core Handling: Transportation, Sampling and Storage for Conduction of Analyses. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(2):136. <https://doi.org/10.3390/jmse8020136>.

Becker, S., Aoyama, M., Woodward, E.M.S., Bakker, K., Coverly, S., Mahaffey, C., Tanhua, T. (2019) GO-SHIP Repeat Hydrography Nutrient Manual: The precise and accurate determination of dissolved inorganic nutrients in seawater, using Continuous Flow Analysis methods. Dans : GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1.1, 56 pages. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-555>.

Bebianno, MJ, Langston, WJ (1989) Quantification of metallothioneins in marine invertebrates using differential pulse polarography. *Portugaliae Electrochimica Acta* 7: 511-524.

Beerli, P, Palczewski, M (2010) Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics*, 185(1), 313-326.

Benoit-Bird, KJ, Moline, MA, Southall, BL (2017) Prey in oceanic sound scattering layers organize to get a little help from their friends. *Limnol. Oceanogr.* 62, 2017, 2788-2798.

Bernstein, BB, Hessler, RR, Smith, R, Jumars, PA (1978) Spatial dispersion of benthic Foraminifera in the abyssal central North Pacific, *Limnology and Oceanography* 23: 401-416.

Bertram, DF, Drever, MC, McAllister, MK, Schroeder, BK, Lindsay, DJ, Faust, DA (2015) Estimation of coast-wide population trends of Marbled Murrelets in Canada using a Bayesian hierarchical model. *PloS one*, 10(8), e0134891.

Bhadury, P, Austen, MC, Bilton, DT, Lambshead, PJD, Rogers, AD, Smerdon, GR (2006) Development and evaluation of a DNA-barcoding approach for the rapid identification of nematodes. *Marine Ecology Progress Series* 320: 1-9.

Biber, A, Korakci, A, Golick, A, Robinson, S, Hayman, G, Ablitt, J, Barrera-Figueroa, S, Buogo, S, Mauro, S, Borsani, J, Curcuruto, S, Linné, M, Sigray, P, Davidsson, P (2018) Calibration standards for hydrophones and autonomous underwater noise recorders for frequencies below 1 kHz: current activities of EMPIR « UNAC-LOW » project. *ACTA IMEKO*. 7. 32. [http://dx.doi.org/10.21014/acta\\_imeko.v7i2.542](http://dx.doi.org/10.21014/acta_imeko.v7i2.542).

Bishop, JKB, Lam, PJ, Wood, TJ (2012), Getting good particles: Accurate sampling of particles by large volume in-situ filtration, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 10, <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.681>.

- Bittig, HC, Körtzinger, A, Neill, C, van Ooijen, E, Plant, JN, Hahn, J (2018): Oxygen Optode Sensors: Principle, Characterization, Calibration, and Application in the Ocean. Dans : *Frontiers in Marine Science* 4, S. 429. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00429>.
- Bo, J, Cai, L, Xu, JH, Wang, KJ, Au, DWT (2011) The marine medaka *Oryzias melastigma* – A potential marine fish model for innate immune study. *Marine Pollution Bulletin* 63: 267-276. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.014>.
- Boetius, A, Wenzhöfer, F (2013) Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps. *Nature Geosciences* 6: 725-734, <https://doi.org/10.1038/ngeo1926>.
- Bolduc et Fifield, (2017). Seabirds at-sea surveys: The line-transect method outperforms the point-transect alternative. *The Open Ornithology Journal*, 10(1).
- Boss, E, Guidi, L, Richardson, MJ, Stemmann, L, Gardner, W, Bishop, JKB, Anderson, RF, Sherrell, RM (2015) Optical techniques for remote and in-situ characterization of particles pertinent to GEOTRACES, *Progress in Oceanography*, Volume 133, April 2015, 43-54, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2014.09.007>.
- Boxhammer, T, Taucher J, Bach LT, Achterberg EP, Algueró-Muñiz M, Bellworthy J, et al. (2018) Enhanced transfer of organic matter to higher trophic levels caused by ocean acidification and its implications for export production: A mass balance approach. *PloS ONE* 13(5): e0197502.
- Breitwieser, FP, Lu, J, Salzberg, SL (2017) A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4) 1-15. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx120>.
- Brown, A, Hauton, C (2018) Ecotoxicological responses to chalcopyrite exposure in a proxy for deep-sea hydrothermal vent shrimp: Implications for seafloor massive sulphide mining. *Chemistry and Ecology* 34: 391-396. <https://doi.org/10.1080/02757540.2018.1427231>.
- Buckland, ST, Anderson, DR, Burnham, KP, Laake, JL, Borchers, DL, Thomas, L (2001) *Introduction to distance sampling: Estimating abundance of biological populations*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Bushnell, M, Waldmann, C, Seitz, S, Buckley, E, Tamburri, M, Hermes, J, Henslop, E, Lara-Lopez, A, (2019) *Quality Assurance of Oceanographic Observations: Standards and Guidance Adopted by an International Partnership*. *Front Mar. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00706>.
- Camphuysen CJ, Fox AD, Leopold MF, Petersen IK (2004) Towards standardized seabirds at-sea census techniques in connection with environmental impact assessments for offshore wind farms in the U.K: A comparison of ship and aerial sampling methods for marine birds and their applicability to offshore wind farm assessments. *Texel 2004* ; p. 37.
- Carey WM, Evans RB (2011) *Ocean Ambient Noise: Measurement and Theory*. The Underwater Acoustics Series. Springer New York 266 p.
- Christodoulou M, O'hara T, Hugall AF, Khodami S, Rodrigues CF, Hilario A, Vink A, Martinez Arbizu P (2020). Unexpected high abyssal ophiuroid diversity in polymetallic nodule fields of the northeast Pacific Ocean and implications for conservation. *Biogeosciences* 17, 1845-1876. <https://doi.org/10.5194/bg-17-1845-2020>.
- Cohen J (1988), *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2<sup>nd</sup> ed.), New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.

Cook, AB, Sutton TT, Galbraith JK, Vecchione, M (2013) Deep-pelagic (0-3000m) fish assemblage structure over the Mid-Atlantic Ridge in the area of the Charlie-Gibbs Fracture Zone. *Deep Sea Research Part II*, 98B: 279-291, <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.09.003>.

Coppola, L, Ntoumas, M, Bozzano, R, Bensi, M, Hartman, SE, Charcos Llorens, Mi, Craig, J, Rolin, J-F, Giovanetti, G, Cano, D, Karstensen, J, Cianca, A, Toma, D, Stasch, C, Pensieri, S, Cardin, V, Tengberg, A, Petihakis, G, Cristini, L (2016) Handbook of best practices for open ocean fixed observatories. Commission européenne, projet FixO3, 127 p (Commission européenne, FixO3, programme FP7 2007-2013 sous la convention de subvention n° 312463). <http://hdl.handle.net/11329/302>.

Cox, MJ, Letessier TB, Brierley AS (2013) Zooplankton and micronekton biovolume at the Mid-Atlantic Ridge and Charlie-Gibbs Fracture Zone estimated by multi-frequency acoustic survey, *Deep Sea Research Part II*, 98B: 269-278, <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2013.07.020>.

Danovaro R, Fanelli E, Aguzzi J, Billett D, Carugati L, Corinaldesi C, Dell'Anno A, Gjerde K, Jamieson AJ, Kark S, McClain C, Levin L, Levin N, Ramirez-Llodra E, Ruhl E, Smith CR, Snelgrove PVR, Thomsen L, Van Dover CL and Yasuhara M (2020) Ecological variables for developing a global deep-ocean monitoring and conservation strategy. *Nature Ecology & Evolution* 4, 181-192.

Data Buoy Cooperation Panel (2011) Sea surface salinity quality control processes for potential use on data buoy observations. Version 1.3, Genève, Suisse, Commission océanographique intergouvernementale/Organisation météorologique mondiale, 17 p. (DBCP Document technique 42). <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-415>.

Davies AJ, Duineveld GCA, Lavaleye MSS, Bergman MJN, van Haren H, Roberts JM (2009). Downwelling and deep-water bottom currents as food supply mechanisms to the cold-water coral *Lophelia pertusa* (Scleractinia) at the Mingulay Reef complex. *Limnology and Oceanography* 54:620-629.

Desholm, M, Kahlert, J (2005). Avian collision risk at an offshore wind farm. *Biology letters*, 1(3), 296-298.

Dickson, AG, Sabine, CL, Christian, JR (eds) (2007) Guide to best practices for ocean CO2 measurement. Sidney, Colombie-Britannique Organisation pour les sciences marines dans le Pacifique Nord, 191p. (Publication spéciale PICES 3 ; Rapport 8 de l'IOCCP).

Duran Munoz P, Sacau M, Garcia-Alegre A, Roman E (2020) Cold-water corals and deep-sea sponges by-catch mitigation: Dealing with groundfish survey data in the management of the northwest Atlantic Ocean high seas fisheries, *Marine Policy* 116. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.103712>.

ECHA (2008) Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapitre R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. 65p. [https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information\\_requirements\\_r10\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf).

ECHA (2016) Guidance on information requirements and Chemical Safety Assessment Chapitre R.16: Environmental exposure assessment. 178p. [http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information\\_requirements\\_r16\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r16_en.pdf).

EGO Gliders Data Management Team (2020) EGO gliders NetCDF format reference manual NetCDF conventions Reference tables and files distribution Version 1.3. IFREMER, 67p. <https://doi.org/10.13155/34980>.

- Erickson, ZK, Frankenberg, C, Thompson, DR, Thompson, AF, Gierach, M (2019). Remote sensing of chlorophyll fluorescence in the ocean using imaging spectrometry: Towards a vertical profile of fluorescence. *Geophysical Research Letters*. <https://doi.org/10.1029/2018GL081273>.
- EuroGOOS DATA-MEQ (2010), groupe de travail Recommendations for in-situ data Near Real Time Quality Control [Version 1.2]. EuroGOOS, 23 p.
- European Commission (2011) EUR 24872 – Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting. Riebesell U, Fabry VJ, Hansson L, Gattuso J-P (eds.), Office des publications de l'Union européenne, Luxembourg, 260 p., doi:10.2777/66906.
- Firing, E, Hummon, JM (2010) Shipboard ADCP measurements – The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Rapport n° 1 de l'IOCCP, ICPO Publications Series No. 134, Version 1.
- Garcia, R, Rigaud V, Huvenne, V, Morris K, Marsh, L, Köser, K, Greinert, J, Jones, D (2015) 3.1.2 Optical seafloor monitoring including image analysis techniques. MIDAS D10.1: Compilation of existing deep-sea ecosystem monitoring technologies in European research and industry: Assessment of applicability and identification of gaps, p. 45-51.
- Gauthreaux, SA(Jr), Belser, CG (2003). Radar ornithology and biological conservation. *The Auk* 120: 266-277.
- Geibert, W, Stimac, I, Rutgers van der Loeff, MM, Kuhn, G (2019) Dating Deep-Sea Sediments With 230Th Excess Using a Constant Rate of Supply Model. *Paleoceanography and Paleoclimatology*, 34. 1895-1912. <https://doi.org/10.1029/2019PA003663>.
- GEOTRACES Cookbook: Sampling and Sample-handling Protocols for GEOTRACES Cruises (Cookbook, version 3.0, 2017), <https://www.geotraces.org/methods-cookbook/>.
- Giering, SLC, Cavan, EL, Basedow, SL, Briggs, N, Burd, AB, Darroch, LJ, Guidi, L, Irisson, J.-O, Iversen, MH, Kiko, R, Lindsay, D, Marcolin, CR, McDonnell, AMP, Möller, KO, Passow, U, Thomalla, S, Trull, TW, Waite, AM (2020) Sinking Organic Particles in the Ocean-Flux Estimates From in situ Optical Devices. *Front Mar. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00834>.
- Gieskes, J, Gamo, T, Brumsack, H (1991) Chemical methods for interstitial water analysis aboard JOIDES Resolution. ODP Tech Note, 15. Doi:10.2973/odp.tn.15.1991.
- Gjerdrum, C, Fifield, DA, Wilhelm, SI (2012) Eastern Canada Seabirds at Sea (ECSAS) standardized protocol for pelagic seabird surveys from moving and stationary platforms. Canadian Wildlife Service Technical Report Series No. 515. Atlantic Region. Vi + 37 p.
- Glover, AG, Dahlgren, TG, Wiklund, H, Mohrbeck, I, Smith, CR (2016) An end-to-end DNA taxonomy methodology for benthic biodiversity survey in the Clarion-Clipperton Zone, central Pacific abyss. *Journal of Marine Science and Engineering*, 4(1), 2.
- Gochfeld M (1973) Effect of artefact pollution on the viability of seabird colonies on Long Island, New York. *Environmental Pollution* (1970) 4:1-6.
- Goineau, A, Gooday, AJ (2017) Novel benthic foraminifera are abundant and diverse in an area of the abyssal equatorial Pacific licensed for polymetallic nodule exploration. *Sci Rep* 7: 45288 <https://doi.org/10.1038/srep45288>.

Goineau, A, Gooday, AJ, (2019) Diversity and spatial patterns of foraminiferal assemblages in the eastern Clarion-Clipperton zone (abyssal eastern equatorial Pacific). *Deep-Sea Research I*: <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.04.014>.

Gomes-Pereira, JN, Auger, V, Beisiegel, K, Benjamin, R, Bergmann, M, Bowden, D, Buhl-Mortensen, P, De Leo, FC, Dionísio, G, Durden, JM, Edwards, L, Friedman, A, Greinert, J, Jacobsen-Stout, N, Lerner, S, Leslie, M, Nattkemper, TW, Sameoto, JA, Schoening, T, Schouten, R, Seager, J, Singh, H, Soubigou, O, Tojeira, I, van den Beld, I, Dias, F, Tempera, F, Santos, RS (2016) Current and future trends in marine image annotation software. *Progress in Oceanography* 149, 106-120.

Gooday, AJ, Goineau, A (2019) The contribution of fine sieve fractions (63-150 µm) to foraminiferal abundance and diversity in an area of the eastern Pacific Ocean licensed for polymetallic nodule exploration. *Frontiers in Marine Science* 6, <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00114>.

Gooday AJ, Holzmann, M, Caille, C, Goineau, A, Kamenskaya, OE, Weber, AA.-T, Pawlowski, J (2017) Giant foraminifera (xenophyophores) are exceptionally diverse in parts of the abyssal eastern Pacific where seabed mining is likely to occur. *Biological Conservation* 207, 106-116.

Gooday, AJ, Schoenle, A, Dolan, JR, Arndt, H (2020a) Protist diversity and function in the dark ocean – challenging the paradigms of deep-sea ecology with special emphasis on foraminiferans and naked protists. *European Journal of Protistology*, 75, 125721.

Gooday, AJ, Durden, JM, Smith, CR (2020b) Giant, highly diverse protists in the abyssal Pacific: vulnerability to impacts from seabed mining and potential for recovery, *Communicative & Integrative Biology*, 13:1, 189-197 <http://doi.org/10.1080/19420889.2020.1843818>.

Grasshoff, K, Kremling, K, Ehrhardt, M (eds) (1999) *Methods of seawater analysis*, 3rd edition. Wiley-VCH, Weinheim, New York.

Haffert, L, Haekel, M, Liebetrau, V, Berndt, C, Hensen, C, Nuzzo, M, Reitz, A, Scholz, F, Schönfeld, J, Perez-Garcia, C, Weise, SM (2013) Fluid evolution and authigenic mineral paragenesis related to salt diapirism – The Mercator mud volcano in the Gulf of Cadiz, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 106: 261-286, doi: 10.1016/j.gca.2012.12.016.

Harbour RP, Leitner AB, Ruehleman C, Vink A. and Sweetman AK, 2020. Benthic and Demersal Scavenger Biodiversity in the Eastern End of the Clarion-Clipperton Zone – An Area Marked for Polymetallic Nodule Mining. *Front. Mar. Sci.* 7:458. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00458>.

Hardy et al., 2008.

Heger A, Ieno EN, King NJ, Morris K. J, Bagley PM, Priede IG, (2008) Deep-sea pelagic bioluminescence over the Mid-Atlantic Ridge. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 55: 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.09.014>.

Henson SA, Sarmiento JL, Dunne JP, Bopp L, Lima I, Doney SC, John J, Beaulieu C (2010) Detection of anthropogenic climate change in satellite records of ocean chlorophyll and productivity. *Biogeosciences* 7 (2), 621-640.

Hessler and Jumars (1974) Abyssal community analysis from replicate box cores in the central North Pacific. *Deep-Sea Research* 21, 185-209.

Hofmann AF, Soetaert K, Middelburg JJ, Meysman FJR (2010) AquaEnv: An aquatic acid-base modelling environment in R. *Aquatic Geochemistry* 16, 507-546.

Howell KL, Davies JS, Allcock AL, Braga- Henriques A, Buhl-Mortensen P, Carreiro-Silva M, et al. (2019) A framework for the development of a global standardised marine taxon reference image database (SmarTaR-ID) to support image-based analyses. *PloS ONE* 14(12): e0218904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218904>.

Huffard, CL, Durkin, CA, Wilson, SE, McGill, PR, Henthorn, R, Smith, KL, (2020) Temporally-resolved mechanisms of deep-ocean particle flux and impact on the seafloor carbon cycle in the northeast Pacific. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 173, 104763. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2020.104763>.

ICES Data and Information Group (DIG) (2006) ICES Guidelines for CTD data. (Compilé en mars 2000 ; révisé en août 2001 ; juin 2006) Copenhagen, Danemark, Conseil international pour l'exploration de la mer (CIEM), 9 p. <http://hdl.handle.net/11329/244>.

Intergovernmental Oceanographic Commission (IOC) (1992) Guide to satellite remote sensing of the marine environment. Paris, France, UNESCO, 178 p (Manuels et guides de la Commission océanographique intergouvernementale ; 24). <http://hdl.handle.net/11329/98>.

ISA Technical Study No. 7 (Étude technique de l'Autorité internationale des fonds marins n°7) : Marine Benthic Nematode Molecular Protocol Handbook (Nematode Barcoding).

ISA Technical Study No. 13 (Étude technique de l'Autorité internationale des fonds marins n°13) : Deep Sea Macrofauna of the Clarion-Clipperton Zone.

Ishii, M, Kosugi, N (2020) Determination of total alkalinity in sea water by spectrophotometry, in: Otosaka, S, Ueki, I, Sasano, D, Kumamoto, Y, Obata, H, Fukuda, H, Nishibe, Y, Maki, H, Goto, K, Aoyama, M, Ono, T (Eds.), *Guideline of Ocean Observation 4th Edition*. The Oceanographic Society of Japan, Tokyo, Japan, p. G305EN001-G305EN012.

Jaijel, R, Tchernov, BN, Biton, E, Weinstein, Y, Katz, T (2021). Optimizing a standard preparation procedure for grain size analysis of marine sediments by laser diffraction (MS-PT4SD: Marine sediments-pretreatment for size distribution). *Deep-Sea Research I*, 167, 103429. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2020.103429>.

Jamieson, AJ (2015) *The hadal zone: Life in the deepest Oceans*. Cambridge University Press.

Janssen, A, Kaiser, S, Meissner, K, Brenke, N, Menot, L, Arbizu, PM (2015) A reverse taxonomic approach to assess macrofaunal distribution patterns in abyssal Pacific polymetallic nodule fields. *Plos one*, 10(2).

Jombart, T, Devillard, S, Balloux, F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, 94.

Joseph, A (2014) Eulerian-Style Measurements Incorporating Mechanical Sensors. *Measuring Ocean Currents*, 241-265. Doi:10.1016/b978-0-12-415990-7.00008-9.

Jumars, PA (1981) Limits in predicting and detecting benthic community responses nodule mining. *Marine Mining*, 3: 213- 229.

Jombart, T, Devillard, S, Balloux, F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, 94.

Karstensen, J (2005) How to process mooring data? A cookbook for MicroCat, ADCP and RCM data. Kiel, Germany, IFM-GEOMAR, Universitat Kiel, 44 p. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.2514.7044>.

Klaas C, Archer DE (2002) Association of sinking organic matter with various types of mineral ballast in the deep sea: Implications for the rain ratio. *Global Biogeochem. Cycles*. 16(4), 1116, <https://doi.org/10.1029/2001GB001765>.

Klevjer, TA, Irigoien, X, Røstad, A, Fraile-Nuez, E, Benítez-Barrios, VM, Kaartvedt, S (2016) Large scale patterns in vertical distribution and behaviour of mesopelagic scattering layers. *Sci. Rep.* 6, 19873, <https://doi.org/10.1038/srep19873>.

Knap, A, Michaels, A, Close, A, Ducklow, H, Dickson, A (eds.) (1996) Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements. JGOFS Report Nr. 19, vi+170 p. Reprint of the IOC Manuals and Guides No. 29, UNESCO 1994.

Knight, RD, Roberts, S, Cooper, MJ (2018) Investigating monomineralic and polymineralic reactions during the oxidation of sulphide minerals in seawater: Implications for mining seafloor massive sulphide deposits. *Applied Geochemistry* 90: 63-74.

Kong, RYC, Giesy, JP, Wu, RSS, Chen, EXH, Chiang, MWL, Lim, PL, Yuen, BBH, Yip, BWP, Mok, HOL, Au, DWT (2008) Development of a marine fish model for studying in vivo molecular responses in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology* 86: 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.10.011>.

Kossel, E, Bigalke, N, Pinero, E, Haeckel, M (2013) The SUGAR Toolbox: a library of numerical algorithms and data for modelling of gas hydrate systems and marine environments. GEOMAR Report 8, GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research Kiel, 160 p, <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.846280>.

Kuhn, G (2013) Don't forget the salty soup: Calculations for bulk marine geochemistry and radionuclide geochronology. Goldschmidt 2013 Florence, Italy, 25 August 2013-30 August 2013. Doi:10.1180/minmag.2013.077.5.11.

Kuhner, MK (2006) lamarc 2.0: Maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*, 22, 768-770.

Labrenz, M, Brettar, I, Christen, R, Flavier, S, Botel, J, Holfe, MG (2004) Development and application of a real-time PCR approach for quantification of uncultured bacteria in the central Baltic Sea. *Appl Environ Microbiol*, 70(8), 4971-4979. <https://doi.org/10.1128/aem.70.8.4971-4979.2004>.

Lam, PJ, Lee, JM, Heller, MI, Mehic, S, Xiang, Y, Bates, NR (2018). Size-fractionated distributions of suspended particle concentration and major phase composition from the U.S. GEOTRACES eastern Pacific zonal transect (GP16). *Marine Chemistry*, 201, 90-107. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2017.08.013>.

Lamarche, G, Lurton, X (2018) Recommendations for improved and coherent acquisition and processing of backscatter data from seafloor-mapping sonars *Mar. Geophys. Res.* 39:5-22. <https://doi.org/10.1007/s11001-017-9315-6>.

Langdon, C (2010) Determination of Dissolved Oxygen in Seawater By Winkler Titration using Amperometric Technique. Dans : *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1*, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, et B.M. Sloyan). 18p. (Rapport de l'IOCCP numéro 14 ; ICPO Publication Series Number 134). Disponible en ligne à l'adresse suivante : <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.

- Langenkämper, D, Zurowietz, M, Schoening, T, Nattkemper, TW (2017) BIIGLE 2.0 –Browsing and Annotating Large Marine Image Collections. *Frontiers in Marine Science*, 4 (83).
- Lao, Y, Anderson RF, Broecker, WS, Trumbore, SE, Hofmann, HJ, Wolfli, W (1992) Transport and Burial Rates of Be-10 and Pa-231 in the Pacific-Ocean During the Holocene Period. *Earth and Planetary Science Letters* 113, 173-189. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(92\)90218-K](https://doi.org/10.1016/0012-821X(92)90218-K).
- Le Menn, M, Poli, P, David, A, Sagot, J, Lucas, M, O'Carroll, A, Belbeoch, M. and Herklotz, K (2019) Development of Surface Drifting Buoys for Fiducial Reference Measurements of Sea-Surface Temperature. *Frontiers in Marine Science*, 6:578 12p. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00578>.
- Levin, LA, Mendoza, GF, Konotchick, T, Lee, R (2009) Community structure and trophic relationships in Pacific hydrothermal sediments. *Deep-Sea Res II* 56: 1632-1648.
- Longhurst, A (1998) *Ecological Geography of the Sea*. Academic Press, New York.
- Luff, R, Haeckel, M, Wallmann, K (2001) Robust and fast FORTRAN and MATLAB libraries to calculate pH distributions in a non-steady state model for aqueous systems. *Computers & Geosciences* 27, 157-169.
- Lumpkin, R, Özgökmen, T, Centurioni, L (2017) Advances in the Application of Surface Drifters. *Annual Review of Marine Science*, 9(1), 59-81. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060641>.
- Macheriotou L, Rigaux A, Derycke S, Vanreusel A (2020) Phylogenetic clustering and rarity imply risk of local species extinction in prospective deep-sea mining areas of the Clarion-Clipperton Fracture Zone. *Proc. R. Soc. B* 287 <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.2666>.
- Manni, F, Guerard, E, Heyer, E (2004) Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76, 173-190.
- Marsaglia, K, Milliken, K, Doran, L (2013) IODP digital reference for smear slide analysis of marine mud. Part 1: Methodology and atlas of siliciclastic and volcanogenic components. IODP Note technique 1. <http://iodp.tamu.edu/publications/TN/TN1-SS-Pt1-Atlas-inter.pdf>.
- Marsaglia, K, Milliken, K, Leckie, R, M, Tentori, D, Doran, L (2015) IODP Smear Slide Digital Reference for Sediment Analysis of Marine Mud. Part 2: Methodology and Atlas of Biogenic Components. IODP Note technique 2. [http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote\\_2.pdf](http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote_2.pdf).
- Marsaglia, K, Shapiro, S, Doran, L, Tentori, D (2015) ODP Core Photo Atlas. IODP Note technique 3. [http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote\\_3.pdf](http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote_3.pdf).
- Mazzullo, J, Graham, AG (Eds.), 1988. *Handbook for shipboard sedimentologists*. IODP Note technique 8. Doi:10.2973/odp.tn.8.1988.
- McCord, JM, Fridovich, I (1969) Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *Journal of Biological Chemistry* 244: 60499-6055.
- McDonnell, AMP, Lam, PJ, Lamborg, CH, Buesseler, KO, Sanders, R, Riley, JS, Marsay, C, Smith, HEK, Sargent, EC, Lampitt, RS, Bishop, JKB (2015) The oceanographic toolbox for the collection of sinking and suspended marine particles. *Prog. Oceanogr.* 133: 17-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocan.2015.01.007>.



McIntyre, AD, Warwick, RM, (1984) Meiofaunal techniques, In: Holme, NA, McIntyre, AD (Eds.), *Methods for the Study of the Marine Benthos*, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 217-244 (IBP Handbook, No. 16).

McQuaid KA, Attrill MJ, Clark MR, Cobley A, Glover AG, Smith CR, Howell KL (2020) Using habitat classification to assess representativity of a protected area network in a large, data-poor area targeted for deep-sea mining. *Frontiers in Marine Science*, 7: 1066 <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.558860>.

McTaggart, KE, Johnson, GC, Delahoyde, MCFH, Swift, JH (2010) Notes on CTC/O2 Data Acquisition and Processing Using Sea-Bird Hardware and Software (As Available). Dans : *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1*, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, et B.M. Sloyan). 10 p. (Rapport de l'IOCCP numéro 14 ; ICPO Publication Series Number 134). Disponible en ligne à l'adresse suivante : <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.

Meckler, AN, Schubert, CJ, Cowie, GL, Peiffer, S, Dittrich, M (2004) New organic matter degradation proxies: Valid in lake systems? *Limnology and Oceanography* 49(6): 0024-3590, <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.6.2023>.

Meirmans PG, Van Tienderen PH (2004) GENOTYPE and GENODIVE: Two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4, 792-794.

Mestre, NC, Rocha, TL, Canals, M, Cardoso, C, Danovaro, R, Dell'Anno, A, Gambi, C, Regoli, F, Sanchez-Vidal, A, Bebianno, MJ (2017) Environmental hazard assessment of a marine mine tailings deposit site and potential implications for deep-sea mining. *Environ. Pollut.* 228, 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.027>.

Mewes, K, Mogollón, J. M, Picard, A, Rühlemann, C, Kuhn, T, Nöthen, K, Kasten, S (2014) Impact of depositional and biogeochemical processes on small scale variations in nodule abundance in the Clarion-Clipperton Fracture Zone, Deep Sea Research Part I 91: 125-141, <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2014.06.001>.

Millero, FJ (2013). *Chemical Oceanography*, 4th Edn. Boca Raton, FL: CRC Press, 552.

Moore C, Barnard, A, Fietzek, P, Lewis, M, Sosik, H, White, S, Zielinski, O (2009) Optical tools for ocean monitoring and research. *Ocean Science*. 661-684. <https://doi.org/10.5194/os-5-661-2009>.

Mourgaud, Y, Martinez, E, Geffard, A, Andral, B, Stanisiere, JY, Amiard, JC (2002) Metallothionein concentration in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of response to metal contamination: validation in the field. *Biomarkers*. 7(6):479-490. <https://doi.org/10.1080/1354750021000034528>.

Nöthen, K, Kasten, S (2011). Reconstructing changes in seep activity by means of pore water and solid phase Sr/Ca and Mg/Ca ratios in pockmark sediments of the Northern Congo Fan. *Mar. Geol.* 287, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2011.06.008>.

National Measurement Office, Marine Scotland, The Crown Estate, Robinson SP, Lepper PA, Hazelwood RA (2014) NPL Good Practice Guide No. 133: Good Practice Guide for Underwater Noise Measurement, ISSN: 1368-6550, 2014.

Numerical Models of Oceans and Oceanic Processes (2000) Edited by Lakshmi H. Kantha, Carol Anne Clayson. Volume 66, Pages 1-940.

Ocean Best Practices System (2020) Best Practices document template: data management. Version 6. Oostende, Belgium, International Oceanographic Data and

- Information Exchange (IODE) for Ocean Best Practices System, 12 p. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-760>.
- Ogashawara, I (2015) Terminology and classification of bio-optical algorithms. *Remote Sensing Letters* 6, 613-617.
- Organisation hydrographique internationale (2019) B-6, Normalisation des noms des formes du relief sous-marin, Directives, Formulaire de proposition, Terminologie, Ed.4.2 43 p. [https://iho.int/uploads/user/pubs/bathy/B-6\\_e4%20%200\\_2019\\_EF\\_clean\\_3Oct2019.pdf](https://iho.int/uploads/user/pubs/bathy/B-6_e4%20%200_2019_EF_clean_3Oct2019.pdf).
- Organisation hydrographique internationale (2020) S-44, Normes pour les levés hydrographiques, édition 6.0.0. 46p. [https://iho.int/uploads/user/pubs/standards/s-44/S-44\\_Edition\\_6.0.0\\_FR.pdf](https://iho.int/uploads/user/pubs/standards/s-44/S-44_Edition_6.0.0_FR.pdf).
- Orr, JC, Epitalon, JM, Dickson, AG, Gattuso, JP (2018) Routine uncertainty propagation for the marine carbon dioxide system. *Mar. Chem.* 207, 84-107.
- Paul, SAL, Gaye, B, Haeckel, M, Kasten, S, Koschinsky, A (2018) Biogeochemical Regeneration of a Nodule Mining Disturbance Site: Trace Metals, DOC and Amino Acids in Deep-Sea Sediments and Pore Waters. *Front. Mar. Sci.* 5, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00117>.
- Petihakis, G, Haller, M, Petersen, W, Nair, R, Seppälä, J. and Salvetat, F (2014) JERICO Report on Calibration Best Practices: D4.2 (Version 1.3-27/06/14). Issy-les-Moulineaux, France, Ifremer pour le projet JERICO, 61 p. <https://doi.org/10.13155/49740>.
- Pham, M, Sanchez-Cabeza, J, Povinec, P, Andor, K, Arnold, D, Benmansour, M, et al, International Atomic Energy Agency, (2008) A new certified reference material for radionuclides in Irish Sea sediment (IAEA-385). *Applied Radiation and Isotopes*, 66(11), 1711-1717. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2007.10.020>.
- Pham, MK, Betti, M, Povinec, PP., et al. (2011) A certified reference material for radionuclides in the water sample from Irish Sea (IAEA-443), *J Radioanal Nucl Chem* 288, 603-611, <https://doi.org/10.1007/s10967-010-0976-8>.
- Planquette, Hélène, Sherrell, Robert M., (2012), Sampling for particulate trace element determination using water sampling bottles: methodology and comparison to in situ pumps, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 10, <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.367>.
- Pritchard, JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 954-959.
- Proud, R, Cox, MJ, Brierley AS (2017) Biogeography of the Global Ocean's Mesopelagic Zone. *Current Biology* 27, 113-119 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.11.003>.
- Przeslawski, R, Berents, P, Clark, M, Edgar, G, Frid, C, Hughes, L, Ingleton, T, Kennedy, D, Nichol, S, Smith, J, (2018) Marine Sampling Field Manual for Grabs and Box Corers [Version 1]. In: *Field Manuals for Marine Sampling to Monitor Australian Waters, Version 1* (eds Przeslawski, R. and Foster, S.). Canberra, Australia, NESP Marine Biodiversity Hub, pp. 172-195.
- Pusceddu, A, Dell'Anno, A, Fabiano, M, Danovaro, R (2009) Quantity and bioavailability of sediment organic matter as signatures of benthic trophic status. *Mar Ecol Prog Ser* 375:41-52, <https://doi.org/10.3354/meps07735>.
- Regoli, F, d'Errico, G, Nardi, A, Mezzelani, M, Fattorini, D, Benedetti, M, Di Carlo, M, Pellegrinni, D, Gorbi, S (2019) Application of a Weight of Evidence Approach for

monitoring complex environmental scenarios: the case-study of off-shore platforms. *Frontiers Marine Science* <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00377>.

Revsbech, NP, Jørgensen, BB (1986) Microelectrodes and their use in microbial ecology, in: Marshall KC (Ed.), *Advances in Microbial Ecology*. Plenum Press, New York, pp. 293-352.

Robinson IS. *Measuring the Oceans from Space. The principles and methods of satellite oceanography* (2004) ISBN 978-3-540-42647-9.

Robinson, SP, Lepper, PA, Hazelwood, RA (2014) *Good Practice Guide for Underwater Noise Measurement*. Teddington, England, National Measurement Office, Marine Scotland, The Crown Estate, 95 p (NPL Good Practice Guide No. 133).

Ronconi, RA, Burger, AE (2009) Estimating seabird densities from vessel transects: distance sampling and implications for strip transects. *Aquatic Biology*, 4(3), 297-309.

Rothwell, RG, Rack, FR (2006) New techniques in sediment core analysis: an introduction. Dans : Rothwell, RG, (ed.) *New techniques in sediment core analysis*. London, UK, Geological Society of London, 1-29, 266 p (Geological Society Special Publication, 267). <https://doi.org/10.1144/GSLSP.2006.267.01.01>.

Schoening, T, Osterloff, J, Nattkemper, TW, 2016. RecoMIA – Recommendations for Marine Image Annotation: Lessons Learned and Future Directions. *Frontiers in Marine Science* 3 (59).

Schönfeld, J, Alve, E, Geslin, E, Jorissen, FJ, Korsun, S, Spezzaferri, S, Members of the FOBIMO group (2012) The FOBIMO (Foraminiferal Bio-Monitoring) initiative – Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology* 94-95, 1-13.

Sgih, HH, Sprenke, J, Payton, C. et Mero, T (2001) *Towing Basin Speed Verification of Acoustic Doppler Current Profiling Instruments*. Silver Spring, MD, NOAA NOS Center for Operational Oceanographic Products and Services, 53p (NOAA Technical Report NOS CO-OPS 033). DOI: <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-139>.

Simon-Lledo E, Bett BJ, Huvenne VAI, Schoening T, Benoist NMA, Jeffreys RM, Durden JM, Jones DOB (2019). Megafaunal variation in the abyssal landscape of the Clarion-Clipperton Zone. *Progress in Oceanography*, 170, 119-133. <https://doi.org/10.1016/j.poccean.2018.11.003>.

Simpson, S, Batley, G (eds) (2016) *Sediment quality assessment: a practical guide*. Second edition. Clayton, Australia, CSIRO Publishing, 346 p. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-498>.

Stewart, RH (1985) *Methods of Satellite Oceanography*. 360 p. Berkeley, Los Angeles, Londres : University of California Press. ISBN 0-520-04226-3. <https://doi.org/10.1017/S0016756800026674>.

Stratmann, T, Mevenkamp, L, Sweetman, AK, Vanreusel, A, Van Oevelen, D (2018) Has phytodetritus processing by an abyssal soft-sediment community recovered 26 years after an experimental disturbance? *Frontiers in Marine Science*, 5, 59, 2018.

Sutton, TT, Clark MR, Dunn DC, Halpin PN, Rogers AD, Guinotte J, Bograd SJ, Angel MV, Perez JAA, Wishner K, Haedrich RL, Lindsay DJ, Drazen JC, Vereshchakam A, Piatkowski U, Morato T, Błachowiak-Samołyk K, Robison BH, Gjerder KM, Pierrot-Bults A, Bernalt P, Reygondeau G, Heino M (2017) A global biogeographic classification of the mesopelagic zone: An aid for marine conservation planning. *Deep-Sea Research I*. 126: 85-102 <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.05.006>.

Sweetman, AK, Middelburg, JJ, Berle, AM, Bernadino, AF, Schander, C, Demopoulos, AWJ, Smith CR (2010) Impacts of exotic mangrove forests and mangrove deforestation on carbon remineralization and ecosystem functioning in marine sediments. *Biogeosciences*, 7, 2129-2145.

Sweetman AK, Levin, LA, Rapp, HT, Schander, C (2013) Faunal trophic structure at hydrothermal vents on the southern Mohn's Ridge, Arctic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 473, 115-131.

Sweetman, AK, Smith, CR, Shulse, CN, Maillot, B, Lindh, M, Church, MJ, Meyer, KS, Van Oevelen, D, Stratmann, T, Gooday, AJ (2019) Key role of bacteria in the short-term cycling of carbon at the abyssal seafloor of the eastern Clarion Clipperton Fracture Zone. *Limnology and Oceanography*, 64(2): 694-713.

Taboada S, Riesgo A, Wiklund H, Paterson GLJ, Koutsouveli V, Santodomingo N, Dale AC, Smith CR, Jones DOB, Dahlgren TG, Glover AG (2018) Implications of population connectivity studies for the design of marine protected areas in the deep sea: An example of a demosponge from the Clarion-Clipperton Zone. *Molecular Ecology*, 27(23) 4657-4679. <https://doi.org/10.1111/mec.14888>.

Talley, LD, Pickard, GL, Emery, WJ, Swift, JH (2011) *Instruments and Methods*. S16. p. 1-77. *Descriptive Physical Oceanography. An Introduction*. Sixth edition.

Tamburri, M (2006) *Protocols for Verifying the Performance of In Situ Turbidity Sensor*. Solomons, MD, Alliance for Coastal Technologies, 22 p (ACTPV0601 5/3/06). <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-347>.

Thurnherr, AM, Visbeck, M, Firing, E, King, BA, Hummon, JM, Krahnemann, G, Huber, B (2010) A – The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. IOCCP Report No. 1, ICPO Publications Series No. 134, Version 1, 2010. <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.

Thomson, RE, Emery, WJ (2014) *Data Acquisition and Recording. Data Analysis Methods in Physical Oceanography*, 1-186. Doi:10.1016/b978-0-12-387782-6.00001-6.

Thorpe, SA (2007) *The Turbulent Ocean*, Cambridge University Press, New York, 439 p.

Uchida, H, Johnson, GC, McTaggart, GC (2010) CTD Oxygen Sensor Calibration Procedures. Dans : *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1*, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, et B.M. Sloyan), 17 p. (Rapport de l'IOCCP numéro 14 ; ICPO Publication Series Number 134). Disponible en ligne à l'adresse suivante : <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.

U.S. Environmental Protection Agency. Method 180.1: Determination of Turbidity by Nephelometry. Publié sous la direction de James W. O'Dell. Revision 2.0. août 1993. Disponible en ligne à l'adresse suivante : [https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/method\\_180-1\\_1993.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/method_180-1_1993.pdf).

U.S. Integrated Ocean Observing System (2016) *Manual for Quality Control of Temperature and Salinity Data Observations from Gliders. Version 1.0*. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 23 p. et annexes. <http://hdl.handle.net/11329/289>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2017) *Manual for Real-Time Quality Control of Passive Acoustics Data: A Guide to Quality Control and Quality Assurance for Passive Acoustics Observations*. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean

Service, Integrated Ocean Observing System, 24 p. et annexes. <http://hdl.handle.net/11329/342>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2019a), Manual for Real-Time Quality Control of In-Situ Current Observations. Version 2.1. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 54 p. <https://doi.org/10.25923/sqe9-e310>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2020) Manual for Real-Time Oceanographic Data Quality Control Flags. Version 1.2. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 24 p. <https://doi.org/10.25923/w8y6-d298>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2020) Manual for Real-Time Quality Control of In-situ Temperature and Salinity Data Version 2.1: a Guide to Quality Control and Quality Assurance of In-situ Temperature and Salinity Observations. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 50 p. <https://doi.org/10.25923/x02m-m555>.

van Sebille, E, Griffies, SM, Abernathy, R, et al (2018) Lagrangian ocean analysis: Fundamentals and practices. *Ocean Modelling*, 121, p. 49-75. <https://doi.org/10.1016/j.ocemod.2017.11.008>.

Verfuss, UK, Gillespie, D, Gordon, J, Marques, TA, Miller, B, Plunkett, R, Theriault, JA, Tollit, DJ, Dominic J, Zitterbart, DP, Hubert, P, Thomas, L (2018) Comparing methods suitable for monitoring marine mammals in low visibility conditions during seismic surveys. *Marine Pollution Bulletin* 126 1-18, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.034>.

Wallmann, K, Aloisi, G, Haeckel, M, Obzhairov, A, Pavlova, G, Tishchenko, P (2006) Kinetics of organic matter degradation, microbial methane generation, and gas hydrate formation in anoxic marine sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70(15): 3905-3927, <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.06.003>.

Watling L, Guinotte J, Clark MR, Smith CR (2013) A proposed biogeography of the deep ocean floor. *Progress in Oceanography* 111: 91-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2012.11.003>.

Wenneck, T deL, Falkenhaus, T, Bergstad, OA (2008) Strategies, methods and technologies adopted on the RV G.O. Sars MAR-ECO expedition to the Mid-Atlantic Ridge in 2004. *Deep-Sea Research II* 55, 6-28.

Wenzhöfer, F, Adler, M, Kohls, O, Hensen, C, Strotmann, B, Boehme, S, Schulz, HD (2001) Calcite dissolution driven by benthic mineralization in the deep-sea: In situ measurements of Ca<sup>2+</sup>, pH, pCO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65(16), 2677-2690.

Werdell, PJ, McKinna, LIW, Boss, E, Ackleson, SG, Craig, SE, Gregg, WW, Lee Z, Maritorena S, Roesler CS, Rousseaux CS, Stramski D, Sullivan JM, Twardowski MS, Tzortziou M, Zhang, X (2018). An overview of approaches and challenges for retrieving marine inherent optical properties from ocean color remote sensing. *Progress in Oceanography*, 160, 186–212. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.01.001>.

Wong, GSK, Zhu, S (1995) Speed of sound in seawater as a function of salinity, temperature, and pressure. *Journal of the Acoustical Society of America*. 97(3): 1732-1736. <https://doi.org/10.1121/1.413048>.

Woo, LM (2019) Ocean Glider delayed mode QA/QC best practice manual, Version 2.1. Hobart, Australie, Integrated Marine Observing System, 59 p. <http://dx.doi.org/10.26198/5c997b5fdc9bd>.

Yoder, M, Irma Tandingan De Ley, I, King, IW, Mundo-Ocampo, M, Mann, J, Blaxter, M, Poiras, L, De Ley, P (2006) DESS: a versatile solution for preserving morphology and extractable DNA of nematodes. *Nematology*, 2006, Vol. 8(3), 367-376.

Yokoyama, Y, Nguyen, HV (1980) Direct and non-destructive dating of marine sediments, manganese nodules, and corals by high resolution gamma-ray spectrometry. Dans : *Isotope marine chemistry*, publié sous la direction de E.D. Goldberg et Y. Horibe, p. 259-289, Tokyo, 1980.

Zeebe, RE, Wolf-Gladrow, D (2001) *CO<sub>2</sub> in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes*. Elsevier, Amsterdam, 346 p.

## IX. Abréviations et acronymes

ADCP	courantomètres à effet Doppler
ADN	acide désoxyribonucléique
AIEA	Agence internationale de l'énergie atomique
AISPO	Association internationale des sciences physiques de l'océan
AVHRR	radiomètre avancé à très haute résolution
CIEM	Conseil international pour l'exploration de la mer
CNS	carbone, azote et sulfure
COI	Commission océanographique intergouvernementale de l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture
CTD	conductivité, température et profondeur (sonde CTD)
ddRADseq	séquençage de marqueurs d'ADN associés à des sites de restriction par double digestion
ECHA	Agence européenne des produits chimiques
ESA	Agence spatiale européenne
FAU	unité d'atténuation formazine
FNU	unité néphélométrique formazine
GOOS	Système mondial d'observation de l'océan
Go-Ship	Global Ocean Ship-based Hydrographic Investigations Program
IMOS	Système intégré d'observation marine
IODE	Échange international des données et de l'information océanographiques
JAXA	Agence japonaise d'exploration aérospatiale
JGOFS	Étude conjointe des flux océaniques mondiaux
MERIS	spectromètre imageur à moyenne résolution
MOCNESS	Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sensing System
MODIS	spectroradiomètre imageur à résolution moyenne

---

NASA	National Aeronautics and Space Administration des États-Unis
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration
NTU	unités de turbidité néphélogométriques
PCR	amplification en chaîne par polymérase
PIPS	détecteur de silicium planaire implanté passivé
RADseq	séquençage de marqueurs d'ADN associés à des sites de restriction
RCM	courantomètre à rotor
RNA	acide ribonucléique
rRNA	acide ribonucléique ribosomique
SeaWiFS	capteur grand-angulaire d'observation des mers

---