



Les cyanobactéries (algues bleues) responsables d'efflorescences dans les eaux stagnantes

Aspects systématiques-écologiques toxicologiques

Raphaël Willame & Lucien Hoffmann



Centre de Recherche Public
Gabriel Lippmann

Rapport final juin 2005

Convention N° 34384

Agence de l'eau Artois-Picardie, Mission Ecologie du Milieu 200, rue Marceline
Centre Tertiaire de l'Arsenal BP 818, F-59508 DOUAI Cedex

Avec la participation :

Prélèvements Val Joly :

- L'équipe de la base nautique du Syndicat Mixte du Parc Départemental du Val Joly.
- M. Péon et M. Petit, Fédération du Nord pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique.
- Muriel Gugger, Nicolas Bonjean et Henry-Michel Cauchie, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann.

Analyses chimiques :

- Mme Salvia et M. Barnich, Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann.

Comptages et identifications du métazooplancton :

- Isabelle Thys, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann.

Comptages et identifications des protistes :

- Véronique Jacquet, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann.

Comptages bactérioplancton :

- Henry-Michel Cauchie, Centre de Recherche Public-Gabriel Lippmann.

Analyses des microcystines :

- Ingrid Chorus, Federal Environmental Agency (Berlin).

Contacts auteurs :

Raphaël Willame : Willame@lippmann.lu

Lucien Hoffmann : Hoffmann@lippmann.lu

Résumé

Cette étude, portant sur la problématique des efflorescences (blooms) de cyanobactéries dans les eaux stagnantes, résulte de la combinaison de données obtenues dans le cadre de trois projets : Midi-Chip, MILOO et CYANOTOX.

Le projet européen **Midi-Chip** a permis, notamment, la mise au point de puces à ADN trouvant leur application dans le monitoring des populations de cyanobactéries toxigènes. Un brevet de ces puces a été déposé en Finlande car ce nouvel outil est très prometteur. En effet, le format des puces à ADN, nommé « universal chip with ZipCodes », est très flexible et peut de ce fait recevoir des sondes correspondant à d'autres organismes. Le caractère universel de ces puces permet ainsi d'envisager des milliers d'applications dans tous les domaines de la biologie.

La recherche menée dans le cadre du projet **MILOO** a révélé, pour la première fois, l'ampleur des nuisances induites par la prolifération massive des cyanobactéries dans le sud de la Belgique, au Grand-Duché de Luxembourg et dans le nord-est de la France. Les campagnes de prospection des étés 1997, 1999-2001 ont montré la dominance des genres *Microcystis*, *Planktothrix* et *Anabaena* dans les plans d'eau échantillonnés (respectivement, 34%, 34% et 20%). Les analyses statistiques, réalisées sur l'ensemble des variables physico-chimiques déterminées sur 64 plans d'eau (au total : 16 variables), mettent en évidence l'influence majeure de la conductivité liée à la géologie de la zone prospectée, sur la dominance des différents genres de cyanobactéries communément responsables de développements massifs.

Des microcystines (cyanotoxines-hépatotoxines) ont été détectées dans 53 % des échantillons analysés. La MC-LR est la variante la plus souvent mise en évidence (64% des blooms analysés). A l'opposé, la variante MC-LY n'a jamais été révélée.

Le monitoring des populations phytoplanctoniques du lac de la Haute-Sûre (Grand-Duché de Luxembourg) a démontré l'importance des populations cyanobactériennes. Celles-ci sont principalement composées de *Planktothrix*, d'*Aphanizomenon* et d'*Anabaena*. Malgré des biovolumes relativement réduits, ces populations forment régulièrement des efflorescences en différents points du lac au cours de l'été et de l'automne. Les variables impliquées dans le contrôle de leur développement sont principalement, les concentrations en nitrate, en silice ainsi que la température de l'eau.

Le projet **CYANOTOX** résulte d'une convention établie entre le CRP-GL et l'agence de l'eau Artois-Picardie.

Les campagnes de prospection menées dans le bassin d'Artois-Picardie ainsi que les échantillons reçus de divers pouvoirs publics ont permis la mise en évidence de nombreuses efflorescences de cyanobactéries. Ainsi, il s'avère que *Microcystis* et *Planktothrix* sont les genres les plus fréquemment rencontrés dans les pièces d'eau d'Artois-Picardie dominées par les cyanobactéries. Ils (co-)dominent 40 % des plans d'eau investigués.

Le lac du Val Joly n'échappe pas à cette problématique. En effet, les densités de cyanobactéries, essentiellement représentées par des populations de *Planktothrix* et d'*Aphanizomenon*, ont dépassé, à plusieurs reprises, les normes relatives aux eaux de baignade établies par l'Organisation Mondiale de la Santé ainsi que par le Conseil supérieur d'hygiène publique de France.

Les tests écophysiologicals menés sur trois souches de cyanobactéries isolées de plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie démontrent les facultés d'*Aphanizomenon* et de *Planktothrix* à pallier à la carence en composés azotés. Ce fait explique, vraisemblablement, leur dominance dans les plans d'eaux pauvres en nitrite, nitrate et ammonium, tel que celui du lac du Val Joly.

Les analyses toxicologiques révèlent que 71% des échantillons d'efflorescence analysés contiennent des microcystines (essentiellement la forme MC-LR). 60% des blooms hépatotoxiques contenaient des populations de *Microcystis* et d'*Anabaena*. Les concentrations s'échelonnaient de 1.6 à 1972.4 µg MC-tot/g PS d'efflorescence.

A plusieurs reprises, les concentrations en MC tot obtenues ont dépassé les normes relatives aux eaux de baignade établies par le Conseil supérieur d'hygiène publique de France.

Les microbiotests réalisés sur *Daphnia magna* confortent d'une part, le potentiel toxique des efflorescences de cyanobactéries et d'autre part, révèlent la toxicité d'autres molécules non identifiées.

Ce travail constitue une étape majeure de l'évaluation de la problématique des cyanobactéries toxigènes dans les plans d'eau d'Europe centrale. Néanmoins, il subsiste de larges zones d'ombre puisque, notamment, une grande partie du bassin d'Artois-Picardie reste exempte de toutes données (partie centrale). De plus, certains résultats obtenus par le biais d'analyses statistiques devront à terme s'appuyer sur un plus grand nombre de données.

Table des matières

1. Introduction.....	7
1.1. Généralités	7
1.2. Cyanotoxines et autres composés bioactifs.....	8
1.2.1. Hépatotoxines	8
1.2.1.a. Microcystines	8
1.2.2. Neurotoxines	9
1.2.2.a. Anatoxine-a et homoanatoxine-a	10
1.2.2.b. Anatoxine-a(s).....	10
1.2.2.c. Paralytic shellfish poisons (PSPs).....	11
1.2.3. Dermatotoxines et lipopolysaccharides endotoxines (LPS)	12
1.3. Recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) relatives aux cyanobactéries et à leurs toxines.....	12

1.4. Recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatives à la prolifération de cyanobactéries dans les eaux à vocation récréative	14
1.5. Le projet européen Midi-Chip : une puce à ADN pour évaluer la biodiversité et la toxicité des cyanobactéries	16
2. Objectifs de l'étude	20
3. Sites de prélèvement	21
3.1. Le bassin d'Artois-Picardie.....	21
3.1.1. Le Val Joly	22
3.1.2. Autres plans d'eau d'Artois-Picardie.....	22
3.1.2.a. Echantillons postaux	22
3.1.2.b. Campagnes d'échantillonnage du 4-5 septembre 2002 et 2003 : prélèvements ponctuels dans des plans d'eau d'Artois-Picardie	23
3.2. Efflorescences de cyanobactéries du sud-est de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg et du nord-est de la France	30
3.2.1. Le lac de la Haute-Sûre ou lac d'Esch-sur-Sûre (Grand-Duché de Luxembourg).....	30
3.2.2. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français	32
4. Matériels et méthodes	35
4.1. Echantillonnages	35
4.2. Analyses physico-chimiques.....	35
4.3. Paramètres biotiques	36
4.3.1. Identifications et comptages du phytoplancton.....	37
4.3.2. Identifications et comptages du métazooplancton, du protozooplancton et du bactérioplancton.....	37
4.4. Isolements de souches de cyanobactéries récoltées dans le bassin d'Artois-Picardie	37
4.5. Dosages par HPLC des microcystines (hépatotoxines)	39
4.6. Tests écophysologiques sur trois souches de cyanobactéries responsables d'efflorescences	40
4.7. Tests de EC ₅₀ - 24 h sur <i>Daphnia magna</i> (Cladocera, Crustacea) en vue de déterminer la toxicité aiguë d'efflorescences de cyanobactéries prélevées en Artois-Picardie	43
5. Résultats	45
5.1. Val Joly	45
5.1.1. Données physico-chimiques	45
5.1.2. Dynamique saisonnière du phytoplancton	55
5.1.3. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries du lac du Val Joly	58
5.2. Autres plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie : campagne d'échantillonnage du 4-5 septembre 2002 et 2003	60
5.2.1. Lac d'Armbouts-Cappel à Dunkerque	63
5.2.2. Marais du Romelaëre à Clairmarais.....	64
5.2.3. Pré du Hem à Armentières.....	65
5.2.4. Lac du Héron à Villeneuve-d'Ascq	66
5.2.5. Marais de la Sensée près de Fressies (Aubigny-au-bac).....	67
5.2.6. Mare à Goriaux à Raismes.....	68
5.2.7. Etang d'Amaury au Vieux-Condé	69

5.2.8. Etang de Chabaud-Latour à Condé-sur-l'Escaut	70
5.2.9. Etang du pont Rouge (Le Quesnoy).....	71
5.2.10. Péronne (Haute-Somme).....	72
5.2.11. Etang du Vignoble à Valenciennes.	73
5.2.12. Etang du centre loisirs Fortier (Saint-Saulve).....	74
5.2.13. Etangs du Watissart.....	75
5.2.14. Etang Lapeyre	76
5.3. Echantillons postaux relatifs au bassin d'Artois-Picardie	79
5.4. Abondance relative et distribution géographique des cyanobactéries responsables d'efflorescences dans le bassin d'Artois-Picardie	79
5.5. Efflorescences de cyanobactéries en Belgique, au Grand-Duché de Luxembourg et dans le nord-est de la France.....	83
5.5.1. Le lac de la Haute-Sûre (Luxembourg)	83
5.5.1.a. Paramètres météorologiques et hydrologiques.....	83
5.5.1.b. Régime thermal et zone euphotique.....	83
5.5.1.c. Saisonnalité des paramètres physico-chimiques	84
5.5.1.d. Saisonnalité des paramètres biologiques	84
5.5.1.e. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries du lac de la Haute-Sûre	89
5.5.2. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français	91
5.5.2.a. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries de plans d'eau belges, luxembourgeois et français.....	92
5.6. Isolements de souches de cyanobactéries récoltées dans le bassin d'Artois-Picardie	96
5.7. Tests écophysiologicals sur trois souches de cyanobactéries isolées du bassin d'Artois-Picardie.....	97
5.8. Analyses toxicologiques	99
5.8.1. Identifications et quantifications des microcystines	99
5.8.1.a. Artois-Picardie	99
5.8.1.b. Belgique et Grand-Duché de Luxembourg.	107
5.8.2. Tests de EC ₅₀ -24 h : détermination de la toxicité aiguë d'extraits de cyanobactéries vis-à-vis de <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea).....	109
6. Discussion	111
6.1. Le lac du Val Joly	112
6.2. Autres plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie.....	115
6.3. Le lac de la Haute-Sûre (Luxembourg)	116
6.4. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français	118
7. Conclusions et perspectives.....	119
8. Références bibliographiques	120

1. Introduction

1.1. Généralités

Le groupe des procaryotes est composé d'une part, des eubactéries et d'autre part, des archéobactéries (Madigen et al. 2000). Les procaryotes sont des organismes dépourvus de compartimentation intracellulaire. Dès lors, ils se caractérisent par l'absence quasi totale de systèmes membranaires clos : pas de noyau, de mitochondries, d'appareils de Golgi, de plastides, ... Les procaryotes, et plus précisément les cyanobactéries qui font l'objet de cette étude, appartiennent au règne des eubactéries.

Assez récemment, le terme cyanobactérie a été proposé pour remplacer celui « d'algue bleue ». Ce nouveau terme insiste sur la nature procaryotique et l'appartenance au groupe des eubactéries de ces organismes. Par contre, le terme « algue bleue » reflète leur faculté à réaliser la photosynthèse oxygénique ainsi que leur similarité de structure avec le chloroplaste des eucaryotes photosynthétiques.

Les cyanobactéries possèdent, principalement en milieu eutrophe, des facultés physiologiques adaptatives qui leur permettent de dominer les autres espèces du phytoplancton. Cette dominance

des cyanobactéries engendre des problèmes liés à leur développement massif et à leur capacité à produire des toxines (Paerl et al. 2001).

Les « blooms », « fleurs d'eau » ou encore « efflorescences » dominés par les cyanobactéries sont, pour plus de la moitié toxiques (Vezie et al. 1997; Fastner et al. 1999; Maršálek et al. 2000; Skulberg et al. 1994). A ce jour, de nombreux cas de mortalités animales liés aux efflorescences de cyanobactéries toxiques ont déjà été signalés en Belgique et dans le monde entier (Carmichael 1994; Carmichael et al. 2001; Wirsing et al. 1998). Ces développements massifs de cyanobactéries constituent donc un réel danger pour la population. En effet, il n'est pas rare de constater des proliférations de cyanobactéries toxiques dans les réservoirs utilisés pour la production d'eau potable (Willame & Hoffmann 1999; Chorus 2001). Ainsi, plusieurs cas d'intoxication (allergies, diarrhées, vomissements,...) (Falconer 1996) et de mortalité humaine ont été reportés (Azevedo et al. 2002).

En Europe centrale (Belgique, Grand-Duché de Luxembourg, nord de la France) et plus particulièrement dans le bassin d'Artois-Picardie, peu d'études ont été réalisées dans ce domaine. Néanmoins, certains travaux ont révélé le risque sanitaire potentiel lié à la présence de cyanobactéries toxigènes (hépatotoxiques) dans plusieurs plans d'eau d'Artois-Picardie dont celui du Val Joly (« Etude sur la qualité du lac du Val joly », 1994, Agence de l'eau Artois-Picardie-Bi-Eau, « Screening des algues toxiques dans les plans et cours d'eau du bassin Artois-Picardie », Hélène Ducobu, 2001, Agence de l'eau Artois-Picardie-CESAC).

1.2. Cyanotoxines et autres composés bioactifs

Les cyanobactéries sont des sources inépuisables de composés bioactifs. Certains de ces composés ont une activité antitumorale ou antifongique (Kaya & Sano 1996) alors que d'autres ont une action antivirale (Gustafson et al. 1989). Ces molécules sont des sources potentielles de nouvelles drogues actives contre de multiples maladies, tel que le cancer. Elles constituent donc des outils primordiaux dans la recherche pharmacologique et biologique. Ainsi la cryptophycine semble être un agent anti-cancérigène intéressant. Beaucoup de chimiothérapies échouent suite au développement par les cellules cancérigènes de résistances aux drogues utilisées. Des composés tels que les tolyporphines, les dendroamides et les welwitindolinones isolés de souches de cyanobactéries, sont capables de pallier ce problème.

Les cyanobactéries responsables d'efflorescences sont potentiellement toxiques. Elles ont la faculté de synthétiser des toxines (cyanotoxines) qui sont communément divisées, selon leur mode d'action, en trois catégories principales: les hépatotoxines, les neurotoxines et les dermatotoxines comprenant les lipopolysaccharides endotoxines (LPS).

1.2.1. Hépatotoxines

1.2.1.a. Microcystines

Les microcystines constituent un groupe d'heptapeptides cycliques. Elles ont été le plus souvent mises en évidence dans *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. Ces cyanotoxines ont également été identifiées dans des cyanobactéries appartenant aux genres *Planktothrix*, *Anabaena* et *Nostoc*.

Leur structure moléculaire de base est la suivante : cyclo(D-Ala¹—X²—D-MeAsp³—Z⁴—Adda⁵—D-Glu⁶—Mdha⁷) où X et Z sont des acides aminés variables, MeAsp est l'acide D-érythro-β-méthylaspartique, l'Adda est l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-décadiénic et Mdha est le N-méthyl-déhydroalanine.

Actuellement, plus de 60 variantes de microcystines ont pu être identifiées (Sivonen 1996).

La toxicité de ces molécules est variable. Les valeurs de LD₅₀ obtenues lors de tests de toxicité effectués par injection intrapéritonéale sur des souris s'échelonnent de 50 à 600 µg de toxines purifiées par kg.

La figure 1 illustre la structure de la microcystine-LR, l'hépatotoxine la plus fréquemment signalée dans la littérature.

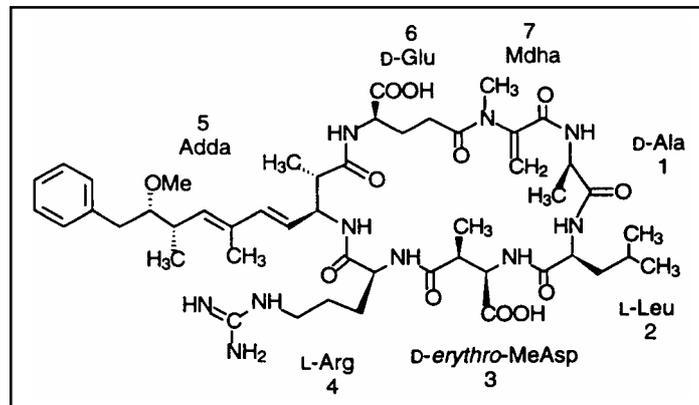


Fig. 1 : Structure de la microcystine-LR

Les microcystines sont des inhibiteurs des phosphatases PP1, PP2A. L'inhibition de ces enzymes induit des réactions de phosphorylation incontrôlées (hyperphosphorylation). Ainsi la phosphorylation d'acides aminés (sérine/thréonine) constituant notamment les réseaux de microfilaments intracellulaires engendre la désorganisation irréversible du cytosquelette. Le cytosquelette s'effondre, des lésions cellulaires se forment provoquant notamment la fuite de sang hors des capillaires sanguins. Le sang circule alors dans les espaces intercellulaires qu'il élargit provoquant ainsi une hémorragie (Eriksson et al. 1990).

Leur hépatotoxicité résulte de leur faculté à pénétrer rapidement dans les hépatocytes via le « bile acid transport system ».

Parallèlement à ces dommages bien définis, des troubles beaucoup plus insidieux sont également provoqués par les microcystines. En effet, l'hyperphosphorylation des protéines qui découle de l'inhibition de certaines phosphatases induit une action tumorale liée à l'accélération de la croissance des tissus.

1.2.2. Neurotoxines

1.2.2.a. Anatoxine-a et homoanatoxine-a

L'anatoxine-a, isolée pour la première fois d'un bloom canadien dominé par *Anabaena flos-aquae*, est une amine secondaire de faible masse moléculaire (Fig. 2) qui agit par mimétisme de l'acétylcholine. Sa formule moléculaire est le 2-acétyl-9-azabicycl(4-2-1)non-2-ène. Ces cyanotoxines se lient aux récepteurs de l'acétylcholine avec une plus grande affinité que l'acétylcholine lui-même. Les muscles touchés sont hyperstimulés, des crampes et des convulsions apparaissent. Si les muscles respiratoires sont atteints, la paralysie de ceux-ci entraînera la mort de l'organisme intoxiqué.

Les LD₅₀ obtenues lors d'injections intrapéritonéales chez des souris sont de l'ordre de 250 µg de toxines purifiées par kg.

Ce composé a été mis en évidence chez des cyanobactéries appartenant aux genres *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermum* et *Microcystis*.

L'homoanatoxine-a est une cyanotoxine ayant les mêmes spécificités de toxicité que l'anatoxine-a. Le groupement acétyle (-COCH₃) est remplacé par un groupement propionyle (-COCH₂CH₃). Elle fût mise en évidence chez *Oscillatoria formosa*.

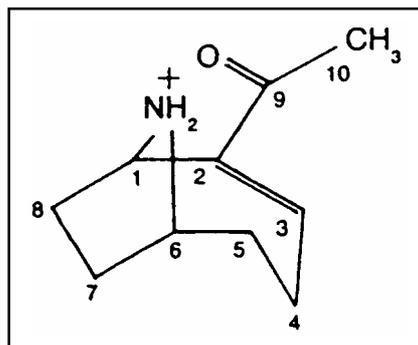


Fig. 2 : Structure de l'anatoxine-a

1.2.2.b. Anatoxine-a(s)

L'anatoxine-a(s) est une molécule dont la structure rappelle celle des insecticides organophosphorés (Fig. 3). Il s'agit d'un ester phosphate d'une guanine hydroxylée.

Les LD₅₀ obtenues lors de tests effectués sur des souris (par injection intrapéritonéale) sont de l'ordre de 20 à 50 µg de toxines purifiées par kg.

Cette neurotoxine est un puissant inhibiteur de l'acétylcholinestérase. Elle fût isolée d'un bloom dominé par *Anabaena flos-aquae* et *Anabaena lemmermannii*.

Le suffixe S indique un état d'hypersalivation chez les animaux intoxiqués par ce composé.

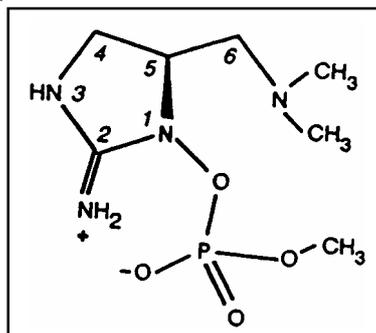


Fig. 3 : Structure de l'anatoxine-a(s)

1.2.2.c. Paralytic shellfish poisons (PSPs)

Les PSPs constituent un groupe de neurotoxines provoquant la mort des organismes par l'arrêt des fonctions respiratoires. Plus précisément, la propagation de l'influx nerveux est inhibée par le blocage des canaux sodium des axones des neurones.

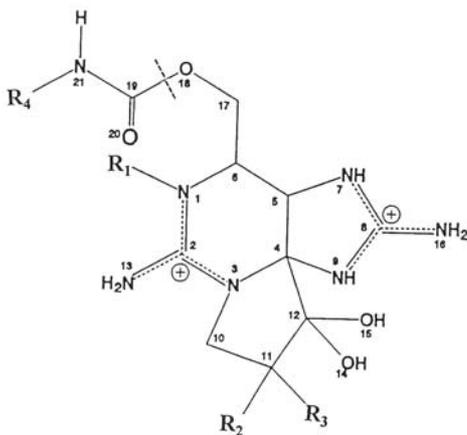
Ce groupe comprend des molécules telles que les carbamates, les N-sulphocarbamoyls et les décarbamoyls (Fig. 4).

Ces composés, synthétisés également par des Dinophycées, s'accumulent fréquemment dans les mollusques marins.

Sur base de la nature et de l'emplacement de certains groupements chimiques, une quinzaine de toxines ont été répertoriées.

La toxicité de ces neurotoxines est variable. La saxitoxine est certainement la neurotoxine la plus puissante. Les LD₅₀ obtenues lors de tests réalisés sur des souris sont de l'ordre de 10 µg de toxines purifiées par kg (injection intrapéritonéale).

Des PSPs ont été isolés de blooms dominés par les cyanobactéries suivantes : *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Lyngbya wollei* et *Cylindrospermopsis raciborskii* (Carmichael 1997).



Carbamate (R ₄ = H) and N-sulphocarbamoyl (R ₄ = SO ₃ ⁻) toxins						
Toxin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Aph ^a	An ^b
STX	H	H	H	H	+	+
GTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	H		+
GTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	H	++	+
GTX5	H	H	H	SO ₃ ⁻		+
C1	H	H	OSO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻		+
C2	H	OSO ₃ ⁻	H	SO ₃ ⁻		+
NEO	OH	H	H	H	+	
GTX1	OH	H	OSO ₃ ⁻	H	++	+
GTX4	OH	OSO ₃ ⁻	H	H	++	+
GTX6	OH	H	H	SO ₃ ⁻		+
C3	OH	H	OSO ₃ ⁻	SO ₃ ⁻		
C4	OH	OSO ₃ ⁻	H	SO ₃ ⁻		
CONHR ₄						
Decarbamoyl toxins						
				= H		
dc-STX	H	H	H	H		+
dc-NEO	OH	H	H	H		
dc-GTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	H		+
dc-GTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	H		+

^a Toxins found in *Aphanizomenon flos-aquae*, New Hampshire, USA and ^{*} Portugal

^b Toxins detected in an *Anabaena circinalis* strain and bloom samples, Australia

Fig. 4 : Structure des PSPs

1.2.3. Dermatotoxines et lipopolysaccharides endotoxines (LPS)

Beaucoup de composés tels que l'aplysiatoxine, la débromoaplysiatoxine, la lyngbyatoxine, mises en évidence chez une souche de *Lyngbya majuscula*, ainsi que les lipopolysaccharides endotoxines (LPS) provoquent des réactions épidermiques inflammatoires et des troubles de la digestion.

Les LPS sont bien connues chez les bactéries du genre *Salmonella*. Ces molécules à haute activité biologique composent les parois cellulaires de beaucoup de cyanobactéries. Leur structure moléculaire repose sur le nombre et la position des sucres, des phosphates et des lipides (Codd et al. 1989; Keleti et al. 1979).

A côté de ces composés bioactifs, existe une foule d'autres types de molécules responsables de multiples formes de nuisances. Ainsi, les cyanobactéries sont connues pour leur capacité à synthétiser des « off-flavours compounds » c'est-à-dire des substances qui altèrent les propriétés organoleptiques de l'eau telles que la géosmine et les MIB (2-méthylisobornéol) qui donnent un goût d'humus à l'eau contaminée (Persson 1996). Néanmoins, la structure moléculaire de la plupart de ces composés reste indéterminée.

De nombreuses nuisances liées à leur présence dans l'eau de distribution mais également dans des poissons de consommation ont été reportées dans le monde entier (Lanciotti et al. 2003; Schrader et al. 2003).

1.3. Recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) relatives aux cyanobactéries et à leurs toxines

Dans le but de minimiser les risques sanitaires liés d'une part, à la présence de cyanobactéries toxigènes dans les eaux à vocation récréative et, d'autre part, à la présence de cyanotoxines dans l'eau de distribution, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), sur base d'un comité scientifique international, a défini une série de valeurs guides (Chorus & Bartram 1999) (Fig. 5).

Concernant les eaux de baignade, la concentration de 20 000 cellules par ml (guidance level 1) a été définie comme première valeur guide. A cette concentration les premiers effets néfastes, habituellement indépendants des cyanotoxines mais induits par d'autres composés chimiques tels que les pigments (Cohen & Reif 1953), sont perceptibles. Ainsi, à de telles concentrations des allergies épidermiques et des troubles digestifs ont été fréquemment observés.

La seconde valeur guide de 100 000 cellules par ml (guidance level 2) a été définie comme étant la densité à laquelle l'accumulation de cyanobactéries en surface devient possible. A ce niveau d'alerte modéré les risques d'intoxication deviennent importants surtout pour les personnes sensibles telles que les enfants. Ainsi, un enfant de 15 kg consommant accidentellement 250 ml d'eau durant sa baignade peut-être exposé à des doses de MC (microcystine) 10 fois supérieures aux doses journalières tolérables (tolerable daily intake : voir ci-dessous).

Au-delà de cette concentration de 100 000 cellules par ml, c'est-à-dire, lorsque les efflorescences sont communément visibles en surface, outre les troubles décrits ci-dessus engendrés à des concentrations plus réduites, des cas d'intoxication aiguë, induisant la mort des organismes contaminés, ne sont plus à exclure.

En ce qui concerne les eaux de distribution, le seuil de vigilance (vigilance level) a été fixé à 200 cellules par ml (1 colonie par ml ou plus de 5 filaments par ml). Cette concentration est habituellement celle qui correspond au point de départ du développement massif des cyanobactéries aboutissant à terme à des efflorescences.

Le niveau d'alerte 1 (alert level 1) de 2 000 cellules par ml a été défini sur base d'une part, des concentrations en MC fréquemment observées à de telles concentrations et, d'autre part, de la valeur seuil de 1 µg MC-LR/l. Par conséquent, à cette concentration, il est recommandé d'effectuer le dosage des toxines dans l'eau brute en vue d'adapter, si besoin, le traitement de l'eau destinée à la consommation humaine.

La concentration de 100 000 cellules par ml correspondant au niveau d'alerte 2 (alert level 2) témoigne d'une importante densité en cyanobactéries, la plupart du temps liée à la présence d'efflorescences. Le risque d'intoxication engendré par les cyanotoxines présentes dans l'eau de consommation est très important, même si le temps d'exposition est limité. Ce risque est d'autant plus élevé que les techniques de potabilisation sont peu efficaces pour soustraire les cyanotoxines. Le monitoring des cyanobactéries doit être continu jusqu'au déclin des populations.

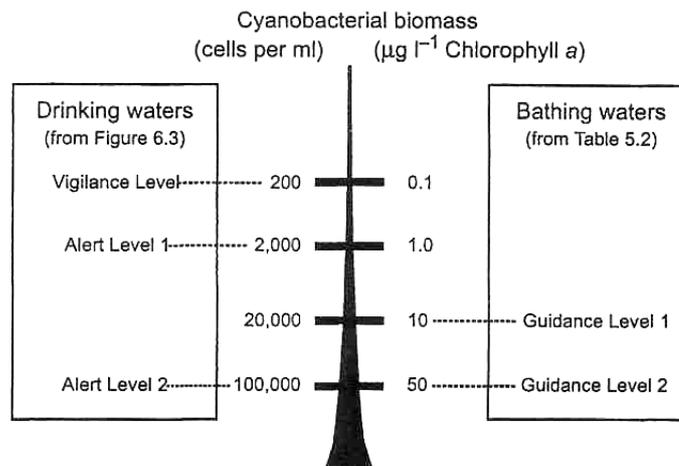


Fig. 5 : Résumé des différents niveaux d'alerte définis sur base de la densité en cyanobactéries et de la concentration en Chl-*a* pour les eaux de consommation et de baignade (Chorus & Bartram 1999)

Les techniques d'identification et de quantification des cyanotoxines, essentiellement basées sur l'HPLC, ont permis l'établissement d'une valeur seuil provisoire de 1.0 µg microcystine-LR équivalent/l (WHO 1998). Trop peu de données concernant les autres cyanotoxines sont actuellement disponibles pour pouvoir définir d'autres normes. Néanmoins, dans le but d'estimer les différentes variantes de microcystines, la notion de « microcystines équivalents » a été introduite. Cette notion consiste à quantifier par HPLC les différentes formes de microcystines en utilisant comme standard celui de la microcystine-LR. Cette norme a été calculée sur base du

« tolerable daily intake » (TDI), c'est-à-dire sur base de la quantité de substance toxique qui peut être consommée quotidiennement tout en occasionnant un risque négligeable sur la santé.

1.4. Recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatives à la prolifération de cyanobactéries dans les eaux à vocation récréative

En l'absence de normes sanitaires françaises et européennes spécifiques aux cyanobactéries pour les eaux de baignade (hormis les critères visuels réglementaires de qualité des eaux), le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) a été saisi afin de préciser les critères d'évaluation et les modalités de gestion des risques sanitaires liés à la prolifération des cyanobactéries dans les zones de loisirs aquatiques. De ce fait, un arbre décisionnel (Fig. 6) a été établi en vue de gérer des situations de contamination par des cyanobactéries et/ou de leurs toxines. Ces recommandations s'articulent autour de 5 critères définis pour les pièces d'eau dans lesquelles les cyanobactéries constituent la population dominante.

Ainsi, lorsque la présence d'écume est perceptible, le plan d'eau concerné doit être interdit à tous les usages (baignades et loisirs nautiques). En outre, le public doit être averti par la mise en place de panneaux explicatifs le long du plan d'eau. Les mêmes recommandations sont valables pour les plans d'eau pour lesquels la densité en cyanobactéries est supérieure à 100 000 cellules/ml \pm 10 % et dont la concentration en microcystine est supérieure à 25 μ g MC-LR $\text{éq.}/\text{l} \pm 5$ %.

Lorsque la concentration en cyanobactéries est supérieure à 100 000 cellules /ml \pm 10 % et que la concentration en microcystine est inférieure à 25 μ g MC-LR $\text{éq.}/\text{l} \pm 5$ %, la baignade doit être limitée et le public doit être informé des risques potentiels liés à toutes activités nautiques.

Lorsque les concentrations sont comprises entre 20 000 et 100 000 cellules /ml \pm 20 %, le plan d'eau contaminé doit être quotidiennement et étroitement surveillé. Le dénombrement des cyanobactéries doit être hebdomadaire. De plus, des panneaux signalant les risques sanitaires encourus doivent être mis en place près du site concerné.

Lorsque les concentrations en cyanobactéries sont inférieures à 20 000 cellules/ml \pm 20 %, la surveillance du plan d'eau doit toujours être effectuée. Néanmoins, l'ensemble des activités nautiques peut être maintenu.

Il est important à signaler que ces critères décisionnels sont sujets à modification selon les données qui seront acquises au cours des recherches menées dans ce domaine.

Recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France - 6 mai 2003

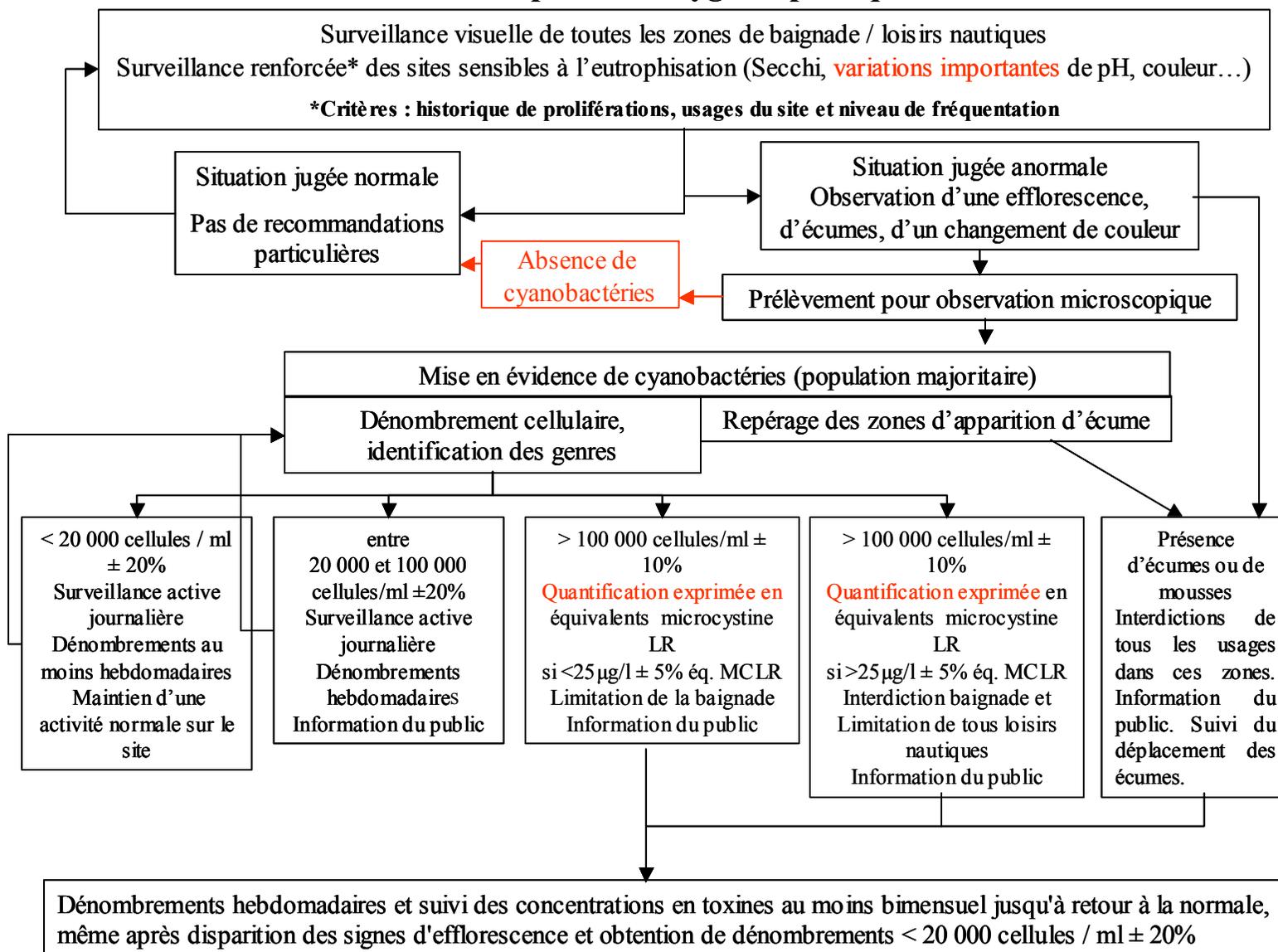


Fig. 6 : Arbre décisionnel émanant du CSHPF relatif à la prolifération de cyanobactéries dans les plans d'eau à vocation récréative

1.5. Le projet européen Midi-Chip : une puce à ADN pour évaluer la biodiversité et la toxicité des cyanobactéries

Les micro-organismes sont d'une importance primordiale pour le bon fonctionnement de notre biosphère. Les études portant sur leur biodiversité sont peu nombreuses car les techniques employées pour mener à bien de telles recherches étaient, jusqu'il y a peu, limitées par la taille infime de ces organismes.

Au cours de ces vingt dernières années, le développement des techniques moléculaires a permis la création de nouveaux outils plus performants. Les puces à ADN constituent, sans doute, l'innovation la plus adéquate pour mener à bien l'exploration de ce monde de l'infiniment petit. Cette nouvelle technologie est particulièrement adaptée au monitoring des populations dans différents écosystèmes.

Les recherches menées sur les plans d'eau d'Artois-Picardie, de Belgique et du Grand-Duché de Luxembourg s'inscrivent dans le cadre plus large du projet européen : « Midi-Chip » (www.ulg.ac.be/cingprot/midichip/). Le projet Midi-Chip, coordonné par le Docteur Wilmotte (Ulg), avait pour but le développement d'indicateurs de biodiversité faisant appel aux nouvelles technologies des biopuces ainsi que la comparaison de leurs performances par rapport aux résultats obtenus par des approches plus classiques telle que la microscopie optique.

Il aurait été sans doute utopique de vouloir étudier l'intégralité de la communauté microbienne d'un écosystème donné. C'est pour cette raison que le projet Midi-Chip portait uniquement sur l'étude de la diversité des cyanobactéries peuplant plusieurs lacs européens. Les cyanobactéries constituent un modèle de choix car leur lignée est bien définie, de plus elles jouent un rôle majeur dans les biotopes aquatiques.

Afin de mener à bien la réalisation des puces à ADN, il fallait tout d'abord délimiter le cadre de travail en choisissant des écosystèmes modèles sur lesquelles reposerait cette étude. Ainsi, trois lacs européens ont été choisis : le lac de Tuusulanjärvi en Finlande, le lac de la Haute-Sûre (lac d'Esch-sur-Sûre) au Grand-Duché de Luxembourg et le lac de Bubano en Italie. Plusieurs études préalables avaient révélé la présence massive et récurrente de cyanobactéries au sein de ces lacs.

La première étape de ce travail a consisté en la détermination de la diversité saisonnière des cyanobactéries présentes dans les trois lacs de référence. Pour ce faire des techniques microscopiques et moléculaires ont été employées en parallèle. Ainsi, le suivi des populations cyanobactériennes a été effectué d'une part, en microscopie optique selon la technique d'Utermöhl et, d'autre part, par la DGGE (Denaturing Gel Gradient Electrophoresis). Un résumé des différentes étapes de ce processus est illustré aux figures 7A et 7B.

Les puces à ADN ont été construites sur base du marqueur taxonomique le plus utilisé chez les procaryotes : le gène 16S rRNA (Castiglioni et al. 2002, 2004). Ces séquences ont été obtenues à partir de plusieurs centaines de souches de cyanobactéries monoclonales isolées des trois lacs de référence.

Ainsi, les puces à ADN construites permettent la mise en évidence de 19 types de cyanobactéries différentes. De plus, certaines variantes ont été créées en utilisant des séquences de gènes impliqués dans la synthèse de la microcystine, la cyanotoxine la plus fréquemment rencontrée.

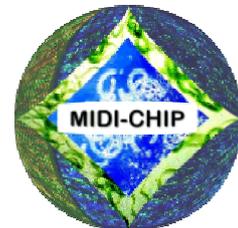
Ces puces sont maintenant opérationnelles et un brevet a été déposé en Finlande car ce nouvel outil trouve beaucoup d'applications dans le cadre du monitoring de populations de cyanobactéries. En outre, le caractère rapide et fiable de ces puces en fait la technique idéale pour les études impliquant un grand nombre d'échantillons.

La base de ce nouvel outil peut être utilisée pour l'étude d'autres microorganismes. En effet, le format des puces à ADN nommées « universal chip with ZipCodes » est très flexible et peut de ce fait recevoir des sondes correspondant à d'autres organismes. Le caractère universel des puces à ADN permet d'envisager des milliers d'applications potentielles et ce, dans tous les domaines de la biologie... « The Institute for Biomedical Technologies-National Research Council (CNR-ITB) » de Milan en Italie, est actuellement responsable de leur production.

Le principe des puces à ADN est basé sur la technique d'hybridation. Immobilisées sur un support solide (plaque de verre), des sondes (oligonucléotides) spécifiques permettent de détecter des cibles complémentaires marquées (séquences 16S rRNA des cyanobactéries marquées) et présentes dans le mélange à analyser. Les signaux d'hybridation sont détectés selon le type de marquage (fluorescence) et quantifiés. Tout laboratoire de biologie moléculaire équipé d'un scanner laser approprié peut effectuer la lecture de ces puces.

La description des puces à ADN ainsi que le détail de leur mode de fonctionnement sont illustrés à la figure 8.

MIDI-CHIP



Design and testing of DNA microarrays to monitor microbial diversity with adequate biodiversity indexes, using cyanobacteria in freshwater as a model system

LUXEMBOURG

Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann:

*Sampling, Isolation, Enumeration
and Microscopic Identification*



Esch-sur-Sûre Lake

UNITED KINGDOM

PISCES Conservation Ltd:
Software and Database



FINLAND

University of Helsinki:

Molecular Analysis and Isolation

Finnish Environment Institute

(SYKE):

Sampling and Enumeration

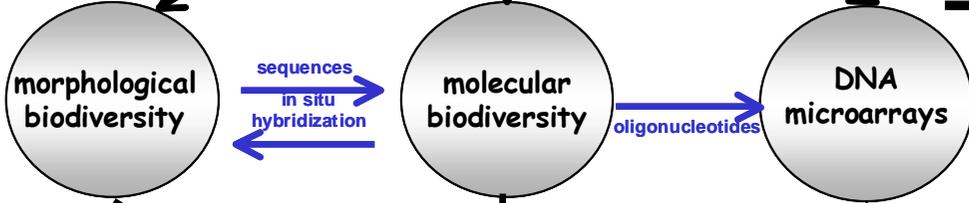


To advance knowledge of **microbial biodiversity** - improve established techniques - test innovative **DNA microarrays** - develop software to calculate **diversity indices**

Sampling

From three lakes, combined water column samples are taken between 0 to 2 meters. Chemical analysis is undertaken and a Lugol fixed sample prepared for cyanobacteria counting. Further, for morphological studies to describe the cyanobacterial taxa present and to create isolate cultures, formalin fixed and natural samples are collected with a 10 µm mesh plankton net.

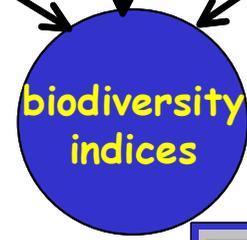
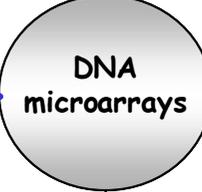
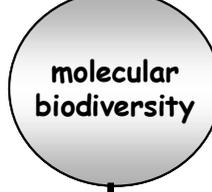
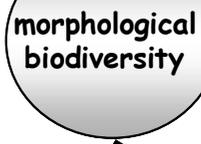
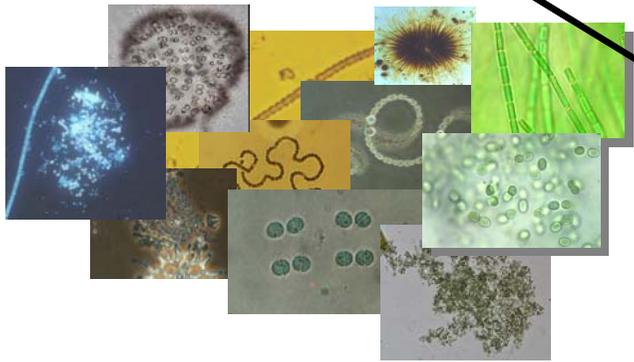
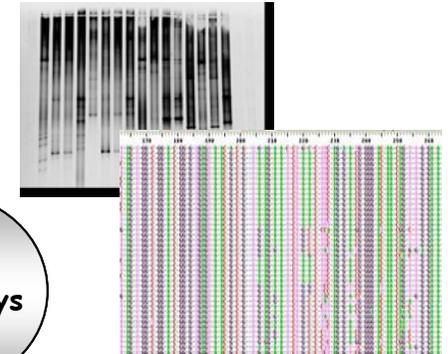
An *in situ* hybridization sample is prepared by mixing a concentrated sample with ethanol. Volumes from 100 to 500ml are filtered on 0.45µm pore size membranes, put in lysis buffer and immediately frozen at -20°C. The frozen samples are sent to partners working on molecular analysis for DNA extraction.



Molecular biodiversity

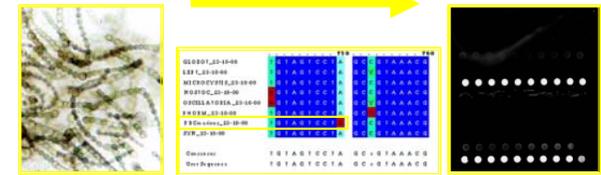
The objectives are to measure the molecular biodiversity of cyanobacteria using the rDNA operon and to follow cyanobacterial population dynamics for 2 years in lakes in Finland, Luxembourg, and Italy.

Alternative molecular markers will be tested on isolated cyanobacterial strains and one or two of these markers selected to measure genotypic diversity in samples from the participating countries.



DNA microarray

The demo microarray will be tested on strains and natural samples. After testing, new sets of oligonucleotides including interesting regions for selected markers and polymorphic regions for the new rRNA sequences will be selected and included in the final version of the microarray.



Morphological biodiversity

The objectives are to carry out and improve identification and quantification of cyanobacterial morphotypes. Such techniques are routinely used by water companies and environmental agencies in Europe. It is cheap and quite fast, but plagued by problems linked to morphological variability and the skill levels and experience of the observer. Incorrect identifications are probably frequent and cause ecological, biogeographical and toxicological confusion. This study is a unique opportunity for a phenotypic and genotypic study of cyanobacterial diversity, to critically assess the complementarity of techniques.

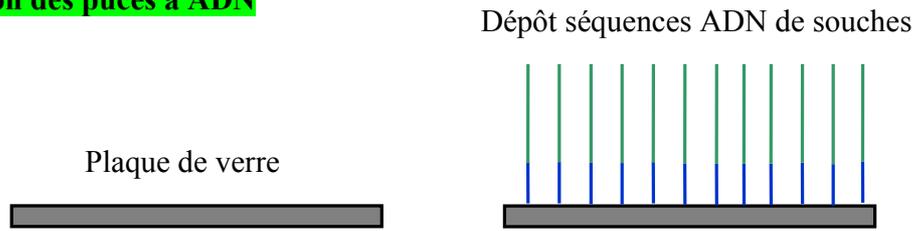
Biodiversity indices

Computer software has been developed to analyse data collected by a variety of bacteriological and molecular biological techniques to calculate microbial diversity. Suitable diversity indices have been identified for cyanobacteria in freshwater lakes. A database has been built to hold information on sample collection, environmental conditions and the results of morphological and molecular analyses.

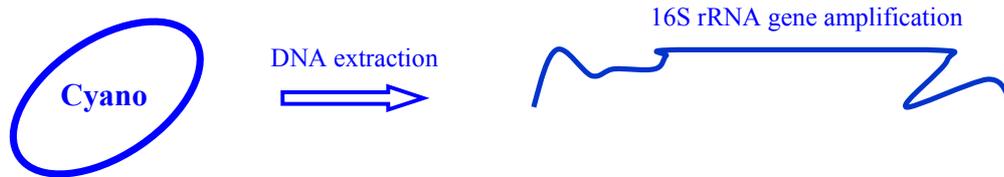
Fig. 7B : Le projet européen Midi-Chip : démarches scientifiques



1. Fabrication des puces à ADN



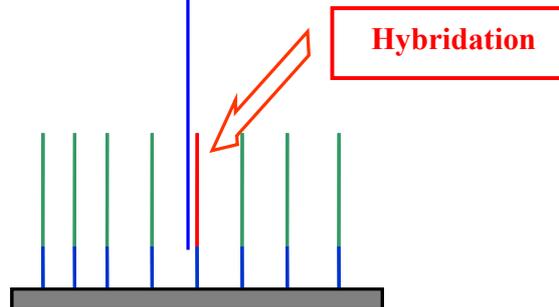
2. Amplifications du gène 16rRNA à partir d'échantillons environnementaux



3. Ajout d'une particule fluorescente aux amplicons



4. Hybridation



5. Lecture

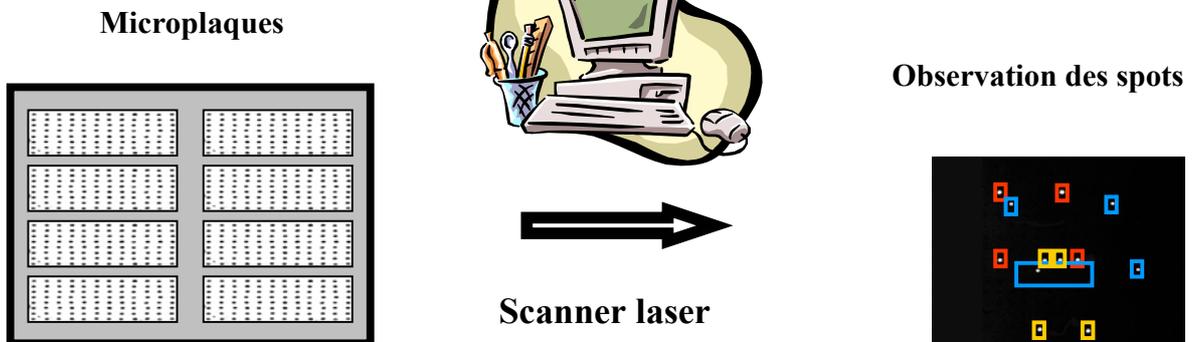


Fig. 8 : Principes et modes de fonctionnement des puces à ADN

2. Objectifs de l'étude

Ce travail, mené sur les cyanobactéries responsables d'efflorescences, résulte de la mise en commun de données obtenues dans le cadre des projets : Midi-Chip, MILOO et CYANOTOX.

Les spécificités du projet européen Midi-Chip ont été présentées au paragraphe 1.5.

Le projet MILOO, réalisé en partenariat avec l'administration de l'environnement luxembourgeoise, avait pour but l'évaluation de l'importance de la boucle microbienne dans le lac de barrage de la Haute-Sûre (Grand-Duché de Luxembourg). Outre la caractérisation des populations de protistes, cette étude portait également sur le suivi saisonnier des cyanobactéries toxigènes.

La recherche menée en Belgique et au Luxembourg dans le cadre du projet MILOO avait pour principaux objectifs :

- L'évaluation de la problématique liée aux efflorescences de cyanobactéries et l'établissement d'un inventaire floristique des genres rencontrés.
- La caractérisation de la dynamique des populations de cyanobactéries du lac de la Haute-Sûre (Grand-Duché de Luxembourg).
- La caractérisation des blooms hépatotoxiques sur base du dosage de 6 variantes de microcystine.
- La détermination des facteurs environnementaux conditionnant la prolifération et la dominance des cyanobactéries.

Le projet « CYANOTOX » fût le fruit d'une convention établie entre le centre de recherche publique – Gabriel Lippmann et l'Agence de l'eau Artois-Picardie. Cette recherche a permis d'évaluer l'ampleur des efflorescences de cyanobactéries toxigènes dans le bassin d'Artois-Picardie où peu de données, relatives à cette problématique, existaient.

Les objectifs du travail de recherche effectué étaient les suivants:

- la détermination de la dynamique saisonnière des populations de cyanobactéries du lac du Val Joly.
- la caractérisation du phytoplancton dominant les eaux stagnantes de plusieurs plans d'eau d'Artois-Picardie au cours de la période estivale. Un intérêt tout particulier a été consacré aux cyanobactéries toxigènes.
- la caractérisation écophysiological de souches cyanobactériennes.
- l'identification et la quantification des microcystines (hépatotoxines) lors d'efflorescences.
- l'évaluation de la toxicité des efflorescences par le biais de tests toxicologiques.

Les résultats obtenus devraient être intégrés dans les programmes de gestion durable de la qualité des eaux naturelles et permettre, à terme, de proposer une stratégie de lutte contre le développement massif des cyanobactéries afin d'éviter leur impact toxique sur les écosystèmes aquatiques, voire sur la santé publique.

3. Sites de prélèvement

3.1. Le bassin d'Artois-Picardie

3.1.1. Le Val Joly

Le lac du Val Joly a été créé en 1968 par la construction d'un barrage hydroélectrique établie sur la rivière Helpe majeure. Depuis le début des années 90, le plan d'eau est également devenu une aire récréative. En 1990-1992, une première étude sur « la qualité du lac du Val Joly » (Agence de l'eau Artois-Picardie - Bi-Eau) a révélé la dominance de cyanobactéries au cours de la période estivale. A cette période, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* et *Pseudanabaena* ont été décrits comme les genres dominants du phytoplancton. Une seconde étude ponctuelle (fin juillet et fin août 2000) ayant pour thème : « le screening des algues toxiques dans les plans et cours d'eau du bassin Artois-Picardie » (Agence de l'eau Artois-Picardie - Cesac) a démontré la présence de *Planktothrix agardhii*, espèce potentiellement toxique, au sein du lac du Val Joly.

Tenant compte de l'homogénéité relative des eaux du lac, deux points de prélèvements VJ3, en face de l'entrée du Vyon, et VJ5, plate-forme flottante en face de la base nautique, ont été retenus (Fig. 9).

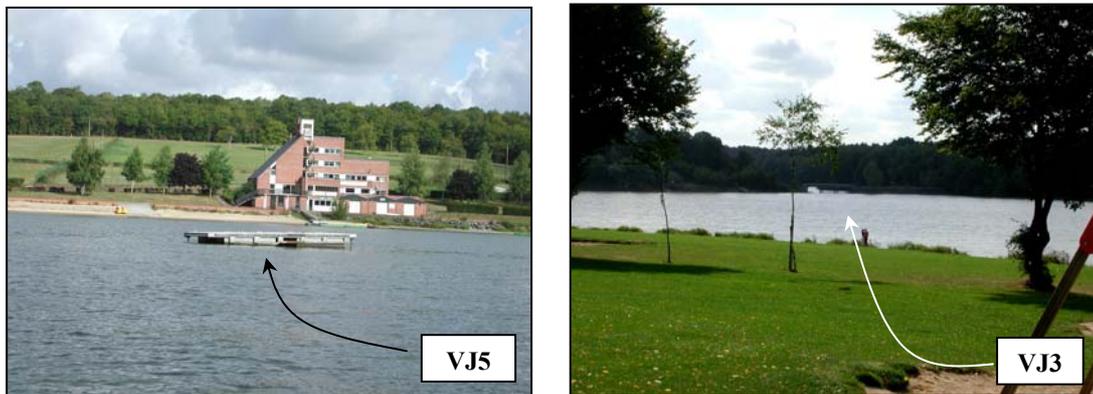


Fig. 9 : Localisation des 2 points de prélèvement (VJ5 et VJ3) du lac du Val Joly

3.1.2. Autres plans d'eau d'Artois-Picardie

3.1.2.a. Echantillons postaux

Suite à des phénomènes de coloration des eaux, plusieurs échantillons prélevés par l'Agence de l'Eau Artois-Picardie et par la Fédération du Nord pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique ont été envoyés au CRP-GL. Au total 43 échantillons de 27 sites différents ont été réceptionnés (Tab. 1). La localisation géographique de l'ensemble de ces sites de prélèvement est illustrée à la carte 1.

N°	Site	Date	Echantillons reçus
A	Lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque)	15-11-01	1 échantillon formolé
B	Traitoire Rieulay (Hasnon)	23-11-01	1 échantillon formolé

C	Etang privé Laval en Lannois (Laon)	05-05-02	1 échantillon fixé à l'alcool à brûler
D	Marcoing (Cambrai)	12-07-02	2 échantillons : 1 lugolé – 1 non fixé
E	Etang Aubers (Nord de La Bassée)	07-08-02	2 échantillons : 1 lugolé-1 non fixé
F	Marais de la Loge à Wandignies-Hamage (Marchiennes)	12-08-02	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
G	Etang privé (Vred)	29-06-03	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
H	Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	23-07-03	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
I	Anse de la pointe de sable/étang à voiles (Gamaches)	07-08-03	1 échantillon non fixé
J	Passe entre étang du stade et l'étang des 14 maisons (Gamaches)	07-08-03	1 échantillon lugolé
K	Fond étang du stade (Gamaches)	07-08-03	1 échantillon non fixé
L	Etang Saint-Sauveur (Bouvaincourt sur Bresle)	10-08-03	1 échantillon lugolé
M	Etang du marais Cantepie (Bouvaincourt sur Bresle)	10-08-03	1 échantillon lugolé
N	Etang de Famars	18-08-03	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
O	Etang à Saint-Saulve	22-08-03	1 échantillon lugolé
P	Roost-Varendin	22-08-03	1 échantillon lugolé
Q	Merville	25-03-04	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
R	Cantin (Douai)	09-06-04	2 échantillons : 1 lugolé - 1 non fixé
S	Etang n°100 site 1 (Sénarpont)	24-07-04	1 échantillon lugolé
T	Etang n°100 site 2 (Sénarpont)	24-07-04	1 échantillon lugolé
U	Etang communal n°109 (Guimerville)	24-07-04	1 échantillon lugolé
V	Etang communal n°110 (Guimerville)	24-07-04	1 échantillon lugolé
W	Etang communale n°136 (Neuville-Cappegueule)	24-07-04	1 échantillon lugolé
X	Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	03-08-04	3 échantillons : 1 lugolé - 2 non fixés
Y	Hautebut	17-08-04	1 échantillon lugolé
Z	Etang communal d'Authieule	05-09-04	2 échantillons lugolés
AA	Le Hable d'Ault	15-09-04	6 échantillons : 3 lugolés - 3 non fixés

Tab. 1 : Récapitulatif des échantillons reçus par courrier postal

3.1.2.b. Campagnes d'échantillonnage du 4-5 septembre 2002 et 2003 : prélèvements ponctuels dans des plans d'eau d'Artois-Picardie

De part leur intérêt pour la pêche ou les activités nautiques, d'autres lacs de la région Artois-Picardie ont été sélectionnés dans le cadre de la convention afin de déterminer la présence de cyanobactéries. Les sites échantillonnés sont présentés dans le tableau 2. Une photographie de chacun de ceux-ci, à l'exception des sites 14 et 15, est reprise à la figure 10. De plus, la localisation géographique de l'ensemble des sites étudiés est illustrée sur la carte 1.

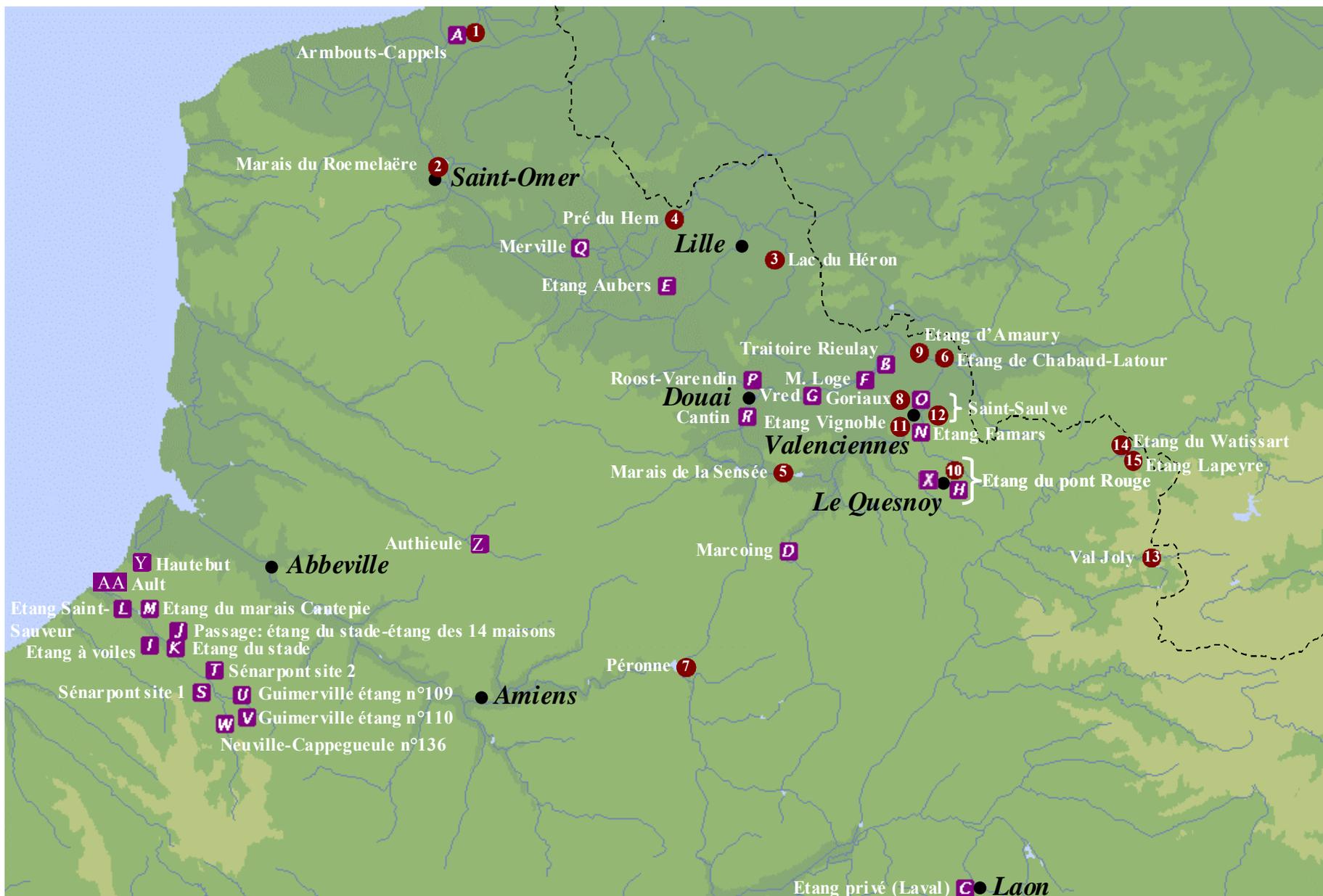
N°	Site	Date de prélèvement
----	------	---------------------

		2002	2003
1	Lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque)	04-09-02	04-09-03
2	Marais du Romelaère (Clairmarais)	04-09-02	04-09-03
3	Lac du Héron (Villeneuve-d'Ascq)	04-09-02	04-09-03
4	Pré du Hem (Armentières)	04-09-02	04-09-03
5	Marais de la Sensée (Aubigny-au-Bac et Fressies)	05-09-02	04-09-03
6	Etang de Chabaud-Latour (Condé/Escaut)	05-09-02	05-09-03
7	Péronne (Haute-Somme)	-	05-09-03
8	Mare à Goriaux (Raismes)	05-09-02	05-09-03
9	Etang d'Amaury (Vieux-Condé)	05-09-03	05-09-03
10	Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	05-09-02	05-09-03
11	Etang du Vignoble (Valenciennes)	-	05-09-03
12	Etang du centre de loisirs Fortier (Saint-Saulve)	-	05-09-03
13	Val Joly	Bimensuel au cours de l'été	
14	Etang du Watissart	22-08-02	-
15	Etang Lapeyre	22-08-02	-

Tab. 2 : Pièces d'eau échantillonnées lors des campagnes Artois-Picardie de septembre 2002 - 2003



Fig. 10 : Photographies des 12 plans d'eau échantillonnés lors des campagnes Artois-Picardie du 4-5 septembre 2002
– 2003 (les numéros renvoient au tableau 2)



Carte 1 : Localisation des sites de prélèvements du bassin d'Artois-Picardie
 (les lettres correspondent aux échantillons postaux, les nombres aux échantillons récoltés lors des campagnes de prospection 2002-2003)

3.2. Efflorescences de cyanobactéries du sud-est de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg et du nord-est de la France

3.2.1. Le lac de la Haute-Sûre ou lac d'Esch-sur-Sûre (Grand-Duché de Luxembourg)

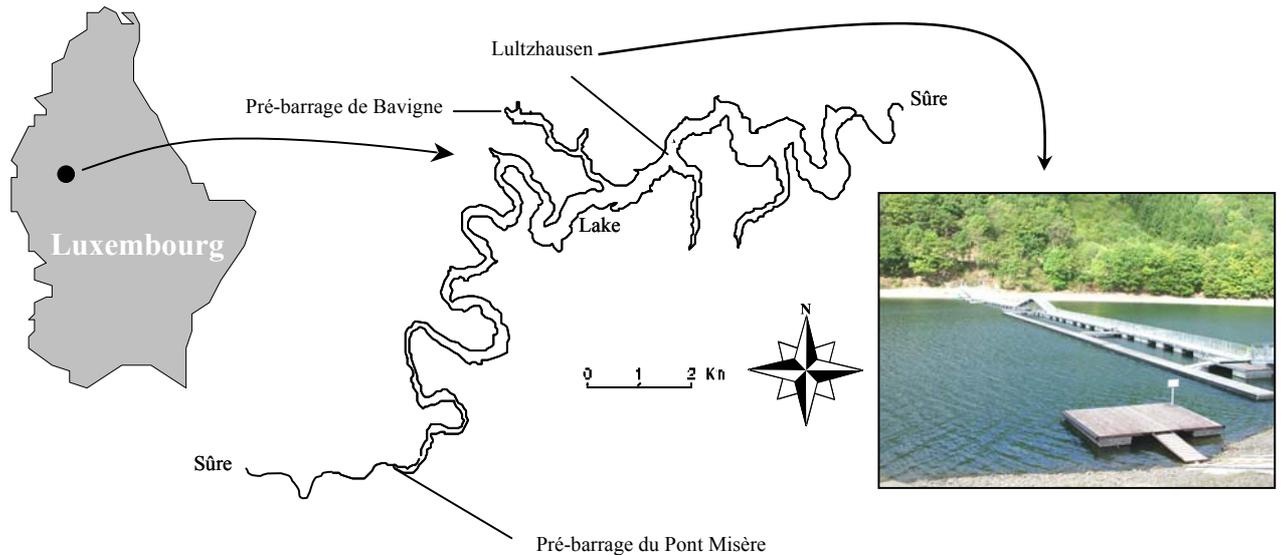


Fig. 11 : Localisation du lac de barrage de la Haute-Sûre et de la station d'échantillonnage (photo de la station de Lultzhausen)

Le lac de barrage de la Haute-Sûre se situe dans les Ardennes luxembourgeoises, région composée de vallées étroites aux versants boisés. Ce barrage a de multiples utilisations. En effet, il remplit quatre fonctions bien distinctes qui, par ordre décroissant d'importance, sont :

1. la production d'eau potable
2. les activités touristiques
3. la production d'énergie
4. la régulation du débit de la Sûre

La décision de construire le barrage de la Haute-Sûre émane de la loi du 24 juin 1953 autorisant le Gouvernement à réaliser l'aménagement hydro-électrique de la Haute-Sûre en amont d'Esch-sur-Sûre.

Les travaux de construction ont débuté en 1955 et le premier remplissage a été réalisé en 1959, soit 4 années plus tard.

Caractéristiques du lac de la Haute-Sûre	
Débit moyen de la Sûre à l'entrée du lac :	6,6 m ³ /s
Surface du bassin versant :	428 km ²
Longueur des berges :	42 km
Profondeur maximale :	46 m
Profondeur moyenne :	17 m
Altitude au pied du barrage :	320 m
Surface :	3,2 km ²
Volume :	55.10 ⁶ m ³

Tab. 3 : Quelques caractéristiques morphométriques et hydrologiques du lac de la Haute-Sûre

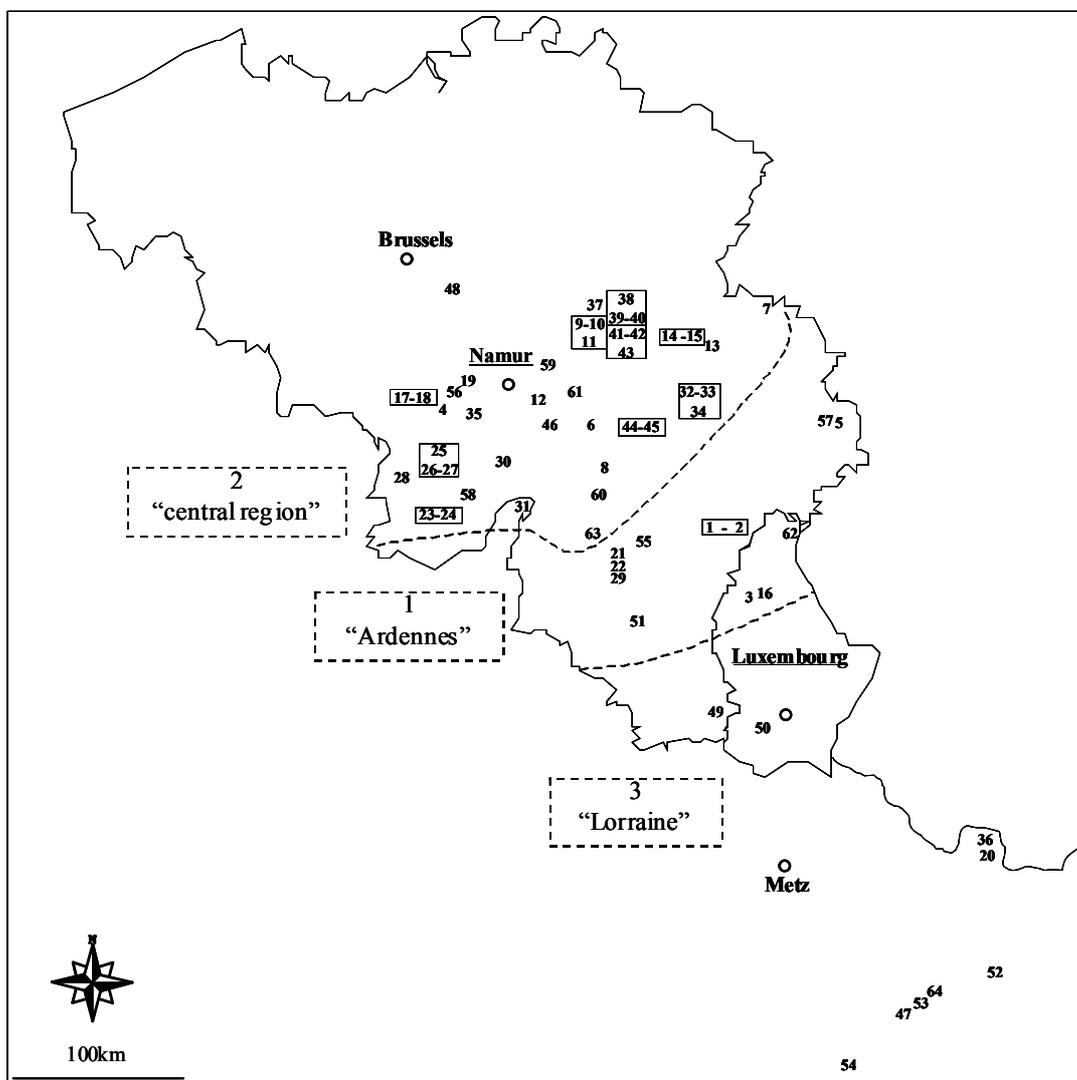
Les échantillons sont prélevés au niveau de la passerelle flottante (Fig. 11), à hauteur de la base nautique de Lultzhausen. La profondeur atteinte à cette station est de l'ordre de 30 m (Tab. 3). Celle-ci varie sensiblement au cours de l'année en fonction des régulations effectuées au barrage.

3.2.2. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français

Au cours des périodes estivales et automnales 1997, 1999-2001, des échantillons d'efflorescences ont été récoltés dans différents plans d'eau du sud de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg et de quelques étangs du nord-est de la France. L'ensemble des informations relatif à ce travail est repris dans la publication de Willame et al. (sous presse).

Plus de 250 plans d'eau ont été visités, parfois à plusieurs reprises. Au total, 64 échantillons de 49 stations différentes où des proliférations massives de cyanobactéries ont été observées, ont été récoltés. Ces différentes stations sont listées dans le tableau 4.

Les plans d'eau échantillonnés sont diversifiés puisqu'ils comprennent des masses d'eau relativement profondes et/ou étendues ainsi que des stations peu profondes et/ou de surface réduite. La localisation des différents plans d'eau est illustrée sur la carte 2.



Carte 2 : Localisation géographique des différentes stations de prélèvement. Les carrés incluant plusieurs nombres correspondent à des stations échantillonnées à plusieurs reprises

N°	Localization	Sampling date	Type of water bodies	Use	Trophic level	Dominant cyanobacteria
1	Aux Quatres-Chemins (Beho-Houffalize) BEL	28/08/1997	Pond	None	Eutrophic	<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>
2		12/09/2000				<i>Microcystis ichtyoblabe</i>
3	Bavigne-Beivenerbaach LUX	26/09/2001	Pre-dam	Pre-dam	Mesoeutrophic	<i>Anabaena planctonica</i>
4	Bomerée (Mont-sur-Marchienne) BEL	09/09/1999	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
5	Bütgenbach (Bütgenbach) BEL	04/10/2000	Lake	Recreational activities	Eutrophic	<i>Woronichinia naegeliana</i>
6	Château de Barvaux-Condroz (Havelange) BEL	30/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Anabaena smithii</i>
7	Château de Graaf (Montzen-Plombières) BEL	21/08/1997	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
8	Château de Hogne (Somme-Leuze) BEL	31/08/1999	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Woronichinia naegeliana</i>
9	Château de Jehay (Amay) BEL	22/09/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Anabaena spiroides</i>
10		23/07/1999				Coiled <i>Anabaena</i>
11		11/08/2000				<i>Planktothrix agardhii</i>
12	Château de la Neuve-Cour (Florée-Gesves) BEL	20/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Woronichinia naegeliana</i>
13	Château de Wégimont (Soumagne) BEL	13/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>
14	Clinique N-D des Bruyères (Grivegnée-Liège) BEL	11/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>
15		21/08/2000				<i>Woronichinia naegeliana</i>
16	Esch-sure-Sûre LUX	03/10/2000	Reservoir	Drinking-water	Mesoeutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
17	Etang de l'ancienne Abbaye d'Aulne (Charleroi) BEL	09/09/1999	Pond	Fishery	Hypereutrophic	Coiled <i>Anabaena</i>
18		24/08/2000				Coiled <i>Anabaena</i>
19	Etang Michaux (Charleroi) BEL	25/08/2000	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i> / <i>Anabaena compacta</i>
20	Etang rouge (Insuviller-Moselle) FR	06/09/2000	Pond	None	Eutrophic	<i>Microcystis aeruginosa</i>
21	Etangs de Robaiwé I (Saint-Hubert) BEL	15/09/2000	Pond	Recreational activities	Hypereutrophic	<i>Microcystis</i> sp.
22	Etangs de Robaiwé II (Saint-Hubert) BEL	15/09/2000	Pond	None	Mesoeutrophic	<i>Microcystis</i> sp.
23	Etangs de Virelles (Chimay) BEL	05/09/1997	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Anabaena spiroides</i>
24		25/08/2000				Coiled <i>Anabaena</i>
25	Féronval (L'Eau d'heure-Philippeville) BEL	05/09/1997	Lake	Pre-dam Recreational activities	Hypereutrophic	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
26		10/09/1999				<i>Woronichinia naegeliana</i> / <i>Planktothrix agardhii</i> / <i>Aphanizomenon</i> sp.
27		24/08/2000				<i>Woronichinia naegeliana</i>
28	Fourbechies (Froid-Chapelle) BEL	25/08/2000	Pond	Livestock reservoir	Hypereutrophic	<i>Microcystis</i> sp.
29	Freux (Saint-Hubert) BEL	15/09/2000	Pond	None	Mesoeutrophic	Coiled <i>Anabaena</i>
30	Ftère (Serville) BEL	31/08/2000	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>

Tab. 4 : Stations de prélèvement (BEL : Belgique- LUX : Luxembourg – FR : France)

N°	Localization	Sampling date	Type of water bodies	Use	Trophic level	Dominant cyanobacteria
31	Givet (Ardennes) FR	31/08/2000	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Planktothrix rubescens</i>
32	Gomzé-Andoumont (Sprimont) BEL	07/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
33		23/07/1999				<i>Microcystis wesenbergii</i> / <i>Planktothrix agardhii</i>
34		25/08/2000				<i>Microcystis wesenbergii</i>
35	Hanzinne (Florennes) BEL	02/09/1999	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Aphanizomenon</i> sp.
36	Hoste (Moselle) FR	06/09/2000	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Aphanizomenon</i> sp.
37	Jehay étang inférieur (Amay) BEL	11/08/2000	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
38	Jehay étang moyen (Amay) BEL	03/09/1997	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Microcystis aeruginosa</i>
39		30/08/1999				<i>Planktothrix agardhii</i>
40		11/08/2000				<i>Planktothrix agardhii</i>
41	Jehay étang supérieur (Amay) BEL	03/09/1997	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Microcystis</i> cf. <i>flos-aquae</i>
42		30/08/1999				<i>Microcystis flos-aquae</i> / <i>Planktothrix agardhii</i>
43		11/08/2000				<i>Planktothrix agardhii</i> / <i>Limnothrix redekei</i>
44	La Basse-à-l'eau (Filot-Hamoir) BEL	12/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Microcystis wesenbergii</i> / <i>Microcystis flos-aquae</i>
45		02/08/1999				<i>Microcystis wesenbergii</i> / <i>Microcystis flos-aquae</i>
46	La carpe bocqueuse (Hamois) BEL	25/08/1997	Pond	Fishery	Eutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
47	Lindre FR	06/09/2000	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i> / <i>Aphanizomenon</i> sp.
48	Louvain-la-Neuve (Ottignies) BEL	15/09/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Microcystis</i> sp.
49	Messancy BEL	28/09/2001	Pond	Fishery	Eutrophic	Straight <i>Anabaena</i>
50	Mettendall LUX	28/09/2001	Pond	None	Eutrophic	<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>
51	Neufchâteau BEL	15/09/2000	Pond	Fischery	Eutrophic	<i>Microcystis aeruginosa</i>
52	Niederstintel (Moselle) FR	06/09/2000	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i> / <i>Anabaena spiroides</i>
53	Nolweilher (Moselle) FR	06/09/2000	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
54	Parroy (Meurthe et Moselle) FR	06/09/2000	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
55	Pêcherie du moulin des trois ponts (Saint-Ode) BEL	03/08/1999	Pond	Fishery	Hypereutrophic	Coiled <i>Anabaena</i>
56	Pêcherie du Poisson rouge (Charleroi) BEL	24/08/2000	Pond	Fishery	Hypereutrophic	<i>Planktothrix agardhii</i>
57	Robertville (Waimes) BEL	18/08/1997	Reservoir	Drinking-water	Eutrophic	<i>Microcystis aeruginosa</i>
58	Roly (Philippeville) BEL	05/09/1997	Pond	Nature conservation	Hypereutrophic	<i>Anabaena spiroides</i> / <i>Anabaena affinis</i>
59	Seilles (Andenne) BEL	04/09/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Romeria gracilis</i>
60	Serinchamps (Ciney) BEL	30/08/1997	Pond	None	Hypereutrophic	<i>Microcystis</i> sp.

Tab. 4 (suite) : Stations de prélèvement (BEL : Belgique- LUX : Luxembourg – FR : France)

4. Matériels et méthodes

4.1. Echantillonnages

Au Val Joly, la fréquence des prélèvements effectués en 2002-2003 était bihebdomadaire dès la fin du mois de juin jusqu'à la mi-novembre.

Dans le bassin d'Artois-Picardie, 23 prélèvements ponctuels de 14 plans d'eau ont été effectués au cours des campagnes d'échantillonnage du 4 et 5 septembre 2002 et 2003.

La fréquence d'échantillonnage du lac de la Haute-Sûre était hebdomadaire durant la période de stratification thermique et mensuelle en dehors de celle-ci.

Durant la période de mélange, 1 pool d'échantillons, composé d'eau prélevée par intervalle d'un mètre (de 0 jusqu'à 10 m) était réalisé à l'aide d'une bouteille de Rutner. Lorsque le lac était stratifié, un pool correspondant à l'épilimnion était effectué en prélevant un échantillon tous les mètres.

Au cours des étés 1997-1999-2000-2001, 64 échantillons d'efflorescences ont été recueillis dans la zone de prospection incluant le sud de la Belgique, le Luxembourg et le nord-est de la France.

Lors de chaque campagne d'échantillonnage, différents prélèvements d'eau ont été effectués dans le but de définir plusieurs paramètres abiotiques (physico-chimiques) et biotiques (biologiques). La nature de ces différents prélèvements ainsi que les analyses réalisées sur ceux-ci sont détaillées dans le tableau 5.

4.2. Analyses physico-chimiques

Le dosage du **phosphore total (PT)** a été effectué par la minéralisation à l'autoclave de l'eau brute selon le protocole tiré du Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (19^e édition, 1995). Les concentrations en phosphore ont été déterminées en colorimétrie selon le protocole de Murphy et Riley (1962). Elles sont exprimées en PO₄-P.

Le dosage des **orthophosphates** a été réalisé selon le même protocole mais sur des échantillons préalablement filtrés.

L'**azote ammoniacal** a été dosé par la méthode au bleu d'indophénol, protocole tiré du Rodier (Rodier 1996), norme AFNOR N° 90015. L'ammonium est exprimé en NH₄-N.

Les nitrates et nitrites ont été analysés par chromatographie ionique, de même que les sulfates et les chlorures, sur colonnes Dionex IONPAC AS et AG 12 A, sous la norme AFNOR N° T 90-042. Les nitrates sont exprimés en NO₃-N et les nitrites en NO₂-N.

L'**azote total (TN)** correspond à la somme des concentrations en nitrates, nitrites et azote ammoniacal.

Les concentrations en **silicium** exprimées en SiO₂ ont été déterminées en colorimétrie par la méthode du molybdate d'ammonium (Rodier 1996).

La **demande biologique en oxygène (DBO₅)** est estimée par la mesure de l'oxygène dissous à l'aide d'un oxymètre à microprocesseur Oxi539 (WTW) avant et après 5 jours d'incubation à 20 °C dans l'obscurité.

La demande chimique en oxygène (DCO) est mesurée selon la méthode de digestion (Reactor Digestion) suivant la procédure d'analyse HACH (0-150 ppm) à l'aide d'un spectrophotomètre DR/2000 (HACH).

La chlorophylle-a est extraite dans l'acétone et ensuite dosée en HPLC suivant le protocole de Descy *et al.* (1999).

Echantillons	Analyses	1	2	3	4
Eau brute	DCO	X			
	DBO ₅	X			
	Phosphore total	X	X	X	X
Eau brute lugolée (4 %)	Densité phytoplancton (comptages)	X		X	
Eau filtrée (filtre en fibre de verre)	Dosages anions	X	X	X	X
	Dosages cations				X
	Chlorophylle-a	X	X	X	
Echantillon concentré (filet à plancton 10 µm) Fixé au formaldéhyde (4 %)	Identifications phytoplancton	X	X	X	X
	Estimation des densités relatives		X		X
Echantillon concentré (filet à plancton 10 µm)	Mise en culture des cyanobactéries	X	X	X	X
Biomasse lors d'efflorescence	Analyse toxicologique (hépatotoxine)	X	X	X	X
Eau filtrée - filet à plancton 50 µm (fixé au formaldéhyde 4 %)	Comptages et identifications du métazooplancton			X	
Eau brute fixée au glutaraldéhyde 1 %	Comptages et identifications des nanoflagellés hétérotrophes			X	
Eau brute fixée au chlorure de mercure 2.5 %	Comptages et identifications des protistes ciliés			X	
Eau brute fixée au glutaraldéhyde 2 %	Comptages du bactérioplancton			X	
Mesure <i>in situ</i>	Paramètres	1	2	3	4
Multisonde (Hydrolab)	Température	X	X	X	X
	pH	X	X	X	X
	cc. et saturation O ₂ dissous	X	X	X	X
	Conductivité	X	X	X	X
Prof. de disparition du disque de Secchi	Transparence	X	X	X	
Paramètres météorologiques et hydrologiques	Int. lumineuse, temp. air, niveau du lac, débit de la Sûre			X	

Tab. 5 : Echantillons prélevés, analyses physico-chimiques et mesures *in situ* des paramètres biotiques et abiotiques pris en compte dans le cadre de cette étude (x : mesure effectuée)

1 : Lac du Val Joly - 2 : Autres plans d'eau d'Artois-Picardie - 3 : Lac de la Haute-Sûre

4 : Autres plans d'eau belges-luxembourgeois-français

4.3. Paramètres biotiques

4.3.1. Identifications et comptages du phytoplancton

Le phytoplancton présent dans les échantillons recueillis a été déterminé à l'aide d'un microscope Leitz Laborlux D. Ces identifications ont été faites presque exclusivement par le biais d'un objectif à immersion 100x.

De nombreux ouvrages algologiques ont été consultés afin de réaliser les identifications. Les plus fréquemment consultés sont les suivants : Freshwater algae (Lund & Lund 1995), Les algues d'eau douce (Bourrelly 1985), Das Phytoplankton des Süßwassers (Komárek & Fott 1983), Cyanophyceae (Geitler 1932),...

Les déterminations relatives aux cyanobactéries ont été réalisées à partir d'une multitude d'ouvrages traitant spécifiquement de ces organismes (Anagnostidis & Komárek 1988; Desikachary 1959; Geitler 1932; Komárek & Anagnostidis 1989; Cronberg & Komárek 1994,...).

Les comptages ont été réalisés selon la méthode d'Utermöhl (Utermöhl 1958) à l'aide d'un microscope inversé (Leitz Labovert FS) ainsi que de chambres à sédimentation.

Pour ce faire, 25 ml d'eau brute (conservée dans du lugol) sont placés dans une chambre à sédimentation après avoir été comprimés à l'aide d'un piston. Cette manipulation est réalisée dans le but d'écraser les vésicules gazeuses (aérotopes) qui pourraient limiter la sédimentation de certaines cyanobactéries. La matière en suspension (algues et autres particules) sédimente durant une période minimale de 24 h. A l'expiration de celle-ci, les comptages sont effectués sur 20 champs à l'aide d'un objectif 40x.

4.3.2. Identifications et comptages du métazooplancton, du protozooplancton et du bactérioplancton

Le comptage du métazooplancton est effectué à l'aide d'un microscope inversé et de chambres de sédimentation. Au minimum 200 individus sont comptabilisés.

Les comptages de ciliés sont réalisés selon la technique d'Utermöhl à l'aide d'un microscope inversé. Au moins 300 ciliés sont comptés.

Le comptage des HNF se fait à partir de membranes en polycarbonate noir (0.8 µm de porosité) après une coloration à la primuline. Au minimum 300 cellules sont comptées en épifluorescence (excitation: 340-380 nm, émission > 430 nm).

Le bactérioplancton est coloré par de l'acridine orange et filtré sur des membranes noires de 0.2 µm de porosité. Au moins 500 cellules sont recensées en épifluorescence (excitation: 450-490 nm, émission > 515 nm).

4.4. Isolements de souches de cyanobactéries récoltées dans le bassin d'Artois-Picardie

Chaque fois que la présence de cyanobactéries a été mise en évidence dans les prélèvements réalisés ainsi que dans les échantillons postaux, non-fixés, envoyés au CRP-GL, des tentatives d'isolement ont été faites en utilisant différents milieux de culture synthétiques. Ainsi, dans le but d'isoler une large diversité de spécimens quatre milieux ont été utilisés : BG₁₁₀ - BG₁₁- Z₈- Z_{8x} (Kotai 1972; Rippka et al. 1979).

A l'inverse des deux autres milieux de culture, les milieux BG₁₁₀ et Z_{8x} sont des milieux dépourvus de nutriments azotés. Ces milieux sont exclusivement utilisés pour l'isolement des cyanobactéries hétérocystées qui, grâce à leur faculté à fixer l'azote atmosphérique, peuvent plus facilement dominer les autres algues. Leur composition est respectivement identique à celle du milieu BG₁₁ et Z₈, exception faite du NaNO₃ qui est remplacé par de l'eau.

Le pH de ces milieux est ajusté à 8 avant autoclavage. Les milieux de culture sont autoclavés, durant 20 min., à 120 °C et à une pression de 1,1 kg/cm².

Les cultures unialgales se réalisent en milieux liquides dans des boîtes stériles pour culture tissulaire contenant 10 ml de milieu. Ces boîtes sont fermées de manière non hermétique par un bouchon pourvu d'un filtre de porosité de 0,2 µm.

Des milieux solides sont également réalisés en ajoutant, avant autoclavage, 10 % d'agar aux milieux liquides. Ceux-ci serviront exclusivement dans les étapes de purification.

Afin d'obtenir une culture monoalgale, plusieurs techniques sont employées :

Utilisation de cycloheximide

100 mg de cycloheximide par litre de milieu de culture, ajoutés à celui-ci après autoclavage sont suffisants pour supprimer la plupart des eucaryotes. L'ajout se fait stérilement par le biais d'une seringue pourvue d'un Acrodisc de 0,2 µm de porosité.

Utilisation de milieux de culture solides

Quelques gouttes d'échantillon à purifier sont étalées sur le milieu solide. Après plusieurs semaines de croissance, les colonies et/ou les filaments de cyanobactéries peuvent former des « spots » plus ou moins isolés. L'utilisation d'une loupe binoculaire permet le transfert de ceux-ci sur un milieu frais.

En répétant ces manipulations plusieurs fois, les souches peuvent être rendues monoalgales et sont alors repiquées en milieu liquide.

Purification « macroscopique »

Alors que la plupart des algues sédimentent (exception faite des algues flagellées), beaucoup de cyanobactéries planctoniques, elles, possèdent des vésicules gazeuses leur permettant de se maintenir à la surface des milieux de culture liquide.

Ce type de purification consiste simplement à prélever les algues se trouvant à la surface de la culture liquide à purifier et à les repiquer dans du milieu frais liquide. Après plusieurs manipulations de ce type, de bons résultats sont généralement obtenus.

Purification par la « technique des bains »

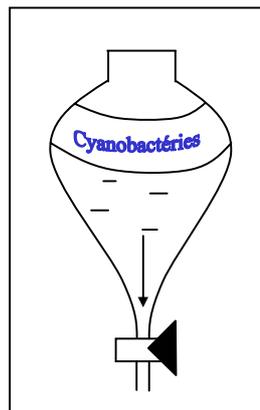
Cette technique consiste à « laver » les cyanobactéries dans une série de 4 puits d'une boîte Nuclon contenant du milieu de culture approprié. On transfère quelques microlitres de culture mère dans le premier puit. A l'aide d'une loupe binoculaire et d'une pipette pasteur effilée et stérile, on y prélève quelques filaments et / ou colonies. Ceux-ci sont transférés dans un second puit. On répète cette manipulation trois fois minimum. Ensuite, on transfère les quelques filaments et / ou colonies « lavés » dans le dernier puit contenant ± 2 ml de milieu synthétique stérile. Quelques semaines plus tard, on vérifie si la culture est bien monoalgale.

L'ensemble des manipulations concernant les repiquages et la purification des souches est réalisé sous une hotte à flux laminaire afin d'éviter toute contamination des cultures. Le matériel nécessaire à ces manipulations (pipettes pasteur, fil de platine,...) est stérilisé (soit par autoclavage, soit par passage à la flamme).

4.5. Dosages par HPLC des microcystines (hépatotoxines)

Lorsque la biomasse algale était importante, c'est-à-dire, lors d'efflorescences (blooms), les cyanobactéries ont été récoltées à l'aide d'un filet à plancton d'une maille de 10 μm . De retour au laboratoire, la biomasse cyanobactérienne a été concentrée par le biais d'une ampoule à décanter. Ainsi, après quelques heures deux phases étaient obtenues. La phase supérieure contenait majoritairement des cyanobactéries (puisque les cyanobactéries responsables d'efflorescences ont la possibilité de flotter grâce à la présence de vésicules gazeuses intracellulaires) à l'opposé, la fraction inférieure ne contenait pas ou peu de cyanobactéries (Fig. 12). Après congélation, la fraction supérieure des échantillons a été lyophilisée et stockée à -20 °C.

Fig. 12 : Ampoule à décanter utilisée en vue de concentrer la biomasse algale en soustrayant la fraction inférieure pauvre en cyanobactéries.



Les microcystines (cyanotoxines) ont été quantifiées par HPLC (Agilent 1100 series, Waldbronn, Germany) à l'aide d'une pompe quaternaire, d'un échantillonneur automatique et d'un compartiment thermostaté incluant la colonne de séparation de type Merck Purospher Star RP-18e (55 x 4 mm ; 3 µm). Cette méthode analytique permet l'identification et la quantification de microcystines jusqu'à une limite de détection de l'ordre du nanogramme. L'ensemble des extractions de microcystines ont été effectuées en utilisant du méthanol (100 %).

Le gradient de la phase mobile était composé de H₂O + 0.05 % d'acide trifluoroacétique (TFA) (éluant A) et d'acétonitrile + 0.05 % TFA (éluant B). Le gradient linéaire était le suivant : 25 % B à 0 min, 70 % B à 5 min, 70 % B à 6 min, 25 % B à 6 min. Le volume d'échantillon injecté était de 20 µl, le débit de 1 ml/min et la température de la colonne fixée à 40 °C. Trois variantes de microcystines incluant la MC-LR, la MC-RR et la MC-YR ont été identifiées par le biais de standard. La détection de celles-ci a été réalisée entre 200 et 300 nm.

4.6. Tests écophysiologicals sur trois souches de cyanobactéries responsables d'efflorescences

Trois souches représentatives des genres de cyanobactéries responsables de fleurs d'eau en Artois-Picardie ont été choisies afin de définir les conditions environnementales favorisant leur développement. Pour ce faire, la croissance d'une souche d'*Aphanizomenon* (souche : 3VJS2), de *Microcystis* (souche : 3PES1) et de *Planktothrix* (souche : 3VJS1) a été déterminée à 16 °C et 21 °C dans trois types de milieu différent. Les trois types de milieu utilisés dérivent du milieu BG₁₁. Seules les concentrations et la nature des composés azotés (50 % d'azote sous forme d'ammonium – 50 % sous forme de nitrate) ainsi que les concentrations en phosphates ont été modifiées. Ainsi, des concentrations en N-P de 250 000-10 000 µg/l (rapport N/P : 25), 1 000-10 000 µg/l (rapport N/P : 0.1) et de 250 000-250 µg/l (rapport N/P : 1000) ont été testées. Les températures choisies (16 °C et 21 °C) correspondent à celles enregistrées au Val Joly en 2003 lors des 2 pics de densité de cyanobactéries (1^{er} pic : *Aphanizomenon* 28-8 à 21 °C; 2^{ème} pic : *Planktothrix* 25-9 à 17 °C).

Les 3 combinaisons de concentrations en N et en P : 250 000-10 000 µg/l, 1 000-10 000 µg/l, 250 000-250 µg/l testées reflètent respectivement des conditions de croissance pour lesquelles l'azote et le phosphore sont en excès, des conditions de croissance limitées par des carences en N d'une part, et en P d'autre part. La densité de 50 cellules par ml a été utilisée comme inoculum pour chacune des souches.

Le cycle jour-nuit était de 16-8 heures. Le PAR (photosynthetic active radiations) de 50 ± 5 mmol/m².s (Sylvania, OSRAM GmbH, Munich, Germany, Gro-Lux fluorescent lamps).

L'ensemble du protocole expérimental est repris à la figure 13.

Une culture mère (culture d'ensemencement) est tout d'abord réalisée pour chacune des souches en utilisant du milieu BG₁₁. Après un développement minimum de 25 jours, cette culture mère est filtrée à l'aide d'un filet à plancton de 10 µm de maille. La biomasse récoltée sur ce filet est rincée trois fois à l'aide de milieu BG₁₁ exempt de composés azotés et phosphorés (N-P free). La biomasse rincée est utilisée comme inoculum pour l'ensemencement d'un litre de milieu BG₁₁ N-P free. La culture est maintenue durant trois jours dans les conditions de l'expérience postérieure, c'est-à-dire à 16 ou 21 °C. Les cyanobactéries étant capables de stocker le phosphore (sous forme de granules de polyphosphate) et l'azote (granules de cyanophycine), cette étape permet la consommation des réserves qui peuvent biaiser l'allure de la courbe de croissance

(essentiellement pour les milieux limitants). Au bout des trois jours d'incubation, un comptage est effectué en vue de définir une densité d'incubation commune aux différents milieux (50 cellules par ml). 100 ml sont utilisés pour ensemercer chaque bouteille Schott de 2 litres. Un duplicat est réalisé pour chaque concentration testée. Des prélèvements de 40 ml ont été effectués au temps : T3-T6-T9-T14-T20. La détermination de la densité, selon la méthode d'Utermöhl, se fait à partir d'un échantillon résultant de la combinaison d'un même volume de chacun des duplicats. Une illustration du matériel expérimental utilisé dans le cadre de ces tests est reprise à la figure 14.

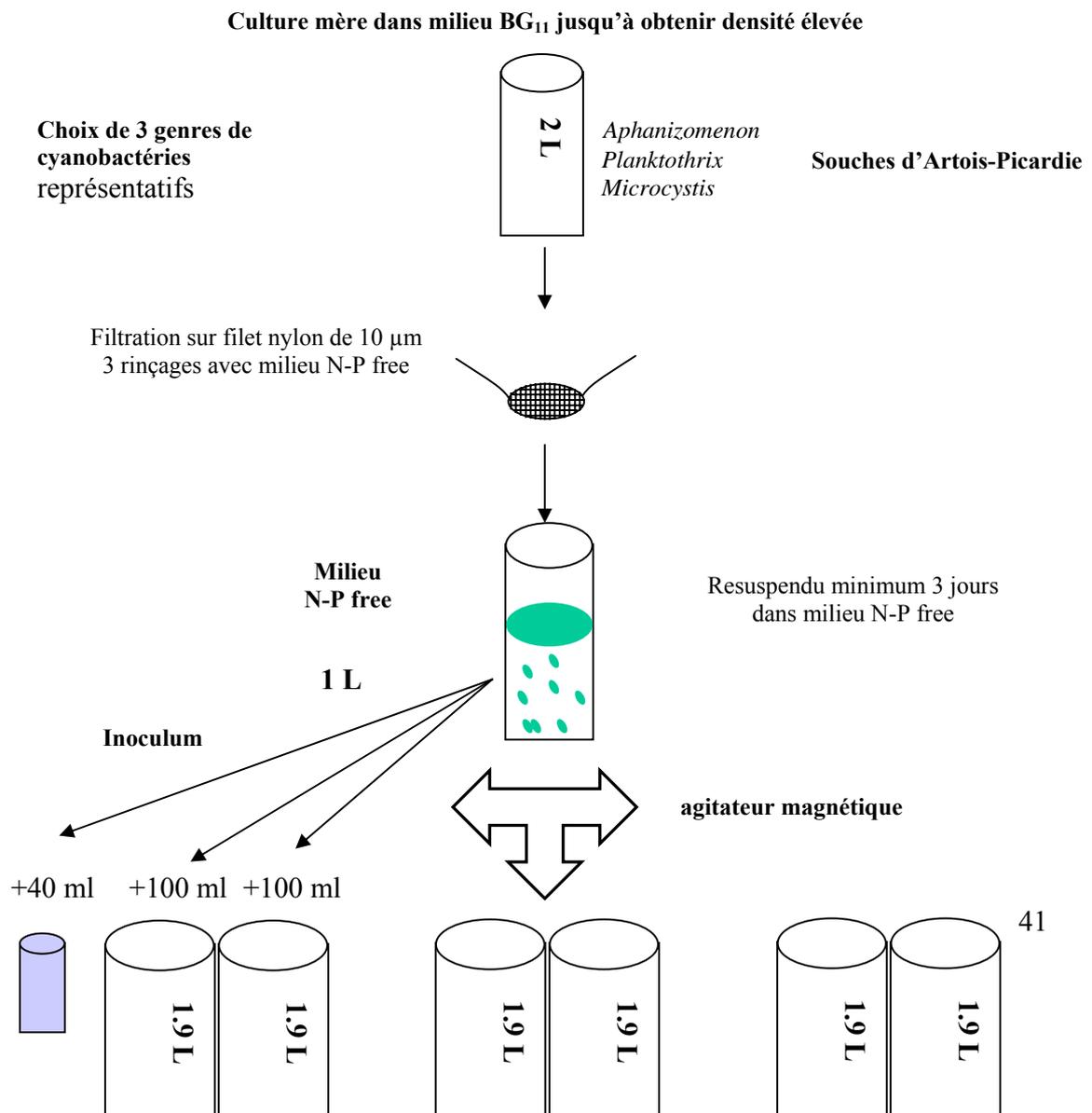


Fig. 13: Protocole expérimental utilisé lors des tests écophysologiques pour chacune des trois souches testées



Fig. 14 : Incubateur et cultures utilisés dans le cadre des tests écophysologiques

4.7. Tests de EC₅₀ - 24 h sur *Daphnia magna* (Cladocera, Crustacea) en vue de déterminer la toxicité aiguë d'efflorescences de cyanobactéries prélevées en Artois-Picardie

Les extraits bruts de cyanotoxines sont obtenus par extraction méthanolique des différents échantillons de blooms lyophilisés.

Le laboratoire dispose d'un élevage de *Daphnia magna* Straus (fig.15). Cette espèce est largement utilisée dans les tests de toxicité aquatiques (tests d'immobilité 24 ou 48 heures OCDE 202 et ISO 6341 ou tests de reproduction OCDE 202 et ISO 10706). Les animaux utilisés pour les tests sont âgés de moins de 24 heures et sont de troisième génération au moins. Ils sont obtenus par parthénogenèse acyclique. Ces critères répondent majoritairement aux conditions imposées par les normes OCDE et ISO concernant les tests de toxicité aiguë (méthodes OCDE 202 (1981) et ISO 6341 (1996)). Les différentes dilutions testées sont effectuées en utilisant de l'eau de Volvic. Cette eau a été choisie car sa composition est conforme aux critères de qualité imposés par la procédure ISO.

Des tests de toxicité de 24 h ont été réalisés après validation au moyen d'une substance ($K_2Cr_2O_7$) dont la toxicité à leur égard est connue (substance de référence), comme préconisé par la norme OCDE 202 notamment. Pour les Daphnies les concentrations utilisées étaient les suivantes : 0.056-0.1-0.18-0.32-0.56 mg/l.

Le test de toxicité a été réalisé à partir de l'échantillon brut de cyanotoxines sur les daphnies exposées durant 24 heures (20 °C ; obscurité) à des dilutions successives de cet échantillon. Après extraction des cyanotoxines, les extraits bruts sont placés dans 150 ml d'eau de Volvic

pendant 2 heures au cours desquelles quelques périodes de sonication ont été réalisées. L'échantillon a été ensuite filtré sur des filtres whatman GF/F, amené à 200 ml, filtré sur 0.2 μm et récupéré dans un récipient stérile puis oxygéné.

Dans une première étape, dans le but de déterminer la gamme de concentration utile, les dilutions suivantes ont été testées : témoin-6.25 %-12.5 %-25 %-50 %-100 %. Avant de préparer les dilutions, les échantillons et l'eau de dilution (eau de Volvic) sont amenés à une température de 20 ± 2 °C. Le pH et la concentration en oxygène dissous sont mesurés et adaptés si nécessaire ($5.5 < \text{pH} < 9$ et $\text{O}_2 > 3$ mg/l).

Pour chacune de dilutions testées 5 daphnies ont été exposées et trois réplicats effectués (soit un total de 15 individus par concentration testée). En fonction des résultats, la gamme de concentrations testées a été affinée lors d'un second test.

24 heures après la mise en contact des daphnies avec l'échantillon, les daphnies immobiles sont dénombrées dans chaque récipient et les EC_{50} sont déterminées. La EC_{50} – 24 h résulte d'au moins trois pourcentages d'immobilisation compris entre 10 et 90 %. Les daphnies incapables de se déplacer dans les quinze secondes qui suivent une légère agitation du récipient sont considérées comme étant immobilisées, même si elles remuent les antennes.

Les tests préliminaires sont réalisés dans des plaques multipuits de 6 x 5 ml alors que les tests finaux sont effectués dans 20 ml de solution dispensés dans des berlins en verre de 50 ml.



Fig. 15 : *Daphnia magna* utilisé dans le cadre des tests de toxicité aiguë vis-à-vis des cyanotoxines

5. Résultats

5.1. Val Joly

5.1.1. Données physico-chimiques

Les données physico-chimiques de surface relatives aux points de prélèvement VJ3 et VJ5 sont reprises dans le tableau 6 et illustrées sous forme de graphiques aux figures 16 et 17. Il apparaît, sur base des 17 variables prises en compte, que les points de prélèvement VJ3 et VJ5 sont hautement semblables. En effet, l'ensemble des valeurs enregistrées évolue au cours du temps de façon parallèle témoignant de la grande homogénéité des eaux de l'étang pour ces deux stations. A l'opposé, les données recueillies au cours des années 2002 et 2003 sont assez contrastées. Ainsi, par exemple, les concentrations en sulfate, chlorure, phosphore total mais également la température sont nettement plus élevées en 2003. Ces différences prononcées résident, vraisemblablement, dans le caractère caniculaire de la période estivale 2003.

Au cours de ces deux années d'échantillonnage, les valeurs de DBO₅ et de DCO sont similaires. Elles évoluent au cours du temps de façon parallèle. Les valeurs enregistrées sont habituellement plus élevées à la fin de la période estivale. Ainsi, les valeurs maximales de DBO₅ et de DCO sont toutes deux obtenues le 19-09-02 (VJ5) avec, respectivement, 12.8 mg/l et 36.5 mg/l. De même en 2003, les valeurs maximales de 9.1 mg/l pour la DBO₅ et de 46.5 mg/l pour la DCO sont enregistrées le 11-09-03 (VJ3).

Les concentrations en orthophosphate sont fréquemment en dessous du seuil de détection de 0.005 mg P-PO₄/l au cours de l'année 2002, contrairement aux concentrations révélées en 2003. Durant l'été 2002, les concentrations en PT fluctuent de 0.05 à 0.21 mg P/l. En 2003, ces valeurs sont plus élevées et comprises entre 0.06 et 0.29 mg P/l. Cependant, la concentration maximale en PT a été révélée au printemps de l'année 2002 avec 0.49 mg P/l (VJ3), soit une concentration plus de deux fois plus élevée que celles habituellement rencontrées au cours de la période estivale.

Les composés azotés dosés atteignent des concentrations assez réduites tout au long de la période étudiée. En effet, la concentration maximale en nitrate obtenue est de seulement 2.02 mg N/l (14-03-2002-VJ3). De même, les valeurs d'ammonium sont faibles et habituellement inférieures

à 0.1 mg N/l. Finalement, les concentrations en nitrite n'ont jamais été supérieures au seuil de détection de 0.01 mg N/l.

Les concentrations en sulfate et chlorure sont nettement plus élevées en 2003 qu'en 2002. Ainsi, la concentration maximale en sulfate enregistrée au point VJ3 est de 35.6 mg/l le 13-11-03. Cette valeur est 1.4 fois plus importante que le maximum atteint en 2002 (24.9 mg/l station VJ3, le 14-03-02).

Les concentrations en oxygène dissous sont tout au long de la période étudiée assez importantes en surface puisqu'elles sont rarement inférieures à 7 mg O₂/l (70 % saturation en O₂).

Les valeurs de pH sont la plus part du temps comprises entre 8 et 9 unités pH. Elles ne chutent qu'à la fin de la période estivale pour atteindre des valeurs proche de 7 (21 novembre 2002).

L'évolution des valeurs de conductivité est au cours de ces deux années successives assez semblable avec des valeurs maximum atteintes durant l'hiver (0.334 mS/cm station VJ3, le 14-03-02) et l'automne (0.344 mS/cm station VJ3, le 13-11-03) alors que les valeurs les plus réduites sont révélées au cours de l'été.

En 2003, la température de l'eau était nettement supérieure à celles enregistrées en 2002. Ainsi, durant 6 semaines, la température de l'eau du lac était supérieure à 22.5 °C en surface avec un maximum de 26.9 °C le 14-08-03 (VJ3).

La transparence de l'eau déterminée à l'aide du disque de Secchi est tout au long de l'année assez réduite (<1.2 m). Néanmoins, une phase d'eau claire a pu être distinguée entre la mi-avril et la mi-juin 2002. Les valeurs de transparence sont au cours de cette période les plus importantes et atteignent un maximum de 1.17 m le 20-06-02 (VJ5).

Finalement, les concentrations en Chl-*a* sont en concordance avec la dynamique saisonnière des populations algales présentée ci-dessous. En effet, en 2003 les deux pics de Chl-*a* obtenus le 28-08-03 (173.5 µg Chl-*a*/l VJ3) et le 25-09-03 (87.3 µg Chl-*a*/l VJ3) correspondent aux deux maximums de densité des populations de cyanobactéries mises en évidence en microscopie optique.

Les différents profils physico-chimiques établis sur l'intégralité de la colonne d'eau, pour le point de prélèvement VJ5 en 2002 sont illustrés aux figures 18. Ceux des stations VJ3 et VJ5, pour 2003, sont repris aux figures 19 et 20.

Malgré la profondeur limitée du lac du Val Joly (6 m maximum) au point de prélèvement VJ3 et VJ5, une stratification thermique a pu s'établir au cours de ces deux années d'échantillonnage. Cette stratification thermique comprend deux strates correspondant à l'épilimnion et au métalimnion. La profondeur du lac étant trop réduite, la troisième strate (hypolimnion) n'a pu être observée.

De même, le profil des valeurs d'oxygène dissous dessine trois strates bien définies en été. La première correspond à la couche 0-2 m où les valeurs de surface sont toujours assez élevées. La seconde correspond à la couche 2-4 m. A cette profondeur les valeurs d'oxygène chutent brutalement (oxycline). Enfin la troisième strate, localisée en profondeur (< 4 m) est caractérisée par de faibles valeurs en oxygène. En effet, pour certaines dates, des valeurs presque nulles d'oxygène (anoxie) ont été enregistrées (< 1 mg/l).

A une exception près (21-11-2002, VJ5), toutes les valeurs de pH sont neutres ou basiques. Pour certaines dates les profils des valeurs de pH s'apparentent aux profils thermiques et oxiques. En effet, en 2003 par exemple, la différence du pH de surface par rapport au pH de profondeur peut être proche de 2 unités sur seulement 1 mètre de différence (14-08-03 VJ5).

Quant aux profils de conductivité, ils apparaissent relativement constants depuis la surface jusqu'au fond du plan d'eau. Néanmoins, quelques augmentations importantes des valeurs de

conductivité ont été enregistrées en profondeur. Ces augmentations trouvent sans doute leur origine dans la mise en suspension de sédiments engendrée par la chute de la sonde lors des prises de mesure.

Date	Site	PT	PO ₄ -P	SiO ₂	NH ₄ -N	Cl	NO ₂ -N	NO ₃ -N	SO ₄	Chl-a	DCO	DBO ₅	Secchi	Température	pH	O ₂	O ₂	Conductivité
		mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	µg/l	mg/l	mg/l	m-1	°C		%	mg/l	mS/cm
14/03/2002	VJ3	0.49	0.205	5.1	0.864	9.1	<0.01	2.02	24.9	6.7	-	2.0	0.8	7.4	8.2	93	10.9	0.334
	VJ5	0.23	0.093	5.4	0.36	8.2	<0.01	1.74	22.4	11.9	-	1.9	0.75	8.1	8.1	99	11.4	0.292
18/04/2002	VJ3	0.09	<0.005	3.6	0.066	7.6	<0.01	0.93	20.3	-	3.5	1.6	0.9	11.1	8.8	110	13.1	0.278
	VJ5	0.22	0.016	3.6	0.109	7.5	<0.01	0.94	20.3	-	4.5	1.3	1	10.8	8.7	122	13	0.278
16/05/2002	VJ3	0.06	<0.005	2.8	0.066	8.7	<0.01	0.75	22.5	-	5.3	1.4	0.8	18.3	8.2	108	10	0.290
	VJ5	0.04	<0.005	2.8	0.06	8.7	<0.01	0.76	22.1	-	5.8	1.7	1	17.8	8	100	9.5	0.299
20/06/2002	VJ3	0.06	<0.005	2.4	0.122	10.1	<0.01	0.16	22.5	-	13.0	3.0	0.8	22.2	8.5	93	7	0.277
	VJ5	0.07	<0.005	2.6	0.102	9.8	<0.01	0.16	22.3	-	11.0	4.6	1.17	22.3	8.7	139	12	0.279
11/07/2002	VJ3	0.06	<0.005	3.4	0.058	8.6	<0.01	0.15	20.2	-	17.6	4.4	0.7	20	8.8	132	11.8	0.262
	VJ5	0.07	<0.005	3.2	0.056	8.8	<0.01	0.17	19.9	-	20.0	4.1	0.9	19.6	9	137	12.6	0.261
25/07/2002	VJ3	0.09	0.006	4.5	0.08	13.6	<0.01	0.1	20.8	-	22.0	3.0	0.7	19.9	8.7	102	9.9	0.283
	VJ5	0.06	<0.005	4.5	0.063	10.7	<0.01	<0.01	20.9	26.2	20.0	2.7	0.8	19.8	8.2	97	8.7	0.271
08/08/2002	VJ3	0.09	0.012	4.9	0.038	10.0	<0.01	<0.01	20.3	-	21.0	2.3	0.6	20.2	8.2	95	8.3	0.260
	VJ5	0.08	0.015	4.9	0.08	9.2	<0.01	0.1	20.0	15.4	21.5	2.6	0.7	20.2	7.9	73	6.5	0.282
22/08/2002	VJ3	0.11	<0.005	5.4	0.037	9.6	<0.01	0.15	21.9	-	14	4.2	0.5	21.4	8.5	116	10.1	0.219
	VJ5	0.09	<0.005	5.4	0.029	9.6	<0.01	0.09	21.6	22.8	11.5	4.3	0.7	21.3	8.4	102	8.9	0.220
05/09/2002	VJ3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	VJ5	0.15	<0.005	5.6	0.016	9	<0.01	0.19	21.4	26.1	15.0	4.4	0.75	19.8	8.5	-	-	0.254
19/09/2002	VJ3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	VJ5	0.21	0.006	6	0.037	9.6	<0.01	0.13	21.7	90.5	36.5	12.8	0.8	18.8	9	153	14.7	0.258
03/10/2002	VJ3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	VJ5	0.15	0.008	6.0	0.074	9.6	<0.01	<0.01	23.1	78.4	24.0	11.5	0.6	15.4	9.03	135	13.4	0.270
21/11/2002	VJ3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	VJ5	0.09	0.034	11.0	0.119	7.0	<0.01	1.46	18.6	4.7	-	2.0	0.6	8.9	7	75	8.3	-
19/06/2003	VJ3	-	0.043	4.8	0.143	10.6	<0.01	0.11	21.9	23.3	9	3.2	0.8	21.77	8.24	98.5	8.63	0.279
	VJ5	-	0.037	4.7	0.161	10.5	<0.01	0.12	21.4	17.7	12	4.8	1	21.18	8.02	78.2	6.93	0.280
03/07/2003	VJ3	-	0.009	3.2	0.071	10.8	<0.01	0.01	21.5	11.0	14.0	1.0	0.55	20.97	8.37	90.4	8.05	0.281
	VJ5	-	0.008	3.2	0.094	11.0	<0.01	0.06	21.2	13.7	15	1.0	0.7	20.54	8.16	91.4	8.2	0.283
17/07/2003	VJ3	-	0.007	0.8	0.056	11.3	<0.01	0.04	23.0	15.8	14	3.0	0.8	23.82	8.68	105.4	8.95	0.268
	VJ5	-	0.008	0.8	0.034	11.1	<0.01	0.01	23.0	11.3	15	3.2	0.85	23.2	8.57	97.6	8.39	0.269
31/07/2003	VJ3	0.09	0.011	1.7	0.043	11.4	<0.01	0.03	22.1	50.0	19	3.7	0.75	22.74	8.57	110.30	9.56	0.282
	VJ5	0.12	0.011	1.7	0.042	11.4	<0.01	0.03	22.0	25.8	21	3.7	1	21.99	8.15	94.60	8.32	0.282
14/08/2003	VJ3	0.08	0.007	2.0	0.039	12.0	<0.01	0.01	25.2	51.6	27.5	3.9	0.6	26.85	8.98	146.4	11.74	0.236
	VJ5	0.08	0.007	1.9	0.041	11.9	<0.01	0.01	23.5	2.9	25.5	3.9	0.6	26.43	8.92	132.7	10.73	0.238
28/08/2003	VJ3	0.11	0.007	4.2	0.044	11.8	<0.01	0.04	22.2	173.8	34	8.6	0.6	21.1	8.83	-	9.8	0.227
	VJ5	0.14	0.007	3.6	0.073	13.0	<0.01	0.03	22.4	92.3	28	6.1	0.85	21	8.3	80.7	7.83	0.236
11/09/2003	VJ3	0.22	0.013	4.9	0.054	12.3	<0.01	0.03	23.1	51.7	46.5	9.1	0.4	17.6	8.7	105.8	9.77	0.234
	VJ5	0.11	0.008	4.8	0.188	12.3	<0.01	0.05	23.1	55.6	21.5	6.7	0.75	17.7	8.39	81.8	7.45	0.236
25/09/2003	VJ3	0.29	0.010	7.0	0.042	12.3	<0.01	0.01	23.1	87.3	27.5	8.2	0.5	16.8	8.85	102.3	9.75	0.268
	VJ5	0.17	0.010	6.6	0.058	12.1	<0.01	0.03	21.8	73.3	27	8.6	0.7	17.2	8.82	97.2	9.32	0.263
09/10/2003	VJ3	0.11	0.016	8.3	0.091	12.2	<0.01	0.08	25.6	27.2	37.5	1.3	0.6	11.83	8.01	65.8	7.09	0.289
	VJ5	0.13	0.021	8.2	0.163	12.3	<0.01	0.07	24.4	14.5	30.5	0.7	0.65	12.24	7.89	63.7	6.81	0.284
23/10/2003	VJ3	0.06	0.009	8.7	0.04	12.5	<0.01	0.06	29.1	20.8	21	5.0	0.85	7.09	8.58	108.6	13.28	0.328
	VJ5	0.07	0.010	8.4	0.037	12.9	<0.01	<0.01	31.7	16.1	21.5	4.6	0.8	8.34	7.91	81.1	9.63	0.307
13/11/2003	VJ3	-	0.007	8.1	0.060	13.2	<0.01	<0.01	35.6	-	31	6.9	1.1	6.43	7.82	80.7	10.01	0.344
	VJ5	-	0.009	8.9	0.011	12.9	<0.01	<0.01	33.7	43.3	26	6.7	0.9	6.78	7.28	80.6	9.92	0.333

Tab. 6 : Données physico-chimiques de surface relatives au lac du Val Joly (2002-2003)
(- : non déterminé)

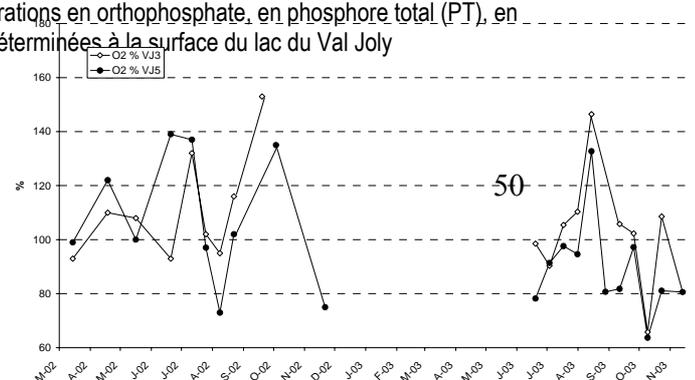
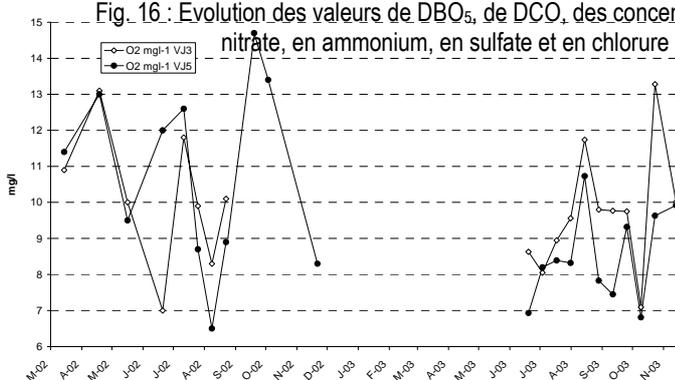
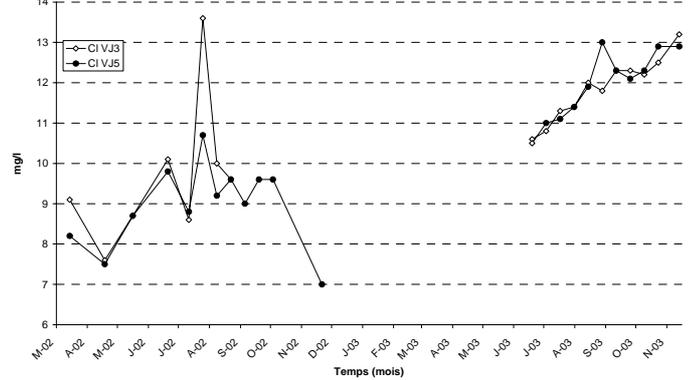
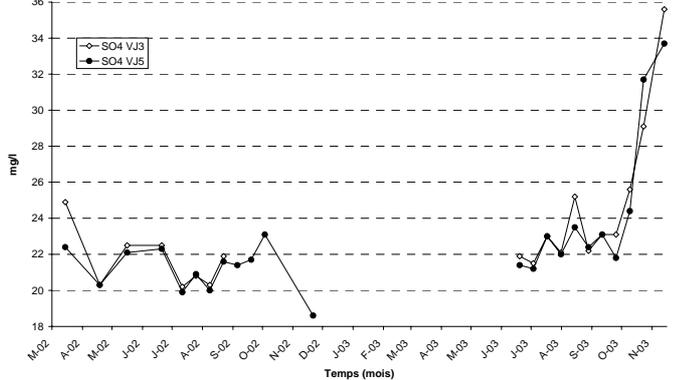
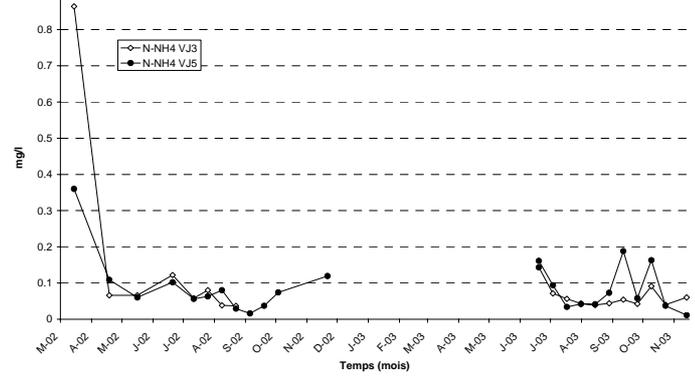
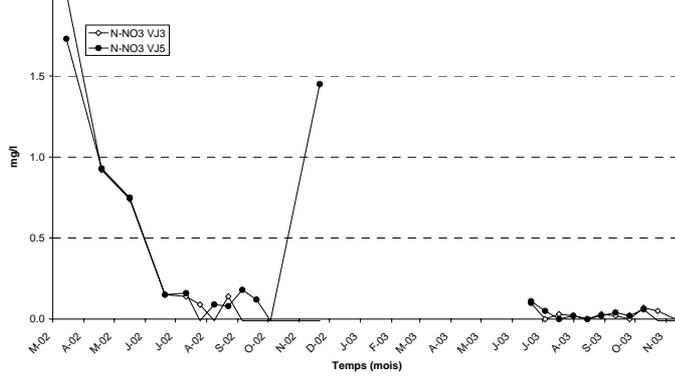
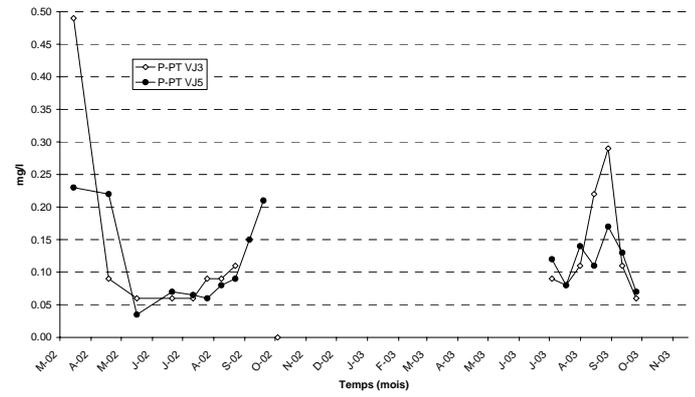
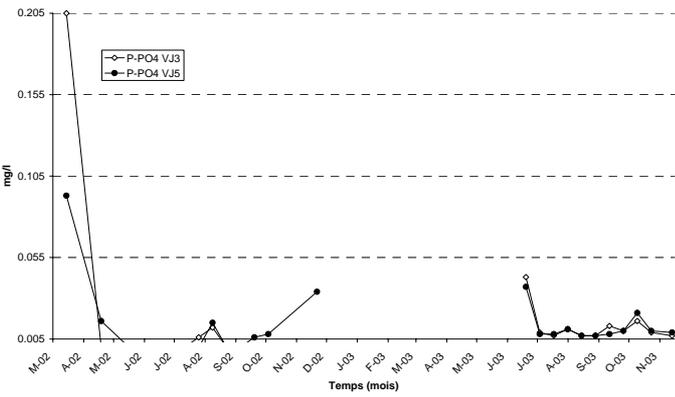
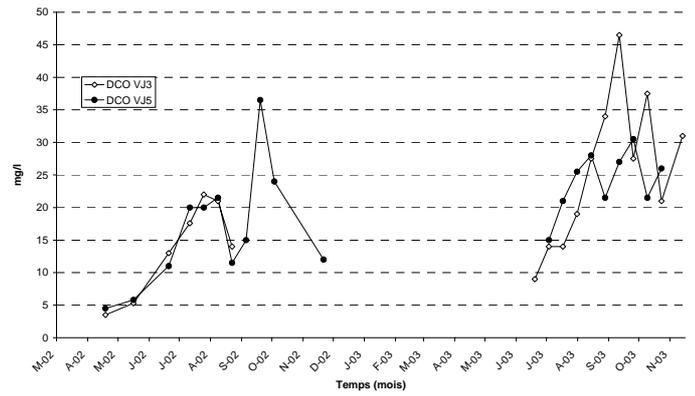
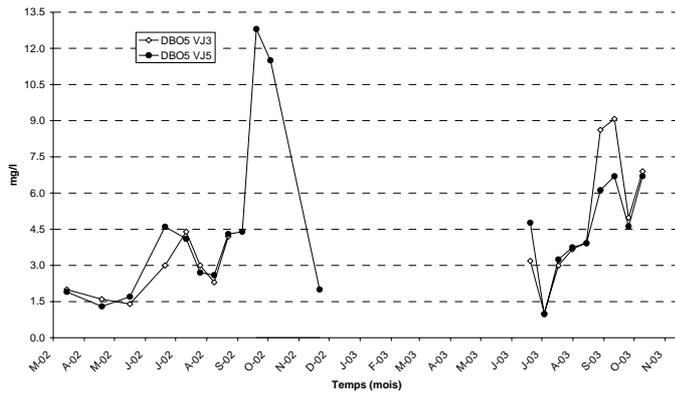
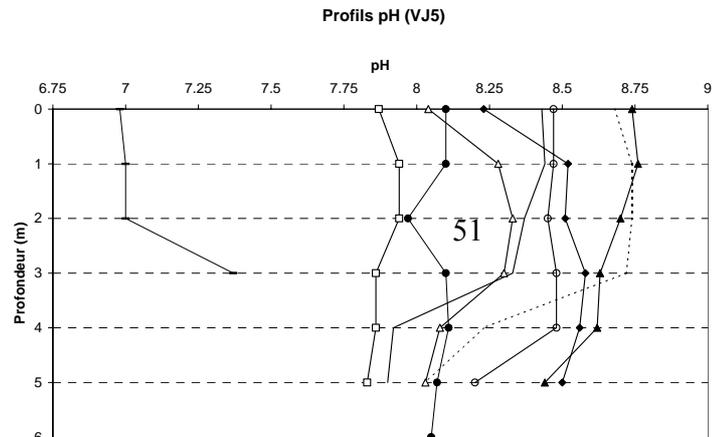
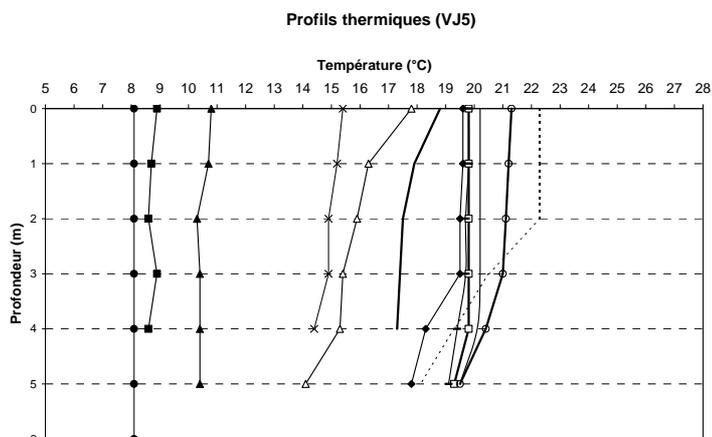


Fig. 16 : Evolution des valeurs de DBO₅, de DCO, des concentrations en orthophosphate, en phosphore total (PT), en nitrate, en ammonium, en sulfate et en chlorure déterminées à la surface du lac du Val Joly

Fig. 17 : Evolution des valeurs de pH, de Secchi, des concentrations en O₂ dissous, des valeurs de saturation en O₂, de la température de l'eau et de la concentration en Chl-a déterminées à la surface du lac du Val Joly



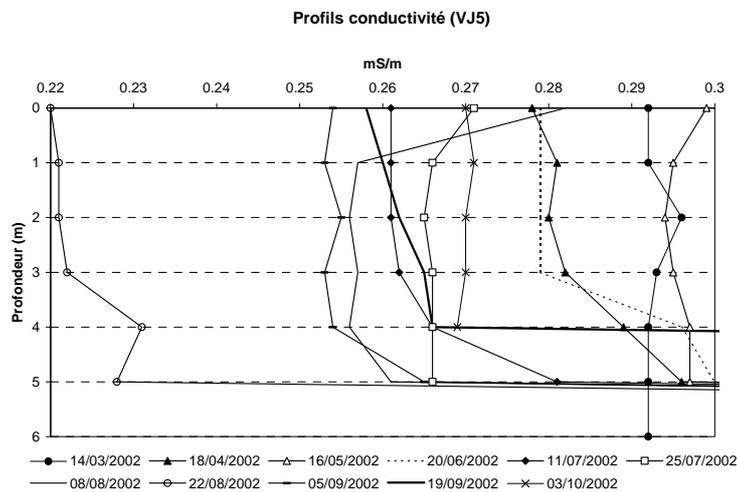
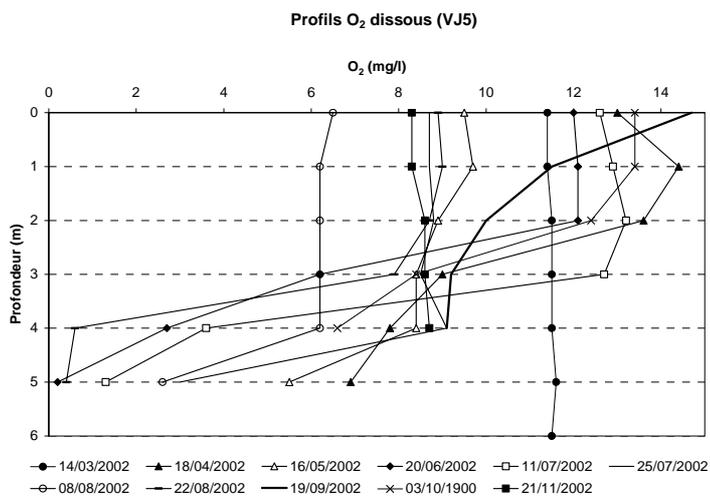
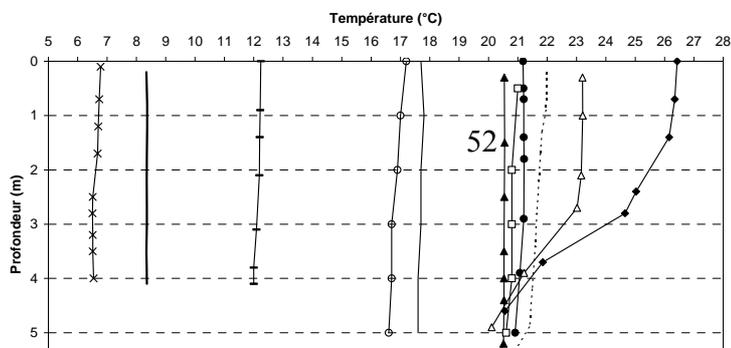
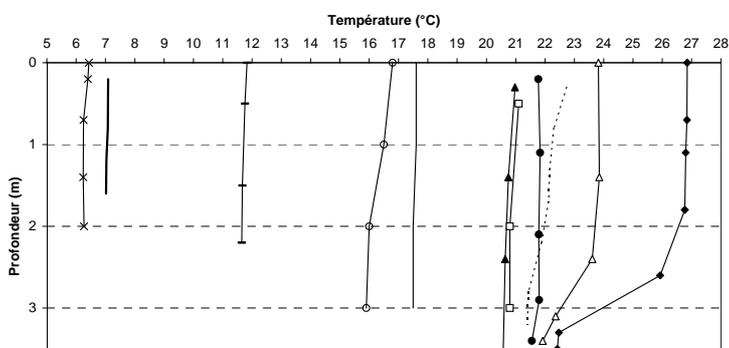


Fig. 18 : Profils thermiques, des valeurs pH, des concentrations en O₂ dissous, de saturation en O₂ dissous et de conductivité déterminés aux points de prélèvement VJ5 en 2002.



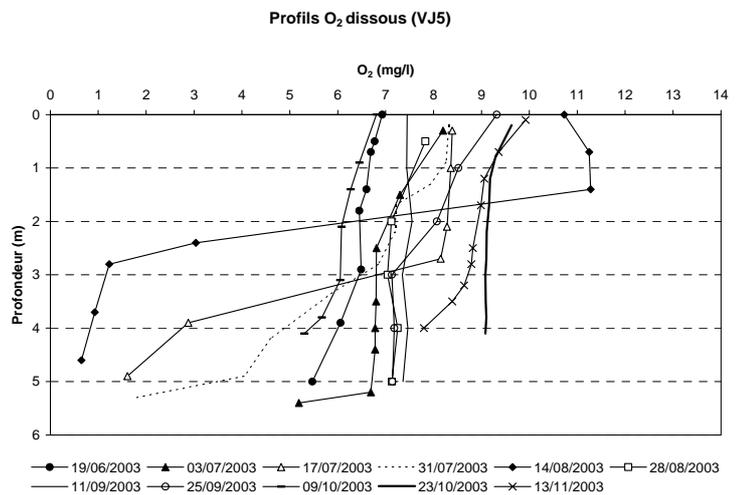
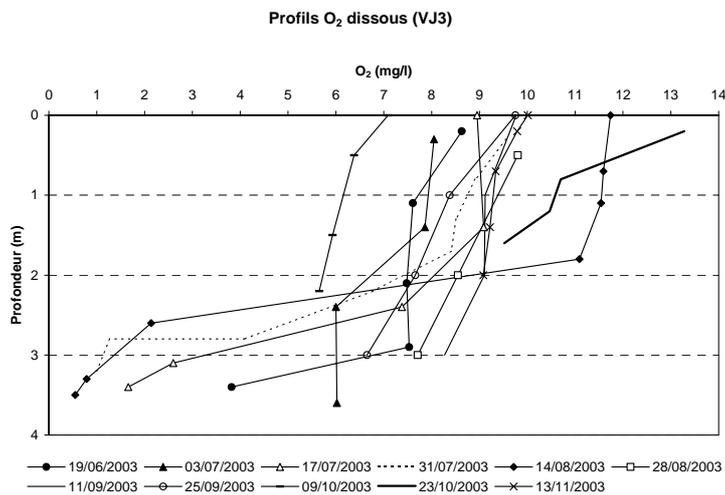
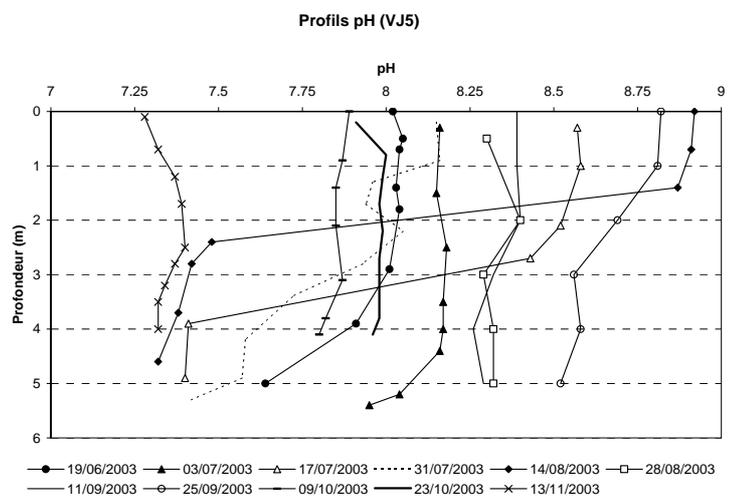
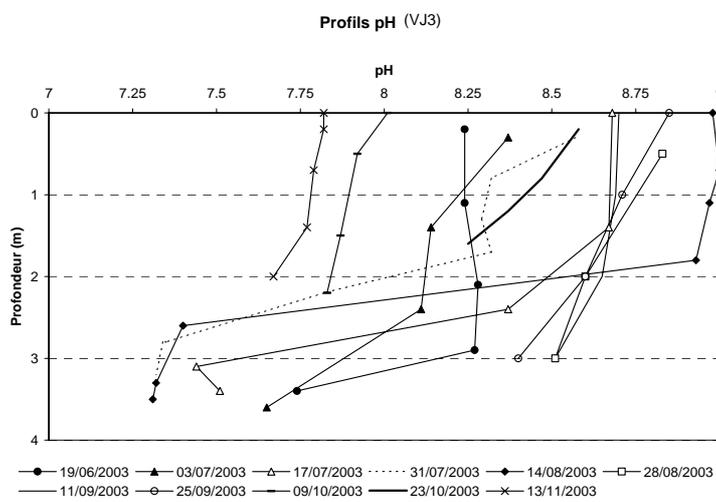
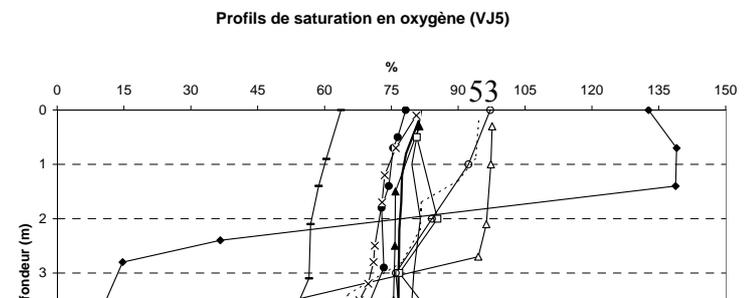
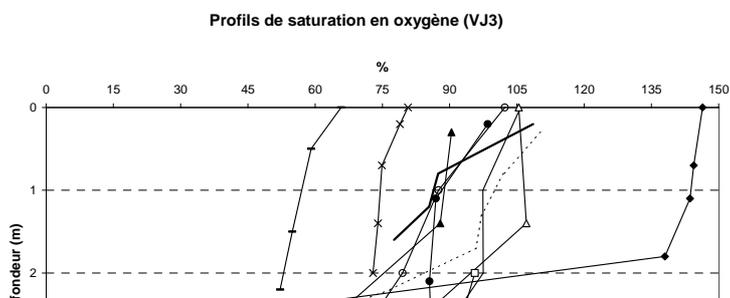


Fig. 19 : Profils thermiques, des valeurs de pH et de l'O₂ dissous déterminés aux points de prélèvement VJ3 et VJ5 en 2003



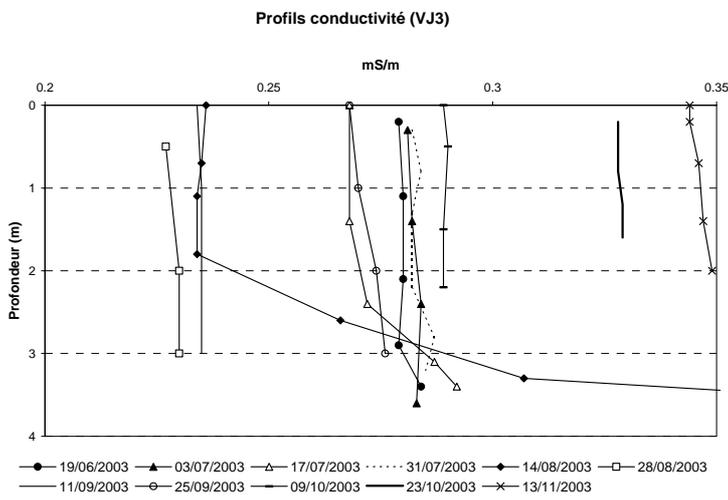


Fig. 20 : Profils de saturation en O₂ dissous et de conductivité déterminés aux points de prélèvement VJ3 et VJ5 au cours de la période estivale 2003

5.1.2. Dynamique saisonnière du phytoplancton

Les dynamiques saisonnières du phytoplancton, déterminées au point de prélèvement VJ3 en 2002 et 2003, sont illustrées aux figures 21 à 24. Seuls les résultats de la station de prélèvement VJ3 sont représentés car ils sont en tout point semblables à ceux obtenus à la station VJ5. En effet, l'analyse de corrélation, réalisée sur l'ensemble des données acquises au cours des deux années pour les deux stations, donne un facteur de corrélation hautement significatif de $R^2=0.86$. Néanmoins, ces deux années d'échantillonnage apparaissent contrastées car les dynamiques phytoplanctoniques annuelles présentées ci-dessous sont profondément différentes.

En 2002, les chlorophytes et les cryptophycées étaient les groupes algaux les plus abondants (Fig. 21). Les comptages effectués au printemps révèlent la dominance de cryptophycées appartenant aux genres *Cryptomonas* et *Rhodomonas*. Cette première phase de développement, qui s'étend du mois d'avril jusqu'à la fin juin, précède un second développement essentiellement composé de chlorophytes atteignant le 08-08-02 le plus important biovolume de l'année : $1.9 \times 10^7 \mu\text{m}^3/\text{ml}$. Le déclin de la population de chlorophytes est suivi d'un second développement de cryptophycées. Les biovolumes des populations de cryptophycées sont semblables à ceux des chlorophytes enregistrées un mois plutôt ($1.8 \times 10^7 \mu\text{m}^3/\text{ml}$, le 05-09-02). Parallèlement à l'expansion des cryptophycées, les dinophycées et les cyanobactéries apparaissent vers la fin du mois août en des biovolumes nettement plus réduits ($< 2.1 \times 10^6 \mu\text{m}^3/\text{ml}$).

En 2003, à l'opposé, les populations cyanobactériennes étaient les dominantes (Fig. 22). Les cyanobactéries atteignaient des biovolumes 100 fois plus importants que ceux mis en évidence en 2002. Tous les autres groupes phytoplanctoniques dont les chlorophytes et les cryptophycées, qui l'année précédente ont été observées en des biovolumes relativement importants, ont cette année atteint des biovolumes nettement plus réduits.

Au cours de ces deux années, les taxons de cyanobactéries du Val Joly sont identiques. En effet, les populations de cyanobactéries étaient principalement composées de *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM. et d'*Aphanizomenon gracile* (LEMMERM.) LEMMERM. Minoritairement, *Microcystis* spp., *Snowella litoralis* (HÄYR.) KOM. et HIND., *Pseudanabaena* sp., *Limnothrix redekei* (VAN GOOR) MEFF. et deux formes d'*Anabaena*, un à trichome spiralé (*Anabaena* cf. *spiroides* KLEB.), l'autre à trichome rectiligne (*Anabaena planctonica* BRUNNTH.) ont été observés. Malgré des peuplements semblables au cours des années 2002 et 2003, les biovolumes atteints sont nettement différents.

En 2002, *Planktothrix* était le genre dominant (Fig. 23). Des trichomes ont été observés dès le mois de juillet (11-07-02). Le pic de densité a été enregistré mi-septembre ($8.3 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{ml}$). Les populations d'*Aphanizomenon* ont évolué presque parallèlement aux populations de *Planktothrix*. Néanmoins, la plus grande valeur de biovolume atteinte par celle-ci ($3.8 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{ml}$ le 05-09-2002) était plus de 2 fois inférieure à celle des populations de *Planktothrix*.

En 2003, *Planktothrix* reste le genre de cyanobactéries le plus abondant de la période estivale (Fig. 24). Cependant, les biovolumes atteints par *Aphanizomenon* sont plus importants que ceux révélés en 2002. Ainsi, les cyanobactéries connaissent deux phases de développement successives dont la première est dominée par les populations d'*Aphanizomenon* (pic le 28-08-2003 : $8.7 \times 10^7 \mu\text{m}^3/\text{ml}$). La seconde, quant à elle, était dominée par *Planktothrix agardhii* qui a atteint des valeurs de biovolumes plus de 100 fois supérieures à celles de 2002.

Des efflorescences de cyanobactéries ont été observées lors des campagnes d'échantillonnage du 03-10-2002, 28-8-2003, 11-09-2003, 09-10-03. Plusieurs photographies sont présentées à la figure 25.

Dynamique saisonnière du phytoplancton au lac du Val Joly en 2002 (VJ3)

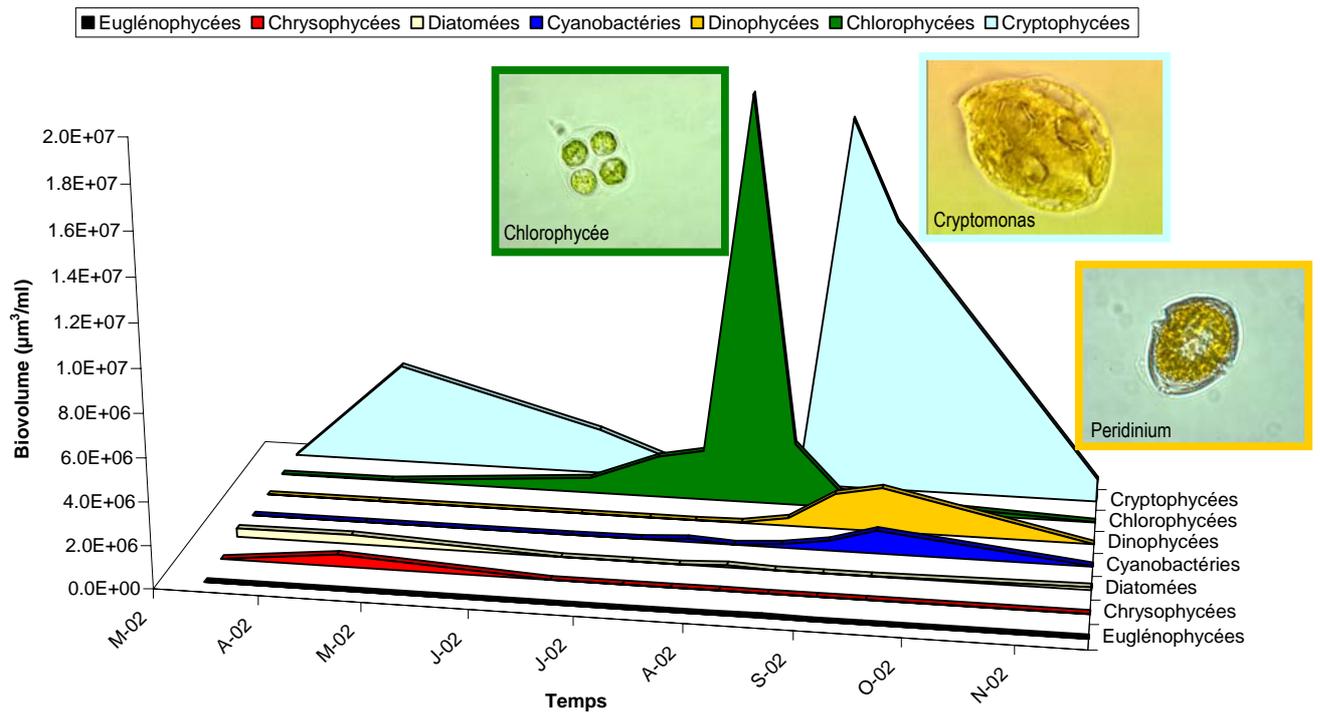


Fig. 21 : Dynamique saisonnière du phytoplancton du lac du Val Joly en 2002 (VJ3)

Dynamique saisonnière du phytoplancton au lac du Val Joly en 2003 (VJ3)

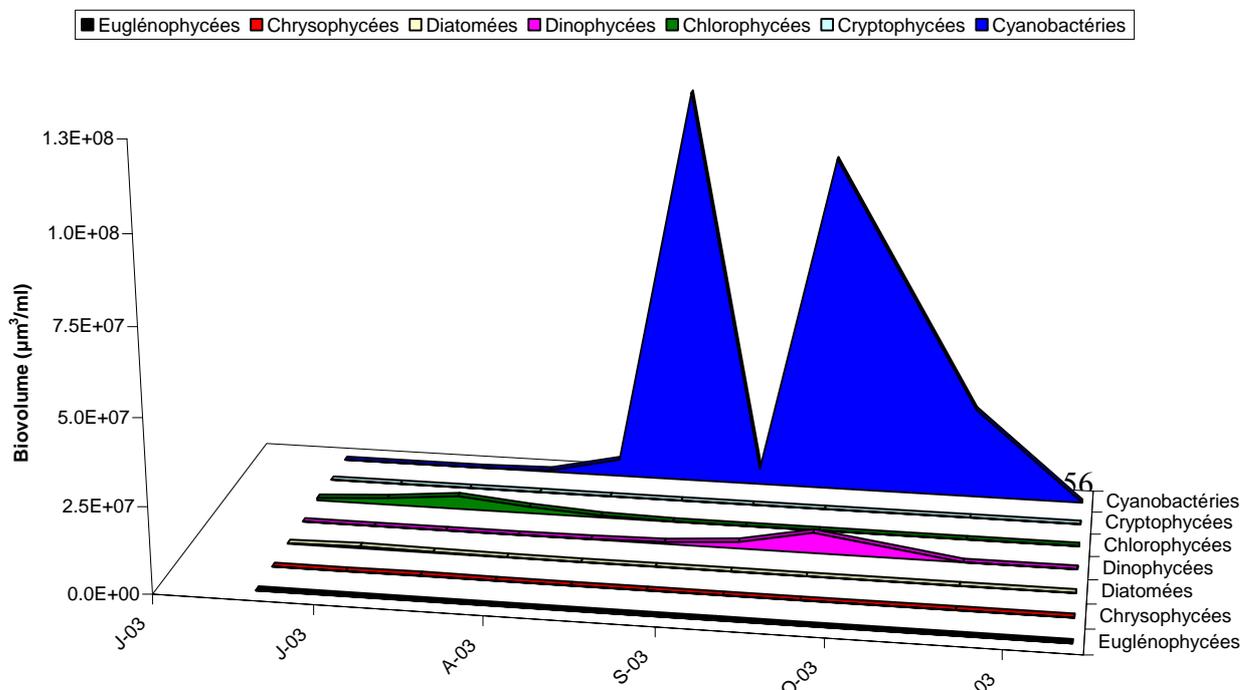
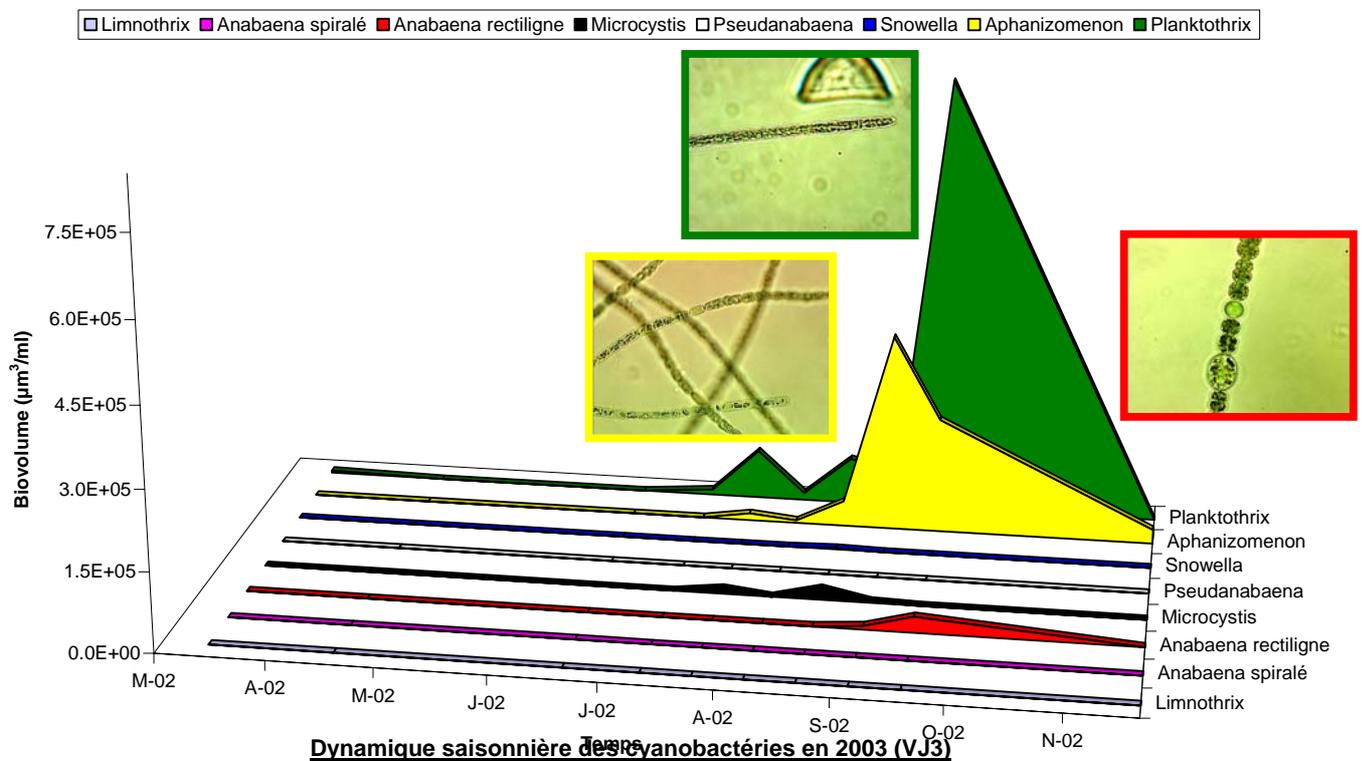


Fig. 22 : Dynamique saisonnière du phytoplancton du lac du Val Joly en 2003 (VJ3)

Dynamique saisonnière des cyanobactéries en 2002 (VJ3)



Dynamique saisonnière des cyanobactéries en 2003 (VJ3)

Fig. 22 : Dynamique saisonnière des populations cyanobactériennes du lac du Val Joly en 2003 (VJ3)

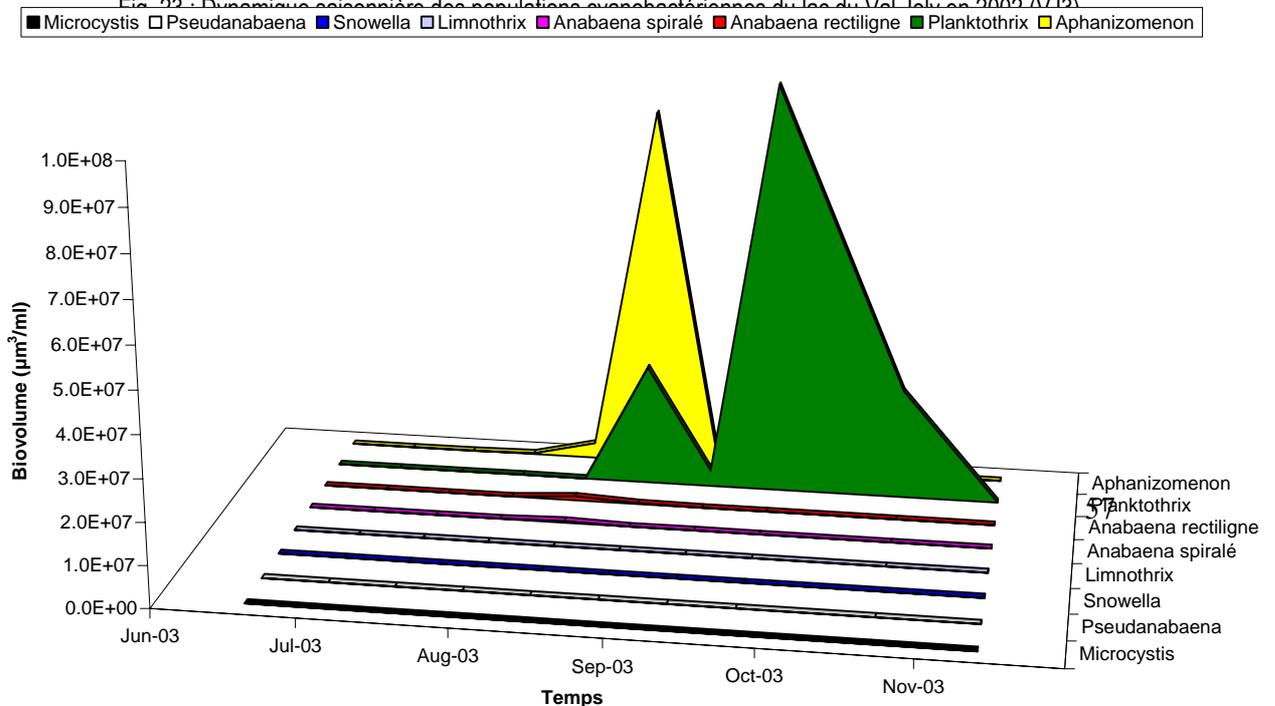


Fig. 24 : Dynamique saisonnière de populations cyanobactériennes au lac du Val Joly en 2003 (VJ3)



Fig. 25 : Efflorescences de cyanobactéries au Val Joly (11-09-03)

5.1.3. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries du lac du Val Joly

Une analyse canonique des correspondances (CCA) a été réalisée sur les données relatives au comptage de phytoplancton en vue de déterminer qu'elles étaient les variables environnementales impliquées dans la succession des différents groupes phytoplanctoniques (Fig. 26). Selon le test de permutation de Monte-Carlo, seule la variable DCO doit être considérée comme statistiquement descriptive. Il apparaît donc que les cyanobactéries contrairement aux autres groupes phytoplanctoniques (à l'exception des dinophytes) sont positivement corrélées aux valeurs de DCO. Cependant, Il est important à signaler que le nombre réduit de données ($n=20$) par rapport aux variables (10 variables) prises en compte rend l'interprétation de cette analyse statistique délicate. Seule, la récolte et l'utilisation d'un plus grand nombre de résultats permettront de conforter cette approche.

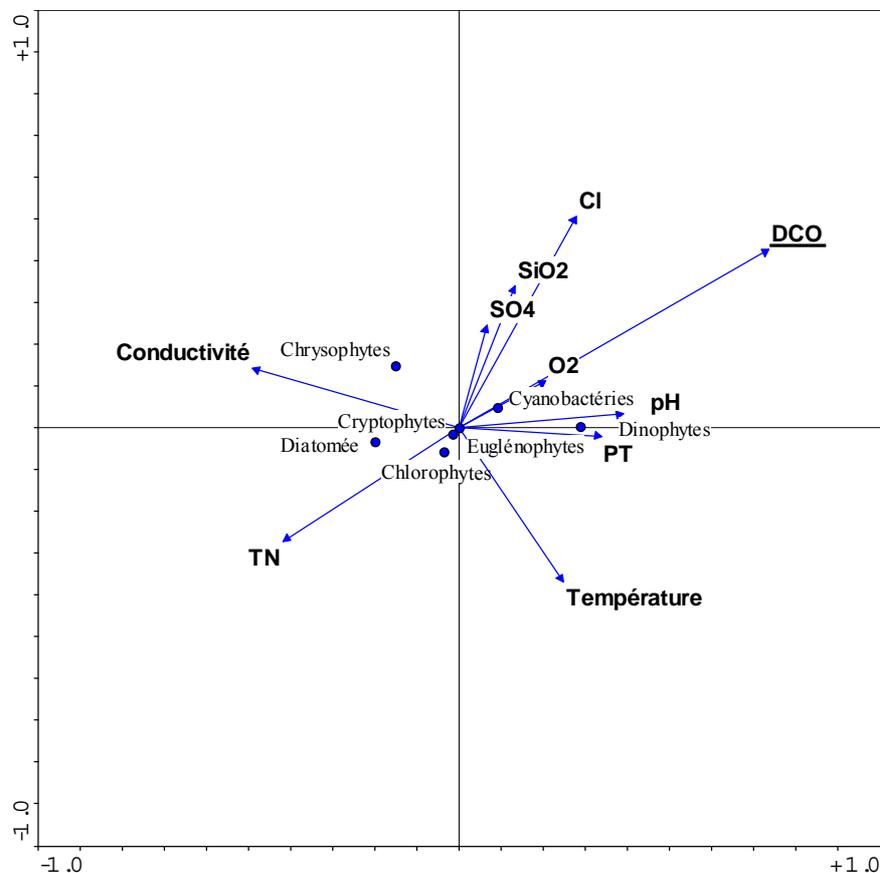


Fig. 26 : Ordination d'une analyse canonique des correspondances réalisée sur base de la dynamique pluriannuelle (2002 et 2003) des populations cyanobactériennes et des données physico-chimiques du lac du Val Joly. Cette analyse implique 10 variables présélectionnées. Pourcentage de variance cumulatif des relations espèces-environnement pour les 2 premiers axes : 84.8. Les variables statistiquement significatives, selon le test de permutation de Monte-Carlo ($p < 0.05$), sont soulignées.

Une analyse de Weighted Averaging a été réalisée en utilisant les biovolumes des deux cyanobactéries les plus communément observées au Val Joly (Tab. 7). Cette analyse fournit une valeur X1 pour Planktothrix et X2 pour Aphanizomenon pour chaque variable environnementale sélectionnée. Ces valeurs X1 et X2 sont comparées avec la valeur nulle qui correspond à la moyenne des valeurs du paramètre considéré.

Ainsi, il s'avère que Planktothrix et Aphanizomenon se distinguent principalement pour leur spécificité écologique reposant sur les variables suivantes : conductivité, température, sulfate, chlorure, PT.

La dominance de Planktothrix, à l'opposé de celle d'Aphanizomenon, est positivement corrélée aux valeurs de conductivité, sulfate, chlorure et PT supérieures aux moyennes annuelles (= valeur nulle). A l'opposé, les fortes densités d'Aphanizomenon sont positivement corrélées aux valeurs de températures plus élevées que la moyenne annuelle.

Variables	Planktothrix	Aphanizomenon
PT	0.1258	-0.1771
SiO ₂	0.0893	-0.1257
TN	0.0101	-0.0142
Cl	0.1394	-0.1963
SO ₄	0.2157	-0.3036
DCO	-0.0212	0.0298
Température	-0.2307	0.3248
pH	0.0538	-0.0757
O ₂	0.0710	-0.0999
Conductivité	0.2616	-0.3683

Tab. 7 : Analyse de Weighted Avering (WA) réalisée sur base d'une part, des données de dynamiques saisonnières des populations de Planktothrix et d'Aphanizomenon du Val Joly au cours des années 2002 et 2003 et, d'autre part, des données de 10 variables abiotiques présélectionnées.
Les variables discriminantes apparaissent en gras

5.2. Autres plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie : campagne d'échantillonnage du 4-5 septembre 2002 et 2003

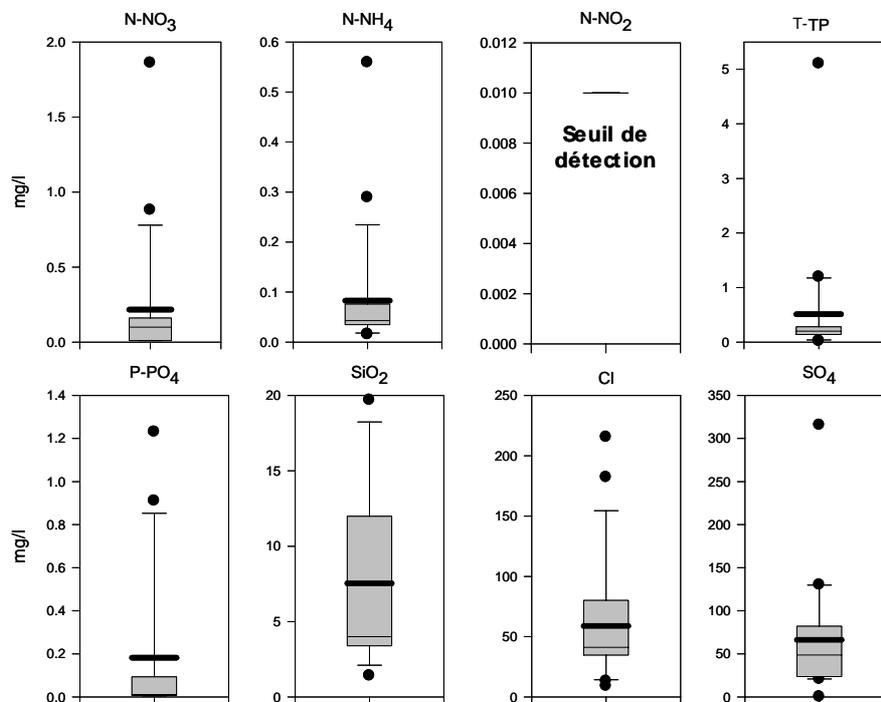
Les données physico-chimiques des 12 sites échantillonnés au cours de la campagne Artois-Picardie 2002-2003 sont présentées au tableau 8.

Sites	Date	PT mg/l	P-PO ₄ mg/l	N-NH ₄ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NO ₃ mg/l	SiO ₂ mg/l	Cl mg/l	SO ₄ mg/l	Transp. cm
Lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque)	2002	0.02	<0.005	0.021	<0.005	0.14	3.0	215.3	63.5	-

	2003	0.02	0.009	0.043	<0.01	0.05	3.1	182	55.6	Profondeur insuffisante
Marais du Romelaère (Clairmarais)	2002	0.22	0.076	0.153	<0.005	0.88	3.9	113	48.7	-
	2003	0.30	0.093	0.044	<0.01	0.15	3.4	94	55.7	55
Pré du Hem (Armentières)	2002	0.15	0.007	0.289	<0.005	0.11	3.6	61.5	44.9	
	2003	0.16	0.010	0.049	<0.01	<0.01	1.8	80	50.5	30
Lac du Héron (Villeneuve-d'Ascq)	2002	0.25	0.025	0.076	<0.01	0.21	2.6	42.6	39.9	-
	2003	0.27	0.010	0.042	<0.01	<0.01	5.8	84	44.1	25
Marais de la Sensée (Aubigny-au-Bac et Fressies)	2002	0.12	<0.005	0.015	<0.005	0.11	18.4	34.9	20.5	-
	2003	0.07	0.007	0.033	<0.01	<0.01	20.0	36.5	22.2	35
Mare à Goriaux (Raismes)	2002	0.18	0.011	0.072	<0.005	0.1	4.5	29.1	315.4	-
	2003	0.23	0.075	0.036	<0.01	<0.01	14.4	37.4	<0.01	60
Etang d'Amaury (Vieux-Condé)	2002	1.15	0.910	0.032	<0.005	0.16	15.2	35.6	123.3	
	2003	1.19	0.647	0.04	<0.01	<0.01	10.6	41.4	112	25
Etang de Chabaud-Latour (Condé/Escaut)	2002	5.10	1.23	0.559	<0.005	0.63	18.0	37.4	129.7	-
	2003	1.09	0.720	0.039	0.02	0.07	4.0	47.5	130	40
Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	2002	0.23	0.005	0.076	<0.005	0.14	12.0	16.3	25.4	-
	2003	0.20	0.039	0.046	<0.01	0.03	3.7	20.6	23.6	45
Péronne (Haute-Somme)	2003	0.09	0.006	0.077	<0.01	1.86	10.9	41.2	31.6	110
Etang du Vignoble (Valenciennes)	2003	0.28	0.093	0.036	<0.01	0.06	1.3	45.2	60	60
Etang du centre de loisirs Fortier (Saint-Saulve)	2003	0.15	0.010	0.035	<0.01	<0.01	4.0	37.1	82	35

Tab. 8 : Données physico-chimiques des sites échantillonnés en région Artois-Picardie lors de la campagne 4-5 septembre 2003

Les données du tableau 6 sont reprises sous forme de box-plots à la figure 27.



$\mu\text{S/cm}$ mg/l

Fig. 27 : Box-plots des données physico-chimiques des pièces d'eau échantillonnées dans le bassin d'Artois-Picardie lors des campagnes de septembre 2002 et 2003

Rectangle gris : 25^{ème}-75^{ème} percentile. Trait large : moyenne. Trait fin : médiane. Barre verticale : 5^{ème}-95^{ème} percentile. Points noirs : valeurs extrêmes

La majorité des plans d'eau pour lesquels des analyses physico-chimiques ont été effectuées sont hypereutrophes selon les critères établis par l'OCDE. En effet, la plupart des concentrations en phosphore totale sont largement supérieures à la limite de 100 $\mu\text{g P/l}$. Seul le lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque) peut être considéré comme un lac mésotrophe (17-20 $\mu\text{g P/l}$).

Les concentrations en orthophosphate ainsi que celles des composés azotés (nitrate et ammonium) sont assez réduites. En effet, la médiane des concentrations en orthophosphates n'est que de 11 $\mu\text{g P/l}$. Celles de l'ammonium et des nitrates sont respectivement de 43 et de 100 $\mu\text{g N/l}$. Aucune concentration en nitrite supérieure au seuil de détection de 10 $\mu\text{g N/l}$ n'a été mise en évidence.

Les concentrations en SiO₂ sont caractérisées par un gradient de valeur assez étendu, compris entre 1.3 et 20 mg SiO₂/l.

Les concentrations en chlorure et sulfate sont assez semblables. Elles se situent dans une gamme de valeurs comprises entre 5 et 320 mg/l (médiane Cl : 41.2 mg/l, médiane SO₄ : 49.6 mg/l).

Les valeurs de conductivité sont-elles aussi assez variables et comprises entre 236 et 1337 µS/cm (médiane : 570 µS/cm).

La gamme de température obtenue est réduite. Elle s'étend de 17.2 à 22.1 °C.

L'ensemble des valeurs de pH sont basiques. La médiane des valeurs est 8.64.

Les valeurs de transparence sont très faibles et presque toujours inférieures à 100 cm, exception faite de l'étang de Péronne où la valeur de 110 cm a été enregistrée. Finalement, les concentrations en oxygène dissous déterminées en surface sont constamment élevées. La médiane des pourcentages en saturation d'oxygène de 105 % correspond à une valeur de sursaturation.

5.2.1. Lac d'Armbouts-Cappel à Dunkerque

Le site du lac d'Armbouts-Cappel est accessible dès la sortie de l'autoroute.

Les prélèvements ont été réalisés depuis la berge située en face du parking. Lors des deux années de prélèvements, le temps était ensoleillé avec très peu de vent, il permettait de voir à l'œil nu des colonies vertes flottant dans les 10 premiers centimètres sous la surface. Ces amas étaient principalement composés d'*Anabaena lemmermannii* RICH. (cyanobactéries hétérocystées), espèce dominante des échantillons récoltés en 2002 et 2003 (Fig. 28). Ces colonies servaient de support pour de nombreux protozoaires ciliés. Cette espèce d'*Anabaena* est caractéristique car tous les akinètes se positionnent au centre de la colonie. De plus, l'anatoxine-a(s), une puissante neurotoxine a été pour la première fois isolée d'un bloom dominé par cette même espèce (voir introduction). Des cyanobactéries du genre *Microcystis* ont également été observées dans les échantillons récoltés au cours de la période estivale des années 2002 et 2003.

En 2002, d'autres cyanobactéries appartenant aux genres *Aphanizomenon* et *Woronichinia* étaient également présentes. A l'opposé, en 2003, ces deux genres ne faisaient plus partie des populations cyanobactériennes.

Aucun développement massif (efflorescence) n'a pu être observé.

Chaque année, les algues eucaryotes appartenant aux Dinophytes du genre *Ceratium* mais principalement des *Peridinium* étaient abondantes.

Vu les fortes teneurs en chlorure (182 mg/l - 2003), il est vraisemblable que ce lac subit l'influence des embruns.

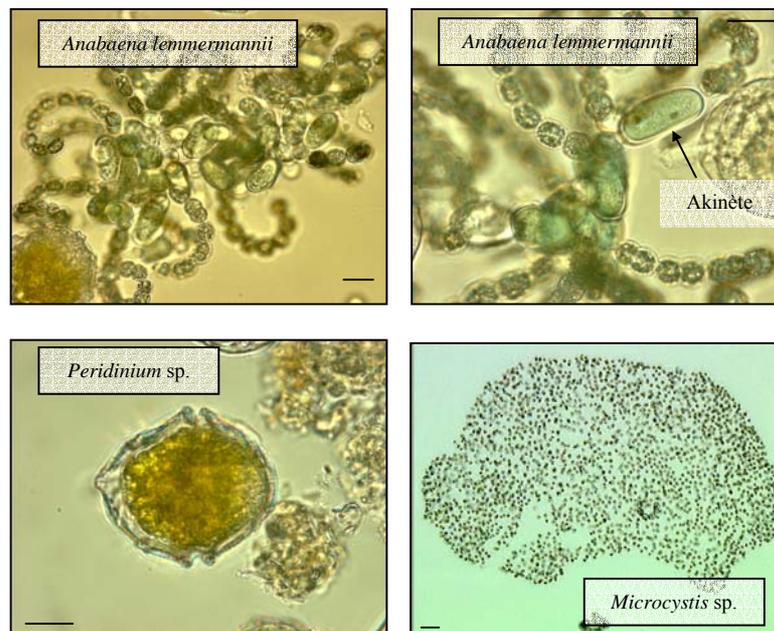


Fig. 28 : Principales algues et cyanobactéries observées au lac d'Armbouts-Cappel à Dunkerque (les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

5.2.2. Marais du Romelaëre à Clairmarais

« La réserve naturelle volontaire du Romelaëre » se situe sur la commune de Nieurlet et de Saint-Omer. Ce site aménagé est composé d'un ensemble d'étangs reliés par de larges canaux. Lors des échantillonnages de 2002 et 2003, l'eau du marais était de couleur verte mais sans efflorescence, ni colonies apparentes. Les populations observées en 2002 et 2003 sont différentes. En 2002, *Anabaena compacta* (NYG.) HICK. (cyanobactéries hétérocystées) ainsi qu'*Aphanizomenon gracile* (LEMMERM.) LEMMERM. dominaient les eaux du marais. Ces deux espèces ont été peu observées en 2003, à l'opposé des cyanobactéries filamenteuses non-hétérocystées appartenant au genre *Planktothrix* qui dominaient les populations cyanobactériennes. De plus, en 2003, quelques *Snowella* sp. et *Microcystis* sp. étaient également présents. *Limnothrix redekei* (VAN GOOR) MEFF. a été observé en des densités réduites dans les échantillons récoltés au cours des périodes estivales 2002 et 2003. Chaque année, les populations algales des étangs du Romelaëre apparaissent très diversifiées. Elles sont principalement

constituées d'Euglénophycées (*Euglena* sp.), de Chlorophytes (*Desmodesmus* sp., *Phacotus* sp., *Crucigenia* sp., etc.) de quelques espèces de diatomées et de Dinophycées (Fig. 29).

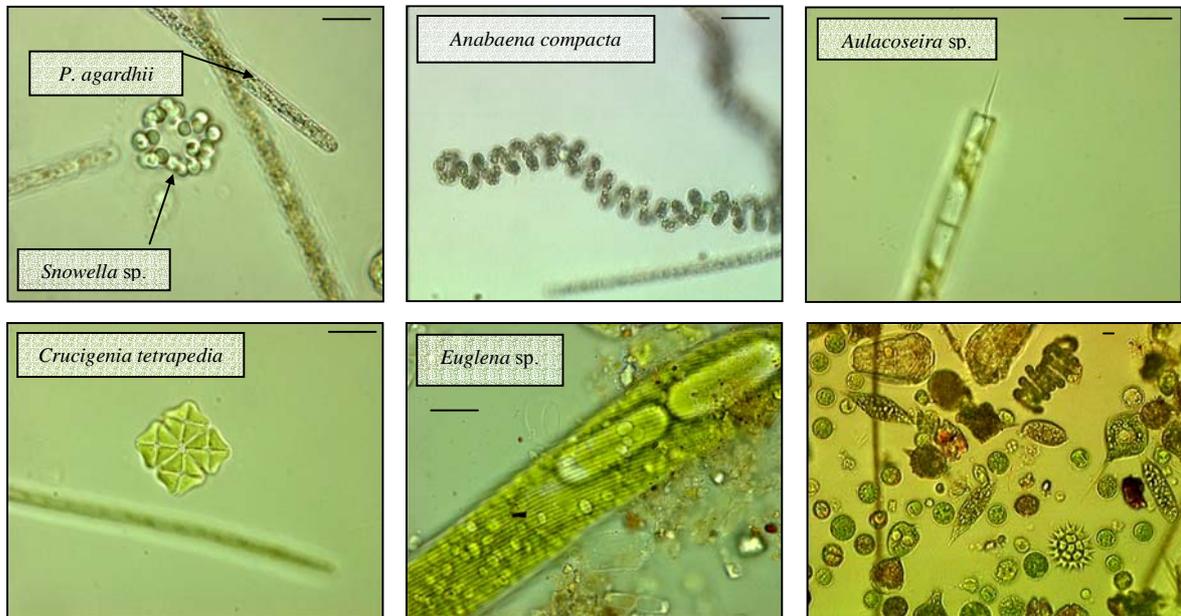


Fig. 29 : Quelques algues et cyanobactéries observées au marais du Romelaère à Clairmarais (les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

5.2.3. Pré du Hem à Armentières

Le Pré du Hem est une base nautique aménagée entre Armentières et Nieppe. Les prélèvements ont été menés depuis l'embarcadère.

En 2002, les populations cyanobactériennes étaient dominées par *Anabaena*, *Aphanizomenon* et *Microcystis*. La plupart des colonies de *Microcystis* étaient composées de filaments de *Pseudanabaena mucicola* (NAUM. Et HUB.-PEST.) BOURR. Aucune efflorescence n'a été observée. Par contre, en 2003, malgré le traitement des eaux de la Lys alimentant le lac, une efflorescence très importante, ayant vraisemblablement provoqué la mort de plusieurs oiseaux recouvrait les eaux du lac sur une surface de plusieurs dizaines de mètres carrés (Fig. 30) ! Cette efflorescence était majoritairement composée de cyanobactéries unicellulaires coloniales appartenant à l'espèce potentiellement toxique : *Microcystis aeruginosa* (KÜTZ.) KÜTZ. Ces colonies atteignaient parfois la dimension d'un œuf de poule ! *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM., *Aphanizomenon gracile* (LEMMERM.) LEMMERM. et *Aphanizomenon issatschenkoi* (USAČČČČ.) PROŠK.-LAVR. étaient également présents en des densités importantes. Par contre, *Anabaena planctonica* BRUNNTH. ainsi que *Limnothrix redekei* (VAN GOOR) MEFF. ont été rarement observés (Fig. 31).



Fig. 30 : Efflorescences de *Microcystis aeruginosa* en été 2003 (cyanobactéries)

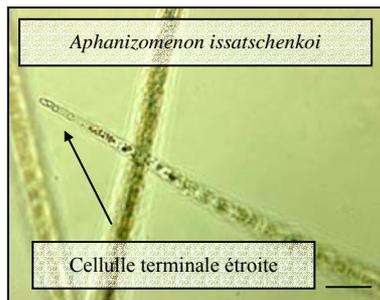
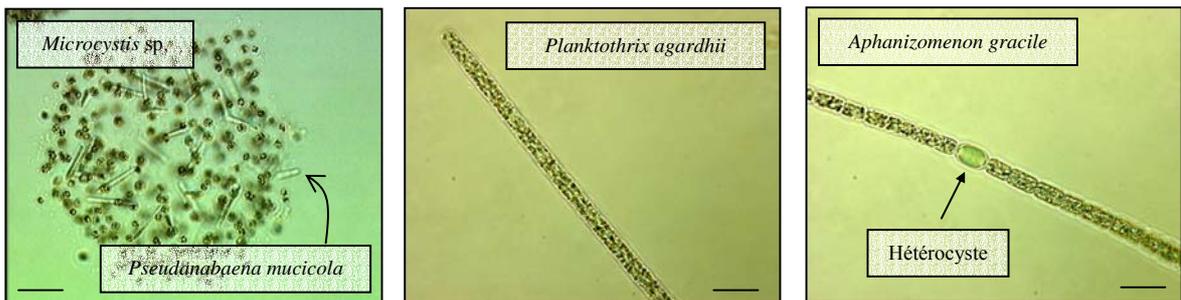


Fig. 31 : Cyanobactéries dominantes du lac du Pré du Hem (les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

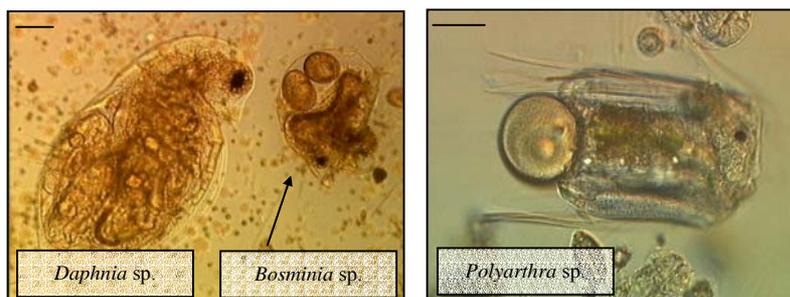
Villeneuve-d'Ascq

Le lac du Héron est un des lacs artificiels situé à Villeneuve-d'Ascq. Ce site entouré d'un parc, de collines et de forêts est un lieu de promenade et de loisirs nautiques. Les prélèvements ont été effectués devant le club de voiles.

Les échantillons récoltés en 2002 contenaient beaucoup de crustacés et de rotifères. Les cyanobactéries, les Chlorophytes et les Euglénophytes dominaient le phytoplancton. *Anabaena*, *Aphanizomenon* et *Microcystis* étaient les 3 genres de cyanobactéries principaux.

En 2003, *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM. dominait les populations cyanobactériennes. Quelques filaments d'*Aphanizomenon issatschenkoi* (USAČČČČ.) PROŠK.-LAVR.) ont également été observés. Concernant les algues eucaryotes, seuls quelques *Cryptomonas* (Cryptophycées) ont été recensés (Fig. 32).

En 2002 et 2003, aucune efflorescence n'était présente même si les eaux étaient d'un bleu-vert soutenu.



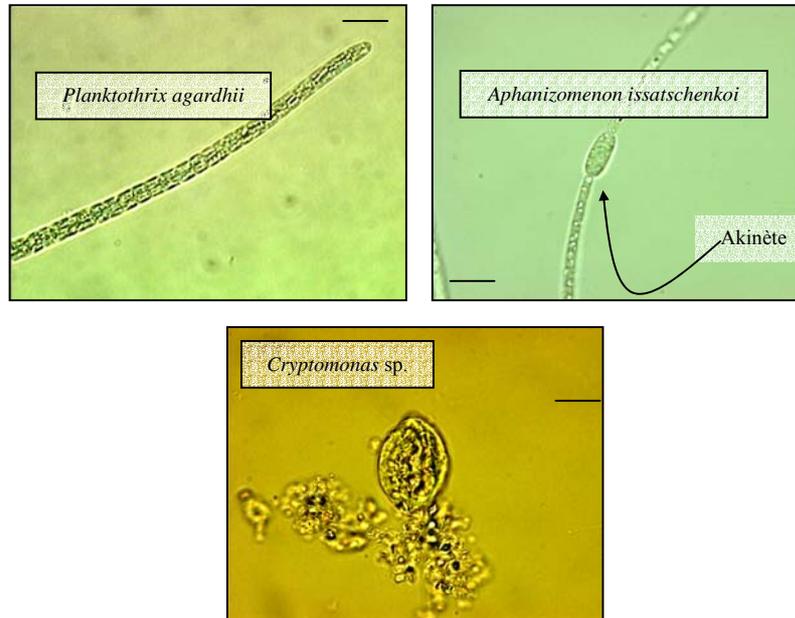


Fig. 32 : Zooplancton et phytoplancton dominants observés au lac du Héron à Villeneuve-d'Ascq

(les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

5.2.5. Marais de la Sensée près de Fressies (Aubigny-au-bac)

Les marais de la Sensée sont localisés le long du lit de la Sensée. L'échantillonnage du marais situé près de Fressies a été réalisé à partir des berges situées à côté du club de voiles.

Limnothrix redekei (VAN GOOR) MEFF. (Oscillatoriales) dominait les populations phytoplanctoniques des échantillons récoltés en 2002 et 2003. Quelques colonies de *Microcystis*, des Euglénophytes des genres *Euglena* et *Trachelomonas* ont été également mis en évidence au cours des deux périodes estivales. Par contre, *Aphanizomenon* et *Planktothrix* (*très abondant*) n'étaient, respectivement, présents que dans les échantillons 2002 et 2003 (Fig. 33).

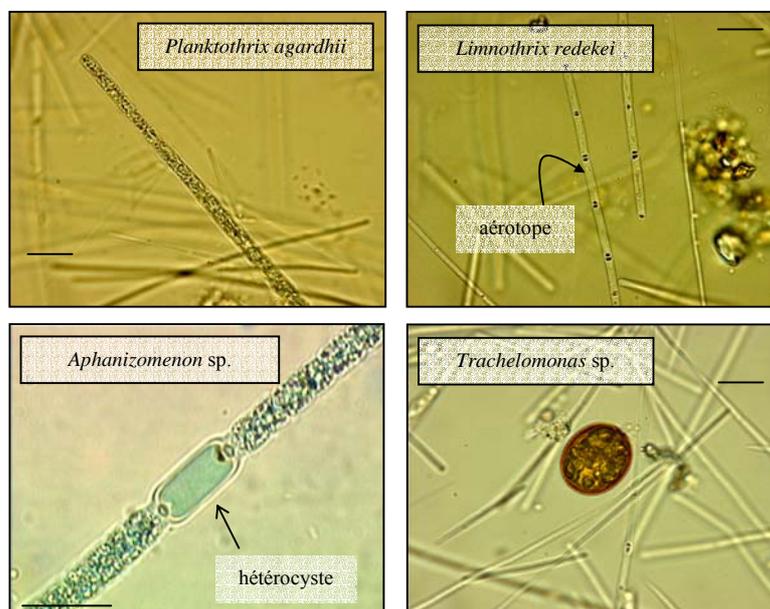


Fig. 33 : Algues et cyanobactéries dominantes observées au Marais de la Sensée près de Fressies (Aubigny au bac)
(les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

5.2.6. Mare à Goriaux à Raismes

La Mare à Goriaux, accessible dès la sortie de l'autoroute, est située au cœur du Parc Naturel Régional de la Plaine de la Scarpe et de l'Escaut. Ce plan d'eau sauvage de 120 hectares est apparu à la suite d'un effondrement minier. Les prélèvements ont été réalisés au pied du terril. Ce plan d'eau est caractérisé par sa faible teneur en phytoplancton. En effet, malgré la filtration de plusieurs litres d'eau, seules quelques algues et cyanobactéries ont pu être observées. Ainsi, en 2002, quelques copépodes, des Euglénophytes (*Phacus* sp.) et des Chlorophytes composaient le plancton de l'échantillon récolté.

En 2003, quelques rares Cryptophycées du genre *Cryptomonas*, des diatomées du genre *Cyclotella* sp., ainsi que quelques *Mallomonas* (Chrysophycées) et *Woronichinia* (cyanobactéries) ont été révélés (Fig. 34).

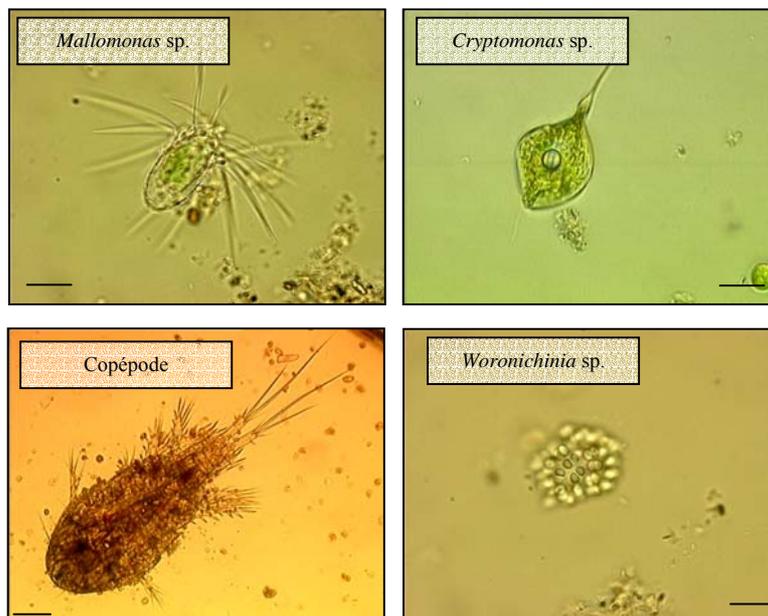


Fig. 34 : Plancton dominant observé à la Mare à Goriaux à Raismes
(les barres noires correspondent à 10 µm de longueur)

5.2.7. Etang d'Amaury au Vieux-Condé

L'étang d'Amaury est constitué d'un plan d'eau ovale et de deux petits bassins. Le prélèvement a été effectué depuis le ponton situé en face du Centre d'Education à l'Environnement d'Amaury.

En 2002, l'eau était d'un vert foncé homogène. Dans les deux petits bassins reliés au plus grand plan d'eau, des « mèches » de cyanobactéries recouvraient une partie de la surface. Ces amas étaient majoritairement constitués de filaments de *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM. et de quelques colonies de *Microcystis*.

En 2003, les lentilles d'eau avaient colonisé les petits bassins. Entre les méandres créés par cette végétation, on pouvait distinguer de fines traînées bleuâtres correspondant à des efflorescences de cyanobactéries. Quelques mortalités de poissons ont également été enregistrées. *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM. ainsi qu'*Aphanizomenon gracile* (LEMMERM.) LEMMERM. étaient abondantes. Ces deux cyanobactéries co-domaient les échantillons prélevés. Quelques *Limnothrix redekei* (VAN GOOR) MEFF., *Anabaena compacta* (NYG.) HICK. et *Anabaena crassa* (LEMMERM.) KOM.-LEGNER. et CRONB. ont été détectées. Les Cryptophycées du genre *Cryptomonas* étaient également fort abondantes (Fig. 35).

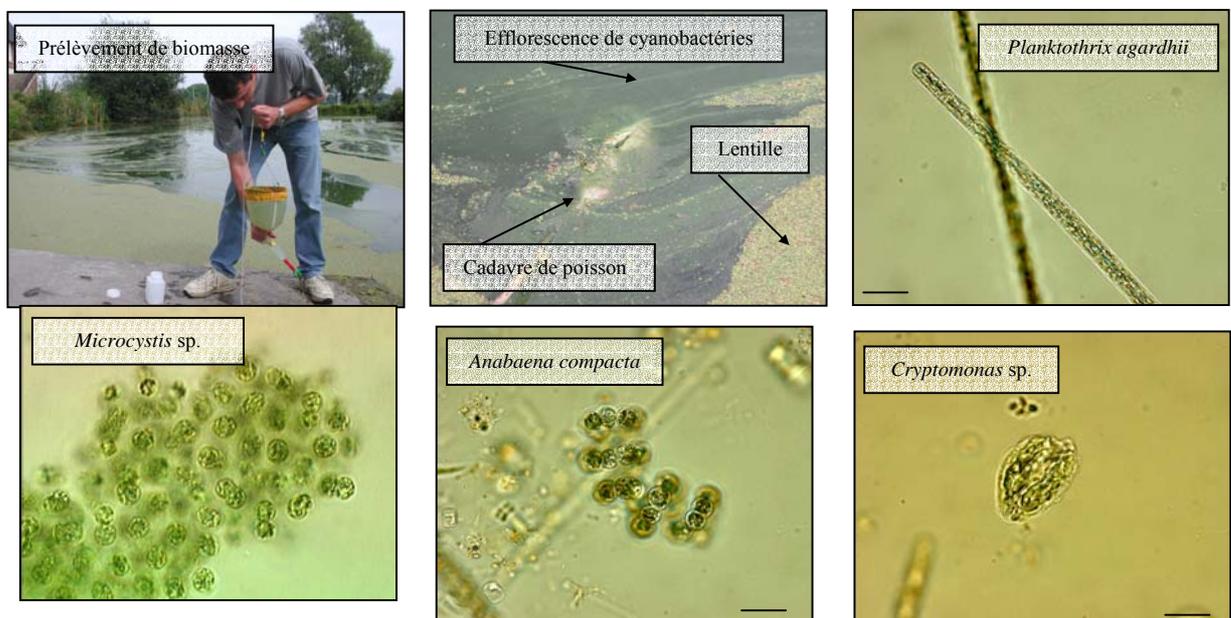


Fig. 35 : Efflorescence de cyanobactéries / algues et cyanobactéries dominantes observées à l'étang d'Amaury au Vieux-Condé (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.8. Etang de Chabaud-Latour à Condé-sur-l'Escaut

Cet étang aménagé est situé au cœur de la ville. Le prélèvement a été fait depuis le ponton situé à côté du centre d'information. En 2002, lors de la visite de l'étang, celui-ci était recouvert d'une épaisse couche d'agglomérats de cyanobactéries. Cette couche était principalement composée de larges colonies de *Microcystis aeruginosa* (KÜTZ.) KÜTZ., espèce potentiellement toxique fréquemment responsable de cas de mortalités animales.

Au contraire, en 2003, peu de cyanobactéries ont été mises en évidence (quelques *Woronichinia*). *Cryptomonas* et *Rhodomonas* étaient les algues dominantes du phytoplancton à cette date. Quelques diatomées ont également été observées (Figure 36).

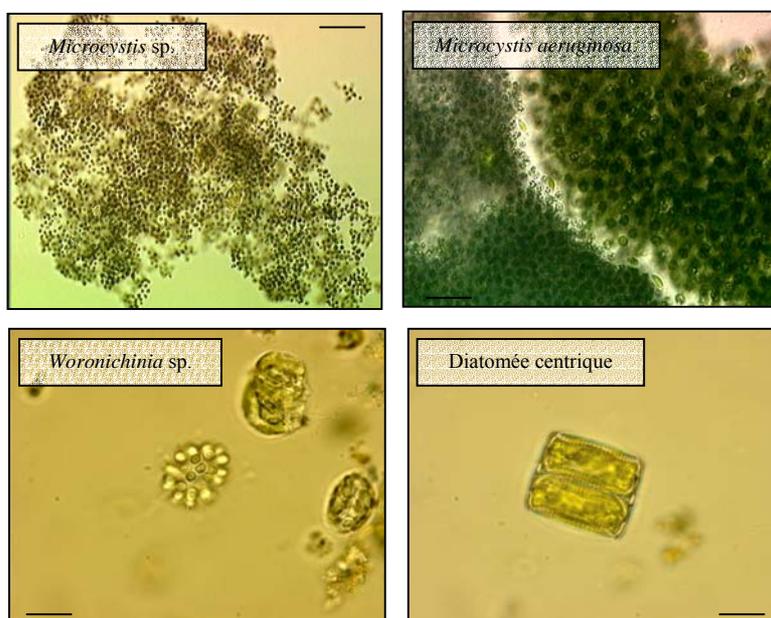


Fig. 36 : Algues et cyanobactéries dominantes observées à l'étang de Chabaud-Latour à Condé-sur-l'Escaut (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.9. Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)

L'étang est sur un site aménagé bordé d'un côté par la ville et ses remparts, de l'autre par une route. Le prélèvement a été mené sur la plage située à côté de l'embarcadère.

En 2002, les Chlorophytes dominaient le phytoplancton. Il y avait peu de cyanobactéries, néanmoins quelques larges colonies de *Microcystis aeruginosa* (KÜTZ.) KÜTZ. ainsi que quelques trichomes (filaments) de *Planktothrix* ont été visionnés dans l'échantillon récolté. Par opposition, en 2003, les cyanobactéries dominaient le phytoplancton (Fig. 37). Parmi les cyanobactéries présentes, de nombreuses *Woronichinia naegeliana* (UNG.) ELENK. ont été détectées ainsi que quelques Nostocales (*Anabaena spiralis*, *Aphanizomenon gracile* (LEMMERM.) LEMMERM., *Aphanizomenon issatschenkoi* (USAČČČ.) PROŠK.-LAVR.

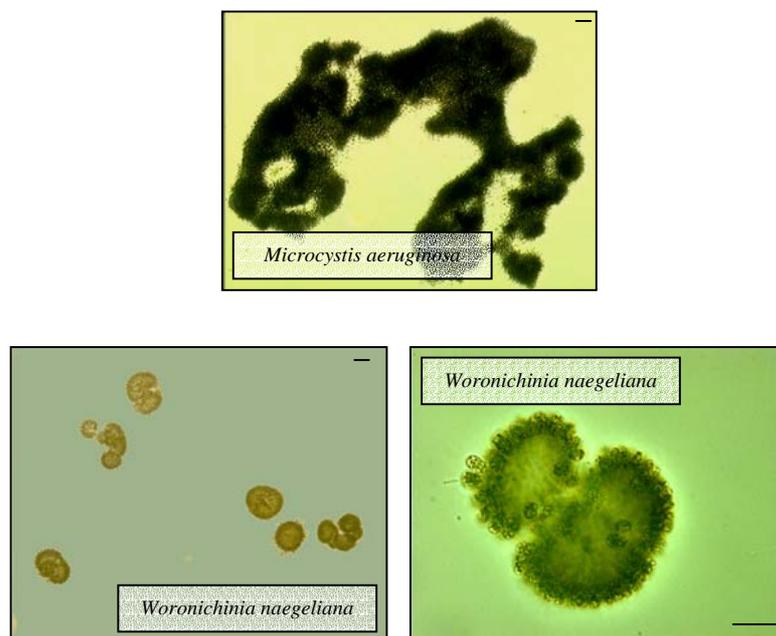
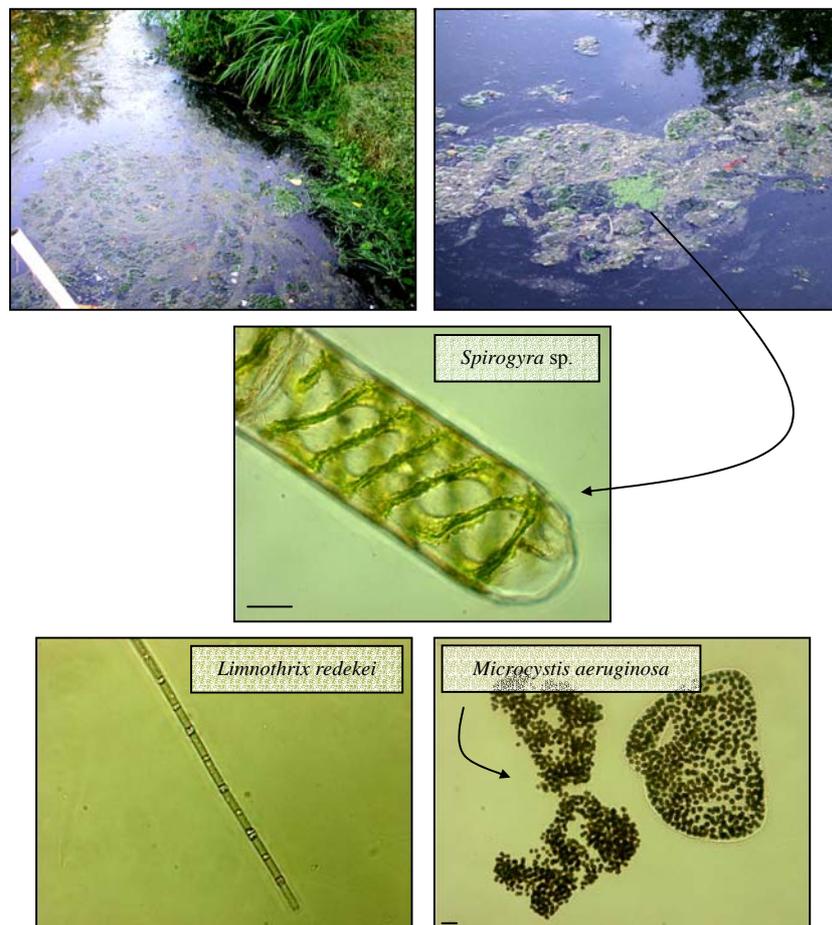


Fig. 37 : Cyanobactéries dominantes observées à l'étang du Pont Rouge au Quesnoy (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.10. Péronne (Haute-Somme)

Ce lac, situé à l'entrée de la ville, était dominé par des tapis de *Spirogyra* sp. flottant à la surface de l'eau. Les populations cyanobactériennes, fort présentes en 2003, étaient composées d'espèces unicellulaires coloniales appartenant au genre potentiellement toxique *Microcystis*. Les espèces *M. wesenbergii* (KOM.) KOM., *M. flos-aquae* (WITTR.) KIRCHNER, *M. cf. ichthyoblabe* KÜTZ. ont été identifiées. De même, quelques *Aphanizomenon issatschenkoii* (USAČČČČ.) PROŠK.-LAVR., *Anabaena planctonica* BRUNNTH. et *Limnothrix redekei* (VAN GOOR) MEFF. ont été détectés (Fig. 38).

Les eaux de ce lac sont caractérisées par des concentrations importantes en composés azotés. Ainsi, les teneurs en nitrate sont les plus élevées de toutes les pièces d'eau prospectées (1,86 N-NO₃ mg/l). La transparence est également élevée avec 110 cm.



Microcystis wesenbergii

Fig. 38 : Algues et cyanobactéries dominantes observées au lac de Péronne
(Haute-Somme)

(les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.11. Etang du Vignoble à Valenciennes.

En 2003, une grande diversité de cyanobactéries appartenant aux Nostocales était présente dans ce lac. Toutefois, les densités atteintes par celles-ci étaient assez réduites. Les espèces suivantes ont été mises en évidence : *Anabaena flos-aquae* BRÉB. ex BORN. et FLAH., *Aphanizomenon issatschenkoi* (USAČČČ.) PROŠK.-LAVR., *Anabaena compacta* (NYG.) HICK. Quelques *Woronichinia* cf. *compacta* (LEMMERM.) KOM. et HIND. étaient également présents dans l'échantillon prélevé. Aucun développement massif n'a été enregistré.

Les algues eucaryotes étaient principalement composées de *Phacus* sp. (Euglénophycées) et de diatomées du genre *Cyclotella* sp. (Fig. 39).

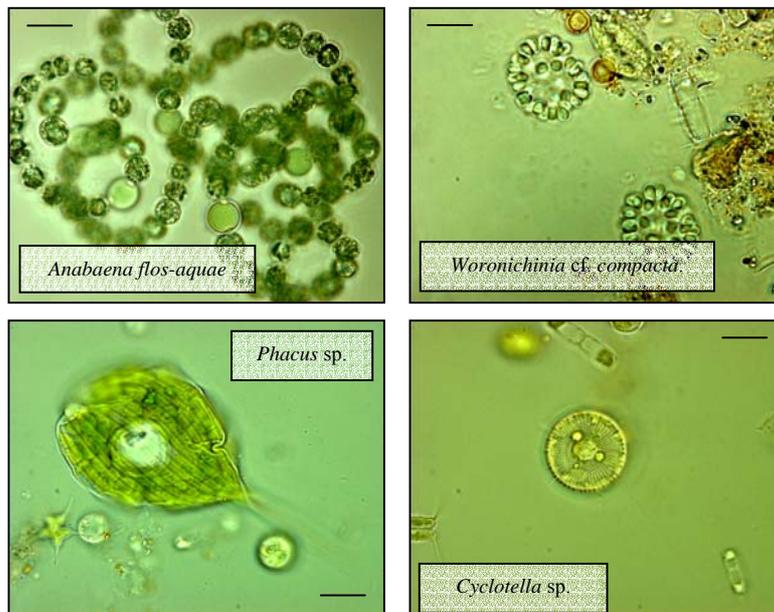


Fig. 39 : Algues et cyanobactéries dominantes observées à l'étang du Vignoble à Valenciennes
(les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.12. Etang du centre loisirs Fortier (Saint-Saulve)

En 2003, les étangs du centre de loisirs étaient recouverts d'un fin tapis de cyanobactéries flottant en surface. Ce tapis bactérien était principalement composé d'*Anabaena* cf. *smithii* (KOM.) M. WATANABE, espèce filamenteuse hétérocystée. De nombreuses Chroococcales appartenant au genre *Microcystis* ont été également observées (*M. aeruginosa* (KÜTZ.) KÜTZ., *M. wesenbergii* (KOM.) KOM., *M. flos-aquae* (WITTR.) KIRCHNER, *M. cf. ichthyoblabe* KÜTZ). Le genre *Closterium* (Chlorophytes) était particulièrement abondant. Il « co-dominait » les populations phytoplanctoniques avec *Anabaena* cf. *smithii* (Fig. 40).

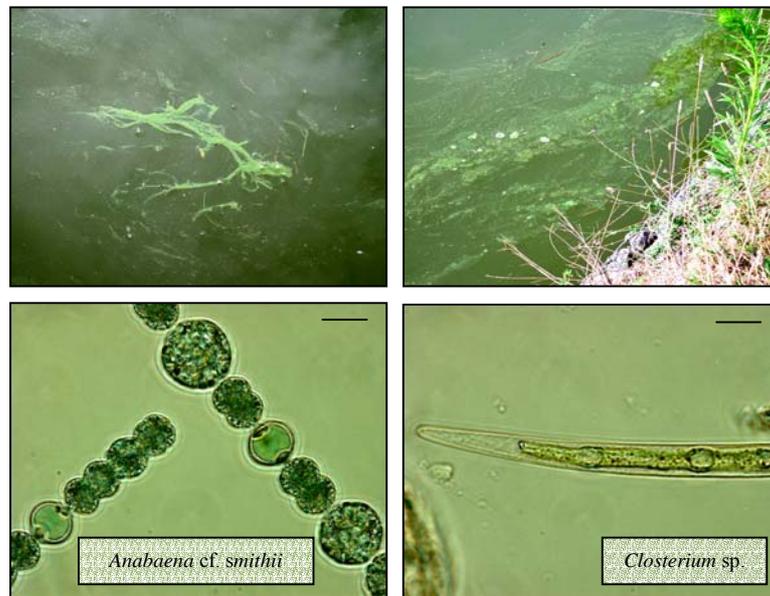


Fig. 40 : Efflorescence de cyanobactéries - algues et cyanobactéries dominantes observées à l'étang du centre loisirs Fortier à Saint-Saulve (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.13. Etangs du Watissart

Le site du Watissart est situé à Jeumont dans le bassin de la Sambre, près du site Lapeyre. Cet étang profond est localisé sur le site d'une ancienne carrière. Il est alimenté par un ruisseau qui prend sa source dans le bois du Watissart. Cet étang est utilisé pour la pêche. Une efflorescence a été reportée en février 2002.

Lors du prélèvement ponctuel effectué le 22-08-02, les eaux de l'étang étaient assez translucides. Aucune efflorescence n'a été constatée. A cette époque, des Dinophytes du genre *Ceratium* dominaient les eaux du lac. Cependant, de nombreuses colonies de cyanobactéries picoplanctoniques ainsi que de courts filaments de *Planktothrix agardhii* (GOMONT) ANAGN. et KOM. étaient présents dans les échantillons récoltés (Fig. 41).

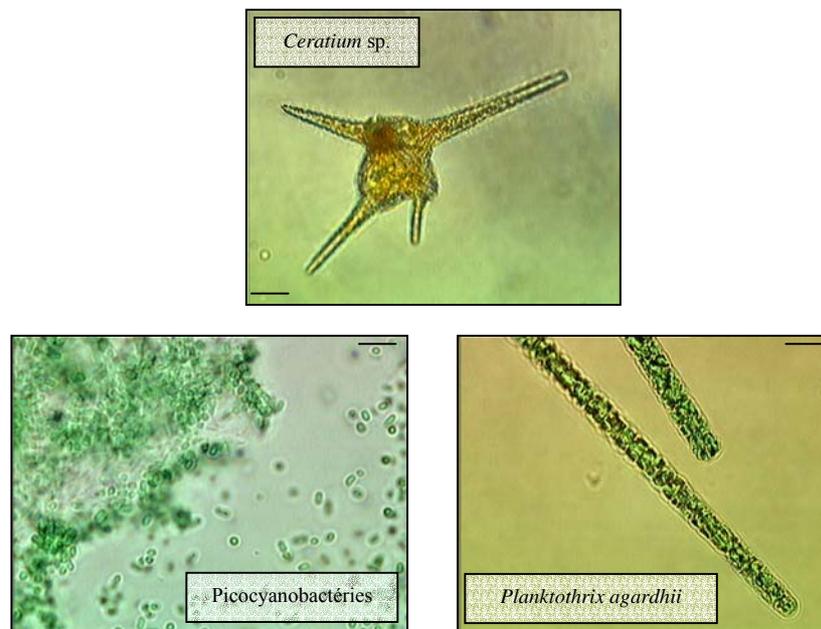


Fig. 41 : Algues et cyanobactéries dominantes observées aux étangs du Watissart (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

5.2.14. Etang Lapeyre

L'étang Lapeyre situé à Jeumont est un lieu de pêche couramment fréquenté. L'échantillonnage effectué le 22-08-02 a pu mettre en évidence de nombreuses cyanobactéries ainsi que des Euglènes (*Euglena* sp.). Le genre *Aphanizomenon* était le genre dominant chez les cyanobactéries. Des *Anabaena* et des *Microcystis* étaient également présents (Fig. 42).

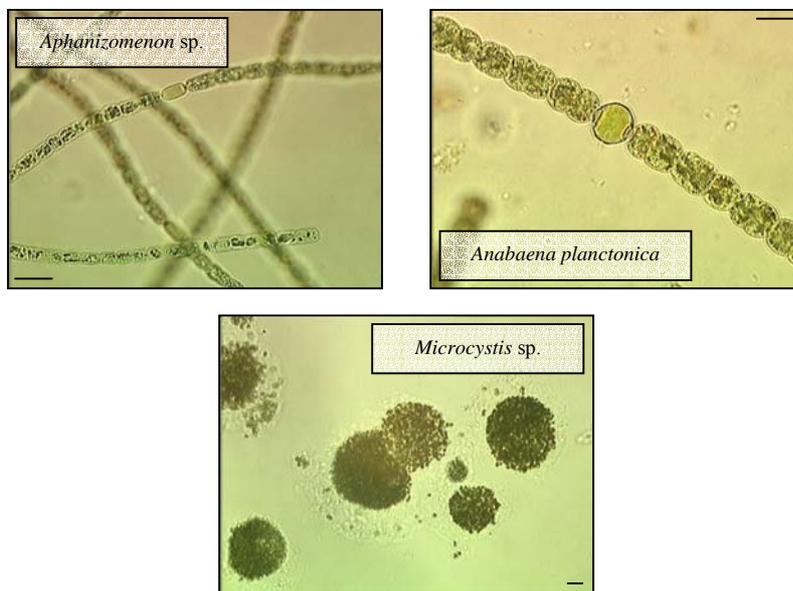


Fig. 42: Cyanobactéries dominantes observées à l'étang Lapeyre (les barres noires correspondent à 10 μm de longueur)

Le tableau 9 résume l'ensemble des observations des échantillons prélevés dans les différents étangs visités les 4 et 5 septembre. Il est important à signaler que des cyanobactéries toxigènes ont été révélées dans la plupart des plans d'eau. Par conséquent, la grande majorité de ces sites doivent être considérés comme potentiellement toxiques pour tout organisme entrant en contact avec leur eau.

Site	Date	Bloom	Dominance	Cyanobactéries
Lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque)	2002	non	cyanobactérie	Microcystis sp. Woronichinia sp. Anabaena lemmermannii Aphanizomenon sp.
	2003	non	cyanobactérie	Microcystis sp. Anabaena lemmermannii
Marais du Romelaère (Clairmarais)	2002	non	cyanobactérie	Limnothrix redekei Anabaena compacta Aphanizomenon gracile
	2003	non	chlorophyte	Microcystis sp. Snowella sp. Limnothrix redekei Planktothrix agardhii Anabaena compacta Aphanizomenon gracile
Pré du Hem (Armentières)	2002	non	cyanobactérie	Microcystis sp. Pseudanabaena mucicola Anabaena sp. Aphanizomenon sp.
	2003	oui	cyanobactérie	Microcystis aeruginosa Limnothrix redekei Planktothrix agardhii Anabaena planctonica Aphanizomenon gracile Aph. issatschenkoï
Lac du Héron (Villeneuve-d'Ascq)	2002	non	cyanobactérie chlorophyte euglénophyte	Microcystis sp. Anabaena sp. Aphanizomenon sp.
	2003	non	cyanobactérie	Planktothrix agardhii Aphanizomenon issatschenkoï
Marais de la Sensée (Aubigny-au-Bac et Fressies)	2002	non	cyanobactérie	Microcystis sp. Limnothrix redekei Aphanizomenon sp.
	2003	non	cyanobactérie	Microcystis sp. Limnothrix redekei Planktothrix sp.
Mare à Goriaux (Raismes)	2002	non	chlorophyte	/
	2003	non	cryptophyte	Woronichinia sp.
Etang d'Amaury (Vieux-Condé)	2002	oui	cyanobactérie	Microcystis sp. Planktothrix agardhii
	2003	oui	cyanobactérie	Limnothrix redekei Planktothrix agardhii Anabaena crassa Anabaena compacta Aphanizomenon gracile
Etang de Chabaud-Latour (Condé/Escaut)	2002	oui	cyanobactérie	Microcystis aeruginosa
	2003	non	cryptophyte	Woronichinia sp.
Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	2002	non	chlorophyte	Microcystis aeruginosa Planktothrix sp.
	2003	Non	cyanobactérie	Woronichinia naegeliana Anabaena sp. (formes spiralées) Aphanizomenon gracile Aphanizomenon issatschenkoï
Péronne (Haute-Somme)	2003	oui*	chlorophyte	M. cf. ichthyoblabe M. flos-aquae M. wesenbergii Limnothrix redekei Anabaena planctonica Aphanizomenon issatschenkoï

Site	Date	Bloom	Dominance	Cyanobactéries
Etang du Vignoble (Valenciennes)	2003	non	diatomée euglénophyte	Woronichinia cf. compacta Anabaena flos-aquae Anabaena compacta Aphanizomenon issatschenkoi
Etang du centre de loisirs Fortier (Saint-Saulve)	2003	oui	cyanobactérie chlorophyte	M. aeruginosa M. cf. ichthyoblabe M. flos-aquae M. wesenbergii Anabaena cf. smithii
Etangs du Wattissart	22-08-2002	non	dinophyte	Picocyanobactérie Planktothrix sp.
Etangs Lapeyre	22-08-2002	non	cyanobactérie euglénophyte	Microcystis sp. Anabaena sp. Aphanizomenon sp.

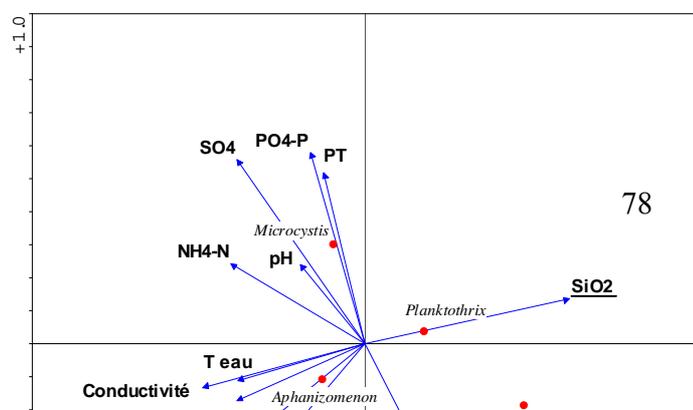
L'analyse des données physico-chimiques et des données relatives à la dominance des genres de cyanobactéries a été réalisée dans le but de définir les paramètres environnementaux contrôlant la dominance des cyanobactéries en milieu eutrophe à hypereutrophe. Le genre *Woronichinia* n'a pas été pris en compte dans l'analyse statistique car celui-ci n'a été révélé que dans très peu de plans d'eau (moins de 5 %).

L'analyse canonique des correspondances (CCA) (Fig. 43), couplée au test de permutation de Monte-Carlo, révèle l'influence de 3 paramètres majeurs ayant une action sur la dominance cyanobactérienne : le rapport TN/TP, la concentration en chlorure, ainsi que la concentration en silicium.

La dominance d'*Anabaena* et *Aphanizomenon* est positivement corrélée au rapport TN/TP ainsi qu'aux concentrations élevées en chlorure. A l'opposé, ces genres sont négativement corrélés aux concentrations en silicium. *Microcystis* semble être relativement indépendant de ces trois paramètres puisque la projection de son centroïde (matérialisé par le point rouge) sur les 3 axes statistiquement significatifs est proche de l'origine de l'axe. Par contre, la dominance de *Planktothrix* et *Limnithrix* semble être positivement corrélée à la variable silicium et négativement corrélée aux variables chlorures et TN/TP.

Il est important de souligner que vu le nombre relativement réduit de sites échantillonnés, l'interprétation de l'ordination doit être faite avec beaucoup de réserve. Seule l'utilisation d'un plus grand nombre de données reposant notamment sur d'autres plans d'eau pourra, à terme, confirmer ou infirmer ces observations.

Fig. 43 : Ordination d'une analyse canonique des correspondances réalisée sur base de la dominance des genres de cyanobactéries et des données physico-chimiques associées à leur site de prélèvement. Cette analyse implique 18 plans d'eau d'Artois-Picardie où des efflorescences de cyanobactéries ont été constatées. Pourcentage de



5.3. Echantillons postaux relatifs au bassin d'Artois-Picardie

Le tableau 10 inventorie les espèces dominantes d'algues et de cyanobactéries observées dans les échantillons reçus par courrier. Il est important à signaler que beaucoup d'échantillons étaient dans un état de dégradation avancé. Vraisemblablement, certains de ceux-ci n'étaient pas fixés à l'aide d'un agent conservateur ou, ce dernier, n'était pas suffisamment concentré. Par conséquent, il s'avère que les consignes de conservation des échantillons établies en vue de leur acheminement au CRP-GL n'ont pas toujours été respectées.

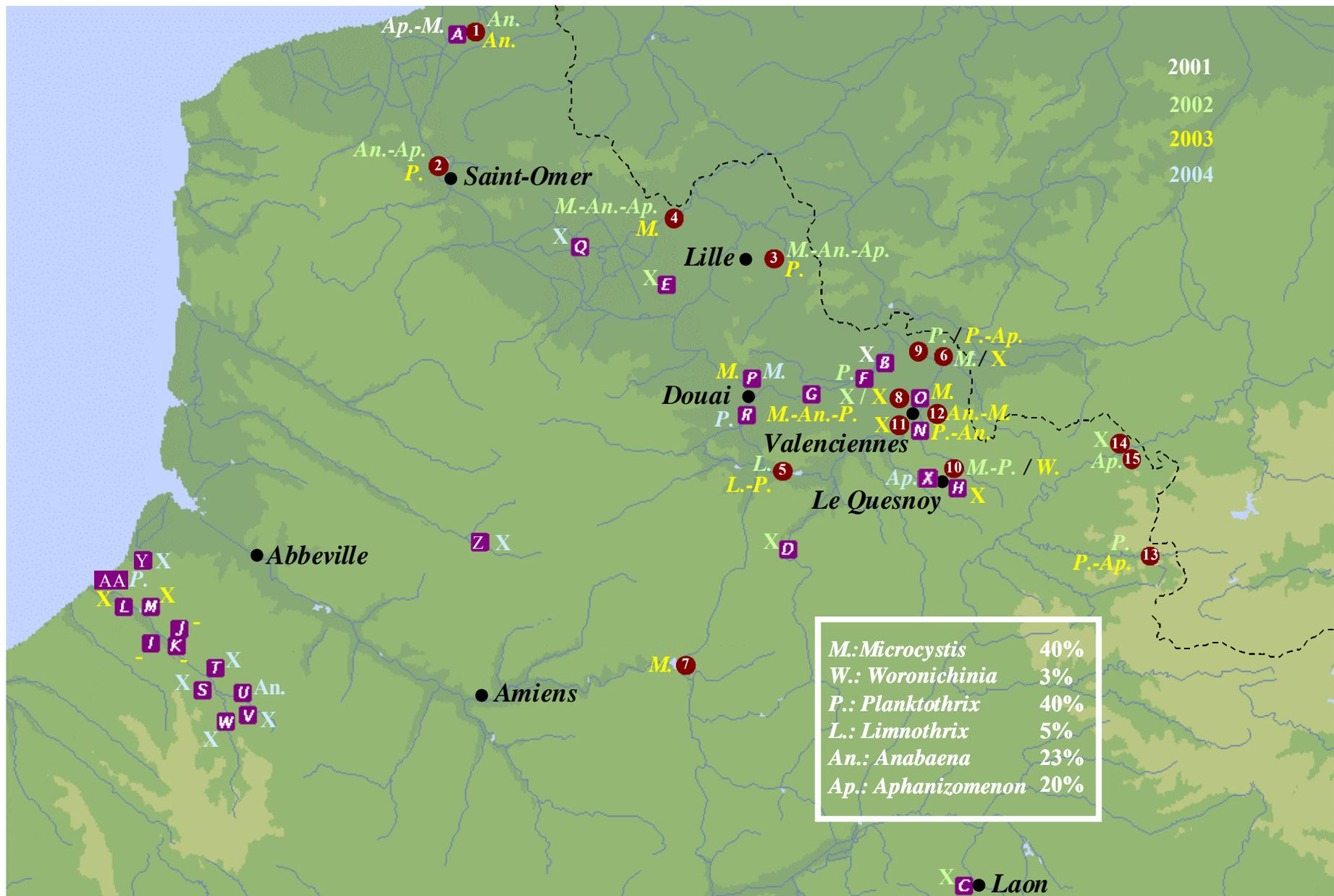
5.4. Abondance relative et distribution géographique des cyanobactéries responsables d'efflorescences dans le bassin d'Artois-Picardie

Sur base des échantillons récoltés lors des deux campagnes d'échantillonnage réalisées au cours des périodes estivales 2002 – 2003 ainsi que sur base des échantillons reçus par courrier postal, il s'avère que *Microcystis* et *Planktothrix* sont les genres les plus fréquemment rencontrés dans les pièces d'eau d'Artois-Picardie dominées par les cyanobactéries. En effet, *Microcystis* et *Planktothrix* (co-) dominant 40 % des plans d'eau investigués. *Anabaena* et *Aphanizomenon* (co-)dominent respectivement 23 %, 20 % des pièces d'eau à efflorescences. Quant à *Limnothrix* et *Woronichinia*, ils sont rarement dominants et (co-)dominent moins de 6 % des échantillons.

La répartition géographique des différents genres responsables d'efflorescences est illustrée sur la carte 3.

N°	Sites	Date	Cyanobactéries	Algues	Remarques
A	Lac d'Armbouts-Cappel (Dunkerque)	15/11/01	Microcystis Aphanizomenon	-	Aucune cellule différenciée n'a été observée sur les trichomes d'Aph.
B	Traitoire Rieulay (Hasnon)	23/11/01	-	-	Présence de bactéries pourpres sulfureuses du genre <i>Chromatium</i> responsables de la coloration rouge des eaux
C	Etang privé Laval en Lannois (Laon)	05/05/02	-	<i>Trachelomonas</i> sp.	La pigmentation brunâtre de cette algue due à la présence de sels ferriques est vraisemblablement responsable de la couleur rouge de l'étang
D	Marcoing (Cambrai)	12/07/02	-	-	Présence de <i>Craspedacustra sowerbyi</i>
E	Etang Aubers (Nord de La Bassée)	07/08/02	-	-	Abondance de protozoaires ciliés du genre <i>Stentor</i>
F	Marais de la Loge à Wandignies-Hamage (Marchiennes)	12/08/02	Cf. <i>Planktothrix</i>	-	Abondance de bactéries pourpres sulfureuse du genre <i>Chromatium</i>
G	Etang privé (Vred)	29/06/03	<i>Microcystis</i> sp. <i>Anabaena</i> sp. <i>Planktothrix agardhii</i>	<i>Desmodesmus</i> sp. <i>Asteriococcus</i> sp.	-
H	Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	23/07/03	-	<i>Desmodesmus</i> sp. <i>Scenedesmus</i> sp. <i>Closterium</i> sp. <i>Staurastrum</i> sp. <i>Pediastrum duplex</i> <i>Coelastrum</i> sp. <i>Chlamydomonas</i> sp. <i>Monoraphidium</i> sp.	-
I	Anse de la pointe de sable/étang à voiles (Gamaches)	-	-	-	Inutilisable ! Mauvais état de conservation
J	Passe entre l'étang du stade et l'étang des 14 maisons (Gamaches)	-	-	-	Inutilisable ! Mauvais état de conservation
K	Fond étang du stade (Gamaches)	-	-	-	Inutilisable ! Mauvais état de conservation
L	Etang Saint-Sauveur (Bouvaincourt sur Bresle)	-	-	Cf. <i>Mougeotia</i>	Conservation problématique
M	Etang du marais Cantepie (Bouvaincourt sur Bresle)	-	-	Diatomées <i>Spirogyra</i> sp.	Conservation problématique
N	Etang de Famars	18/08/03	<i>Planktothrix agardhii</i> <i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Phacus</i> sp. <i>Trachelomonas</i> sp.	-
O	Etang à Saint-Saulve	22/08/03	<i>Microcystis wesenbergii</i>	<i>Closterium</i> sp. <i>Aulacoseira</i> sp.	Mauvais état de conservation
P	Roost-Varendin	28/08/03	<i>Microcystis</i> sp.	<i>Phacus</i> sp. <i>Euglena</i> sp.	-
Q	Merville	24/03/04	-	Cf. <i>Chrysidalis</i>	La coloration rouge de l'eau échantillonnée pourrait être induite par la présence combinée de xanthophylles et de particules de fer insolubles
R	Cantin (Douai)	09/06/04	<i>Planktothrix rubescens</i>	-	-
S	Etang n°100 site 1 (Sénarpont)	24/07/04	Picocyanobactéries	Dinophytes	-
T	Etang n°100 site 2 (Sénarpont)	24/07/04	Picocyanobactéries	Dinophytes	-
U	Etang communal n°109 (Guimerville)	24/07/04	<i>Anabaena compacta</i>	-	-
V	Etang communal n°110 (Guimerville)	24/07/04	Picocyanobactéries	<i>Trachelomonas</i> sp. <i>Scenedesmus</i> sp.	-
W	Etang communale n°136 (Neuville-Cappegueule)	24/07/04	-	<i>Asterionella</i> sp. <i>Nitzschia</i> sp.	-
X	Etang du pont Rouge (Le Quesnoy)	03/08/04	<i>Aphanizomenon gracile</i>	-	-
Y	Hautebut	17/08/04	Quelques <i>Anabaena compacta</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	-
Z	Etang communal d'Authieule	A	-	<i>Cryptomonas</i> sp. <i>Eutetramorus</i> sp.	-
		B	-	<i>Tetraedron</i> sp.	-
AA	Hable d'Ault	15/09/04	<i>Planktothrix agardhii</i>	<i>Aulacosiera</i> sp.	Reçu 6 échantillons comprenant les mêmes populations algales

Tab. 10 : Algues et cyanobactéries dominant les échantillons reçus par courrier postal



Carte 3 : Carte du Bassin d'Artois-Picardie reprenant les cyanobacteries dominants des échantillons analysés
(X : populations cyanobactériennes absentes ou non-dominantes)
(les lettres correspondent aux échantillons postaux, les nombres aux échantillons récoltés lors des campagnes de prospection 2002-2003)

5.5. Efflorescences de cyanobactéries en Belgique, au Grand-Duché de Luxembourg et dans le nord-est de la France

5.5.1. Le lac de la Haute-Sûre (Luxembourg)

L'ensemble des données physico-chimiques relatives au lac sont reprises aux figures 44 A-L.

5.5.1.a. Paramètres météorologiques et hydrologiques

Les fluctuations journalières de la température de l'air et de l'intensité lumineuse suivent une même évolution au cours des trois années d'échantillonnage (Fig. 44J).

Les médianes des températures relevées en 1999 et 2000 sont similaires avec respectivement : 13.1 °C, 13.5 °C. Celle de l'année 2001 est légèrement inférieure avec 12.1 °C. La valeur minimale enregistrée au cours de ces trois années est de -0.6 °C, quant au maximum, il atteint la valeur de 21.4 °C.

Les intensités lumineuses enregistrées par la station météorologique située en bordure du lac démontrent que l'année 2001 est l'année au cours de laquelle les valeurs étaient les plus importantes (min : 25.2 W/m², max : 343.8 W/m² médiane : 166.2 W/m²) contrairement aux années 1999 et 2000 où les valeurs enregistrées étaient plus réduites (1999 - min : 11.4 W/m², max : 274.7 W/m², médiane : 160.1 W/m² / 2000 - min : 19.7 W/m², max : 335.6 W/m², médiane : 154.8 W/m²).

Le niveau du lac est régulé de façon à favoriser les activités nautiques estivales en maximisant la ligne de côte du plan d'eau (Fig. 44H). A l'inverse, en automne, la profondeur du lac est réduite en prévision des abondantes précipitations hivernales. L'amplitude maximale de ces différences de profondeur est de 4 m.

Les variations du débit de la Sûre (affluent majeur du lac) illustrent les événements pluvieux relatifs au bassin versant. Ainsi, de manière générale, les débits enregistrés sont nettement plus faibles en été (généralement < 5 m³/s) qu'en hiver (proche de 10 m³/s) (Fig. 44H).

5.5.1.b. Régime thermal et zone euphotique

La stratification thermique (incluant les trois strates : épilimnion, métalimnion, hypolimnion) s'étend de la mi-mai jusqu'à la mi-septembre. Une seule phase de stratification a été observée au cours du monitoring. Dès lors, le lac peut être considéré comme un lac monomictique.

La température de l'eau la plus faible a été enregistrée en février 1999 avec 3.3 °C. Quant au maximum de 22.5 °C, il a été atteint le 20 juin 2000 (Fig. 44G).

Les valeurs de transparence les plus élevées sont obtenues au cours de la phase d'eau claire (juin) durant laquelle les valeurs enregistrées sont proches de 6 m (Fig. 44I).

Les valeurs de Z_{eu}/Z_{mix} fluctuent de façon similaire tout au long du monitoring (Fig. 44i). Les moyennes annuelles obtenues sont proches de 1. Le minimum enregistré est de 0.1 (janvier 2001). A la sortie de l'hiver, lorsque peu à peu la masse d'eau se réchauffe, ce rapport croît progressivement pour atteindre les plus grandes valeurs annuelles à la fin du printemps (5.1 en juin 2000). Un rapport égal ou inférieur à 3 indique que la zone de mélange est égale ou inférieure à la zone euphotique. Dans ce cas, les populations phytoplanctoniques sont continuellement maintenues dans la partie illuminée de la colonne d'eau.

5.5.1.c. Saisonnalité des paramètres physico-chimiques

Comme dans la plupart des lacs tempérés, les valeurs de Chl-a sont plus faibles en hiver qu'en été. Les pics maximums enregistrés au cours des années 1999-2000 et 2001 sont respectivement de 27.1, 17.3 et 16.6 $\mu\text{g Chl-a/l}$ (Fig. 44F).

Dans les couches supérieures du lac, les concentrations en O_2 dissous ne sont jamais inférieures à 6 mg/l. Les maximums peuvent atteindre des valeurs proches de 13 mg/l durant l'hiver et le début du printemps. Les valeurs les plus faibles sont obtenues à la fin de la période estivale lorsque les populations planctoniques sédimentent (Fig. 44G).

Les valeurs de pH relevées sont presque toujours basiques. Le minimum, le maximum ainsi que la médiane déterminée au cours de ces trois années sont respectivement de 6.5, 10.0, 7.9 (Fig. 44F). Les concentrations en ammonium sont toujours assez faibles provoquant vraisemblablement la consommation des nitrates par les organismes (Fig. 44A). Les concentrations en ammonium sont inférieures au seuil de détection (0.005 mg-N/l) durant les mois estivaux. Elles atteignent les valeurs les plus importantes de l'année au cours de l'automne. Quant aux concentrations de nitrate, elles décroissent progressivement de l'été jusqu'en automne (Fig. 44A).

Les nitrites sont toujours présents en concentrations négligeables.

De même, les concentrations en orthophosphates sont la plupart du temps indétectables ($< 1 \mu\text{g P-PO}_4/\text{l}$). Néanmoins, les valeurs enregistrées en hiver sont proches de 20 $\mu\text{g P-PO}_4/\text{l}$ (Fig. 44B).

La moyenne des valeurs de PT calculée sur l'ensemble du set de valeurs 99-00-01 est de 21 $\mu\text{g-P/l}$ (Fig. 44B). Cette valeur est caractéristique des lacs mésotrophes.

Le rapport N/P, perpétuellement supérieur à 10, indique un déficit en phosphore.

Les valeurs de silicium évoluent de façon similaire à celles des nitrates. En effet, les concentrations les plus élevées sont déterminées au cours de la période hivernal et peu à peu, le long du printemps et de l'été, ces valeurs chutent pour atteindre des concentrations parfois inférieures à 0.1 mg SiO_2/l (Fig. 44C).

L'évolution des valeurs de Fe et de Mn est comparable (Fig. 44D). Les concentrations les plus élevées sont la plupart du temps associées à de faibles biomasses algales.

Finalement, les valeurs de sulfate sont assez constantes et proches 11 mg/l tout au long de l'année.

5.5.1.d. Saisonnalité des paramètres biologiques

Les populations métazooplanctoniques comprennent principalement *Daphnia galeata*, *Daphnia cucullata*, *Diaphanosma* sp., *Bosmina* sp., *Eudiaptomus gracilis*. Les densités fluctuent de 0 à 942 ind./l (médiane 99-00-01: 78 ind./l) (Fig. 44K). Les densités les plus importantes sont atteintes au cours de la période printanière.

Les populations d'hétérotrophes nanoflagellés (HNF) sont essentiellement composées de *Bodomorpha* sp. (Fig. 44L)

Les Oligotriches sont les composants majeurs du groupe des Ciliés (Fig. 44L). Ils ont été observés en de faibles concentrations tout au long du monitoring.

La médiane de densités en bactéries la plus élevée est obtenue en 2000 avec 2.8×10^9 bactéries/l. Le maximum de densités bactériennes a été enregistré en été ($8.9 \times 10^9/\text{l}$, le 18-09-01) (Fig. 44K).

La dynamique phytoplanctonique peut être résumée en trois phases successives de développement (Fig. 45). La première correspond au bloom printanier de diatomées, la seconde à la dominance des cryptophycées au cours de la phase d'eau claire. Et la troisième, aux pics de densité irréguliers des populations de diatomées, de chlorophytes et de cyanobactéries se succédant au cours de l'été.

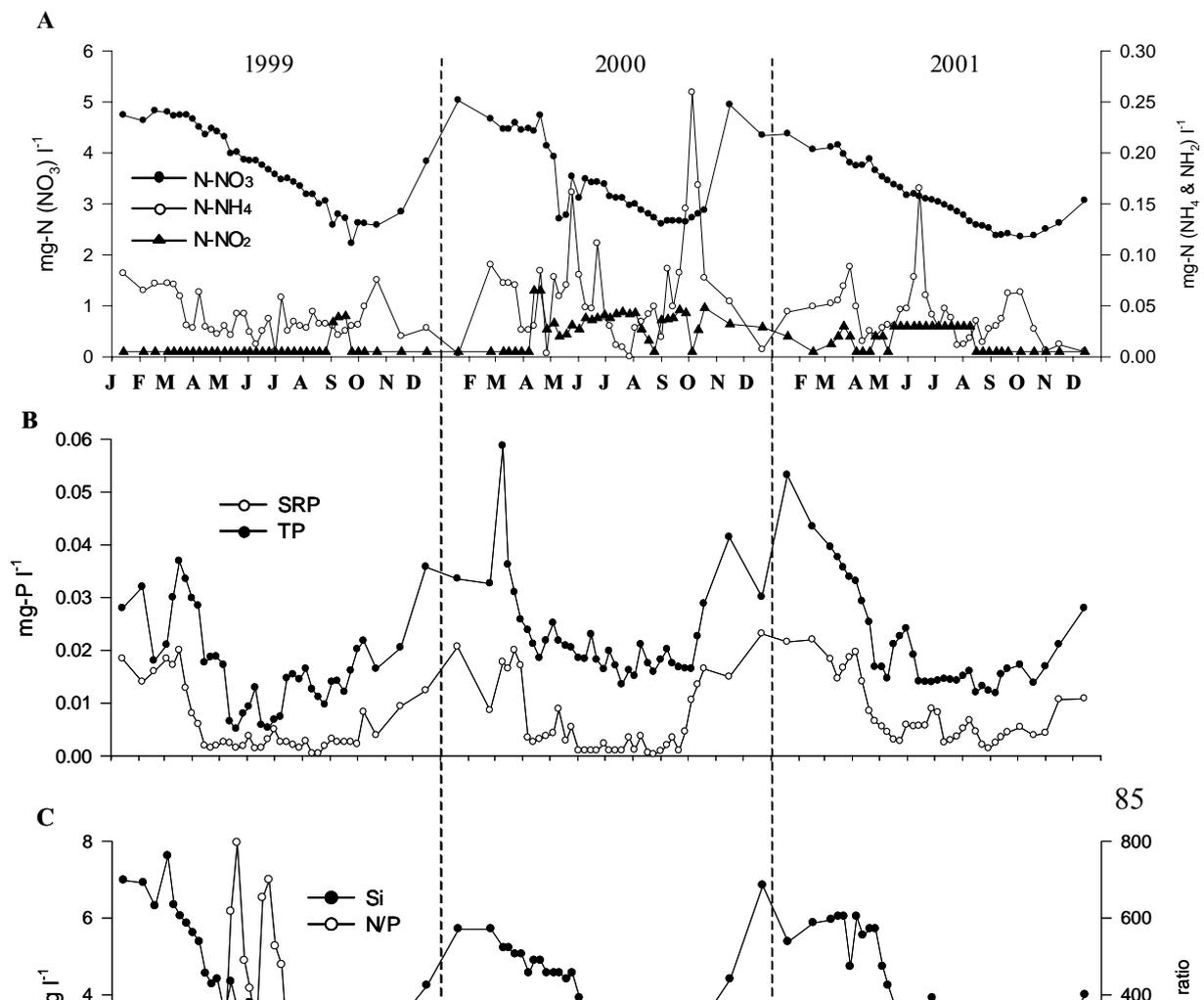
En terme de biovolume, les diatomées représentent le groupe majeur avec 37 % du biovolume phytoplanctonique total annuel contre 11 % pour les cyanobactéries. Les chlorophytes et les cryptophytes atteignent des biovolumes annuelles semblables avec respectivement 34 et 23 %. Malgré des biovolumes de cyanobactéries assez réduits, des efflorescences ont été observées chaque année en différents points du lac.

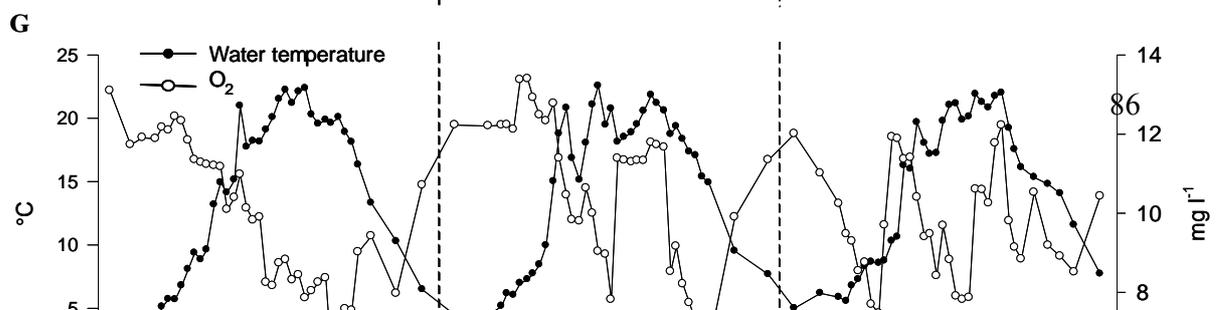
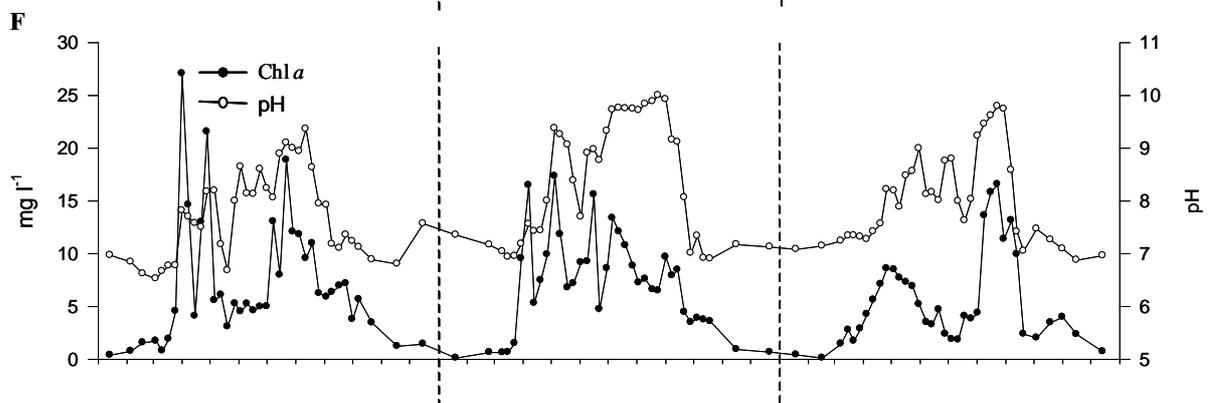
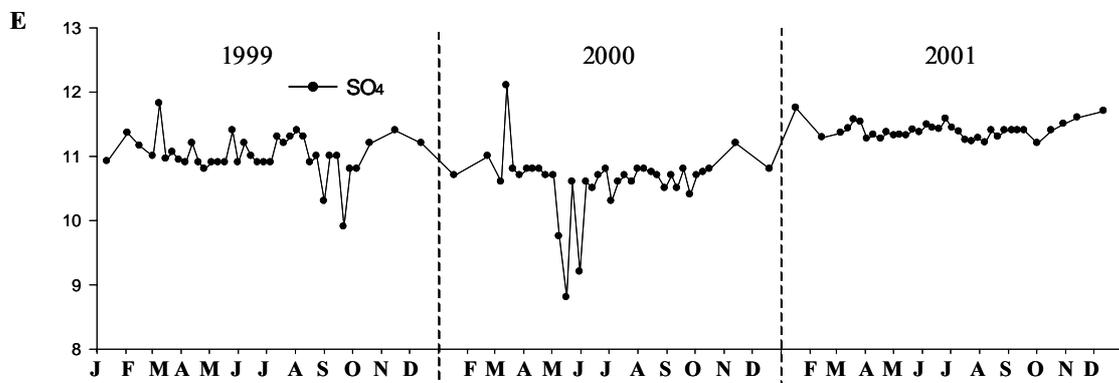
Les populations estivales de diatomées étaient essentiellement composées de *Fragilaria crotonensis*, celles de chlorophytes d'*Eutetramorus* sp. et d'*Elakatothrix genevensis*.

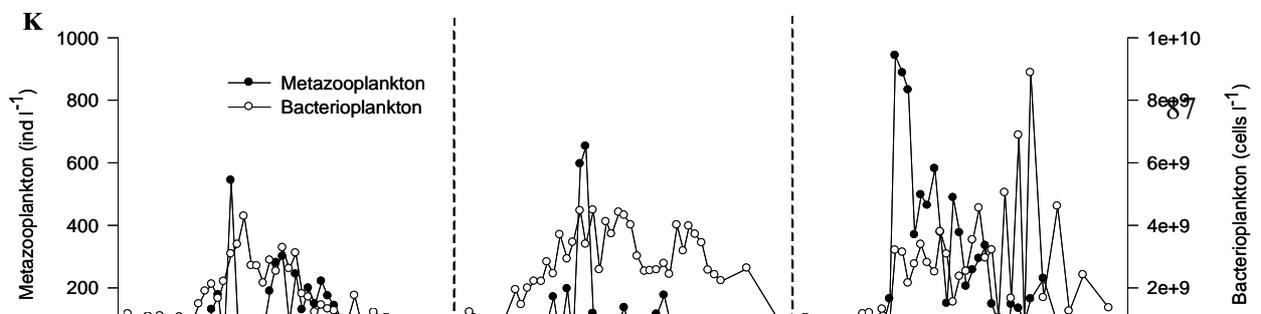
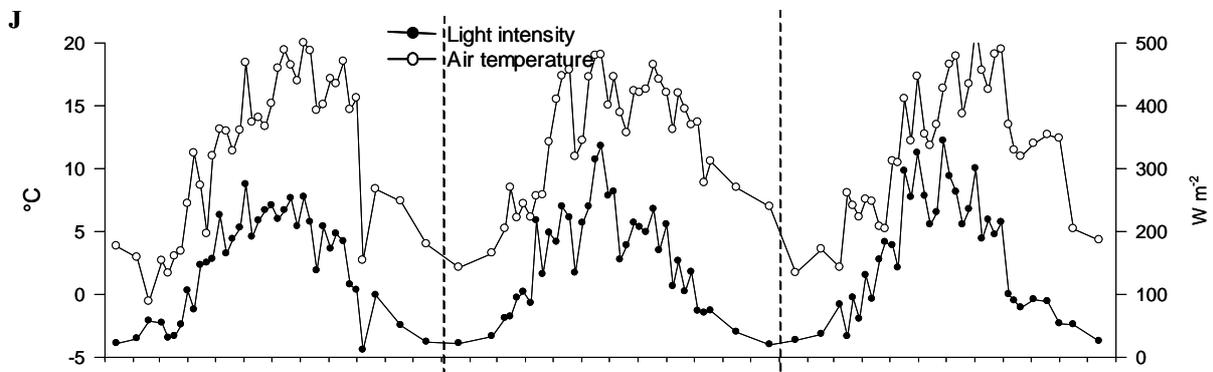
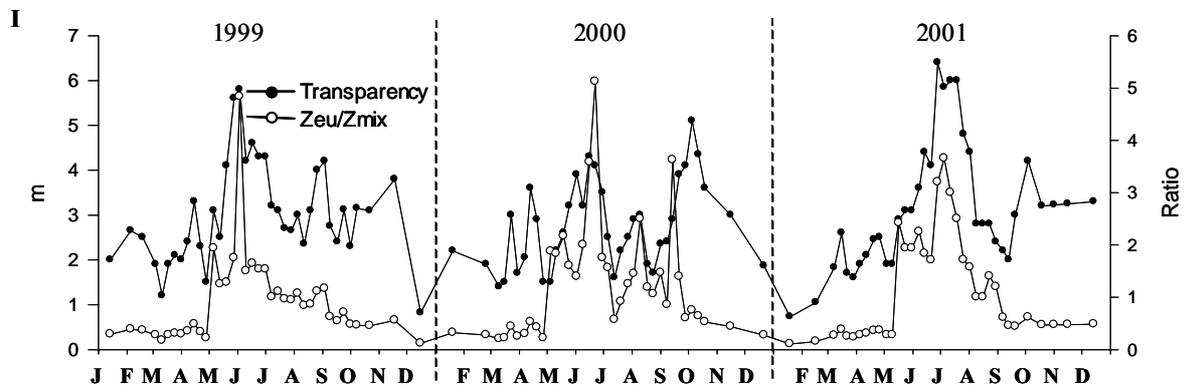
Les populations cyanobactériennes observées du mois de juin au mois d'octobre étaient essentiellement composées d'*Anabaena*, d'*Aphanizomenon*, de *Limnothrix*, de *Planktothrix* et de *Woronichinia* (Fig. 46).

Les *Anabaena*, composés presque exclusivement d'*Anabaena planctonica*, sont les cyanobactéries qui ont atteint les valeurs de biovolumes les plus importantes de la période étudiée ($1.8 \times 10^6 \mu\text{m}^3/\text{l}$ - août 2001).

Aphanizomenon cf. *flexuosum* est l'espèce dominante de l'année 2000. Quant à *Planktothrix* cf. *clathrata*, elle a été peu observée au cours de l'année 2001 contrairement aux années 1999 et 2000.







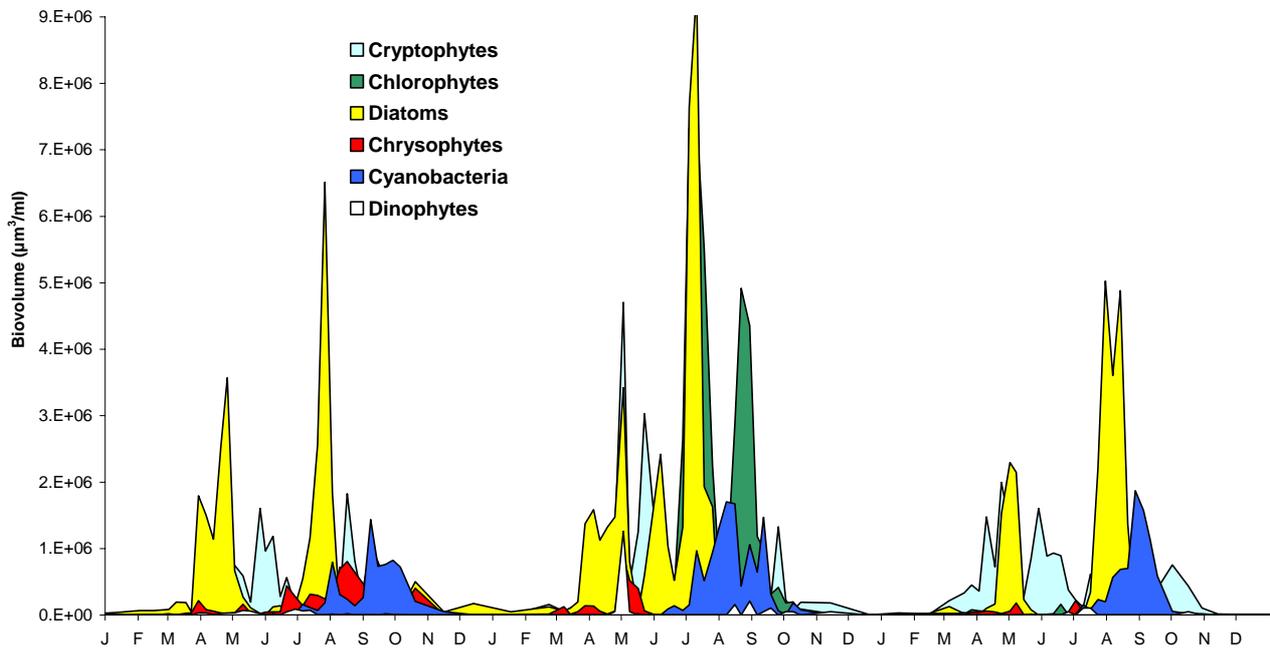


Fig. 45 : Dynamique des populations phytoplanctoniques du lac de la Haute-Sûre au cours des années 1999-2000 et 2001.

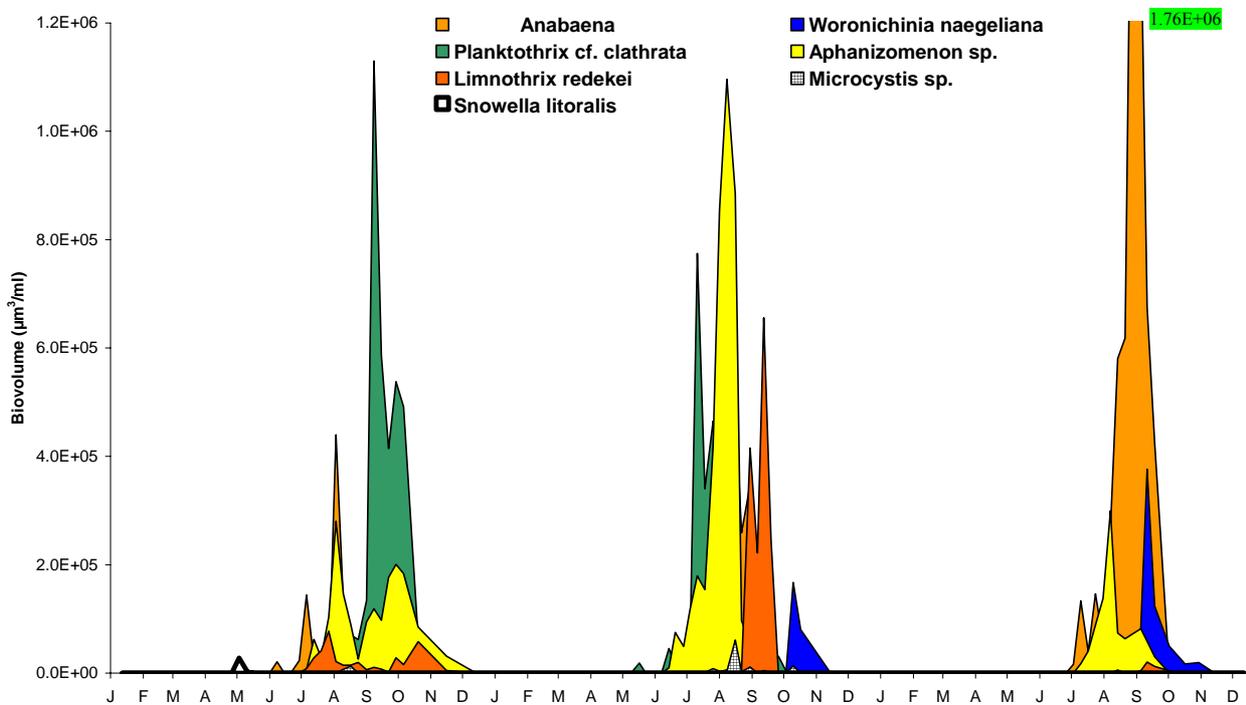


Fig. 46 : Dynamique des populations cyanobactériennes du lac de la Haute-Sûre au cours des années 1999, 2000 et 2001

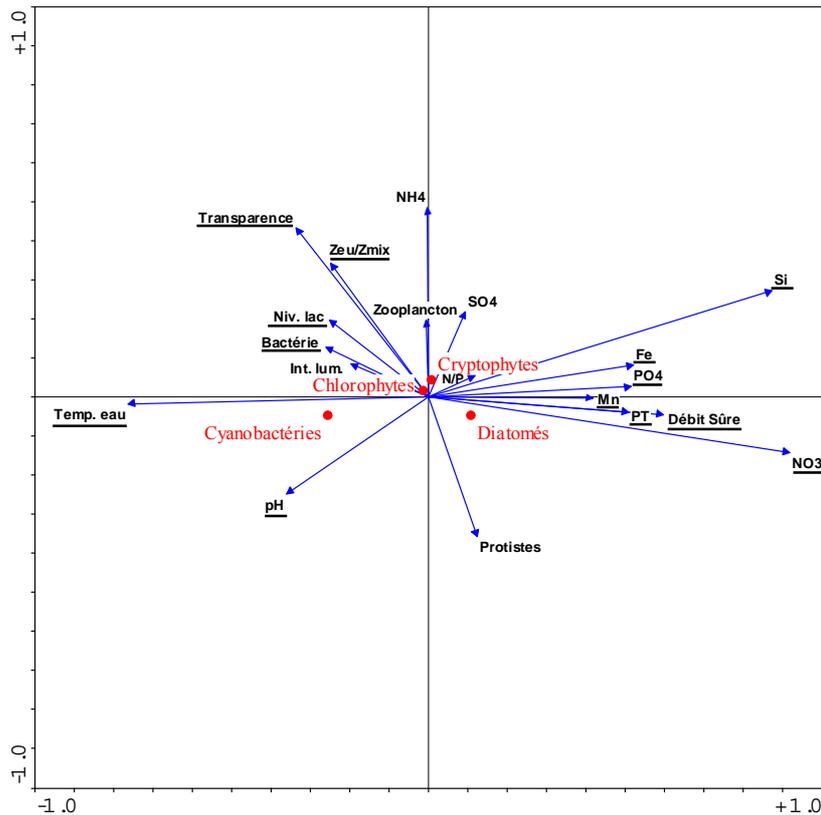


Fig. 47 : Ordination d'une analyse canonique des correspondances réalisée sur base des différents groupes phytoplanctoniques majeurs du lac de la Haute-Sûre ainsi que sur base des données physico-chimiques. Pourcentage de variance cumulatif des relations espèces- environnement pour les 2 premiers axes : 99.2. Les variables statistiquement significatives selon le test de permutation de Monte-Carlo ($p < 0.005$) sont soulignées

5.5.1.e. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries du lac de la Haute-Sûre

La figure 47 représente l'ordination de la CCA réalisée sur base des différents groupes phytoplanctoniques majeurs et des données physico-chimiques déterminées au cours des années 1999, 2000 et 2001 au lac de la Haute-Sûre. Selon le test de permutation de Monte-Carlo, seules les variables soulignées sont statistiquement explicatives. Ainsi, la transparence, le rapport Z_{eu}/Z_{mix} , le niveau du lac, les densités bactériennes, la température de l'eau, le pH, les nitrates, le phosphore total, le débit de la Sûre, le manganèse, les orthophosphates, le fer et le silicium sont les variables impliquées dans le contrôle de la succession des différents groupes phytoplanctoniques.

Ainsi, il s'avère, sur base des variables prises en compte dans le cadre de ce travail, que les populations cyanobactériennes se distinguent des autres populations phytoplanctoniques. En effet, la présence et l'abondance des cyanobactéries sont positivement corrélées aux valeurs élevées de température, de pH, de densités en bactéries, du niveau d'eau du lac et, dans une moindre mesure, de transparence de l'eau ainsi qu'au rapport Z_{eu}/Z_{mix} . A l'inverse, les concentrations en silicium, en fer, en orthophosphate, en manganèse, en phosphore total, en nitrate ainsi que le débit de la Sûre sont négativement corrélées aux densités des cyanobactéries.

Sur bases des variables prises en compte dans cette analyse, les diatomées semblent avoir des spécificités environnementales inverses à celles des cyanobactéries puisque leur centroïde occupe une position opposée au centroïde des cyanobactéries.

La dynamique saisonnière des populations de chlorophytes ne peut vraisemblablement pas être expliquée par les variables prises en compte. En effet, la projection de leur centroïde est centrale indiquant une relative indépendance des populations de chlorophytes par rapport aux variables testées.

Quant aux cryptophycées, seules les valeurs élevées de transparence et de Z_{eu}/Z_{mix} semblent expliquer partiellement leur dynamique.

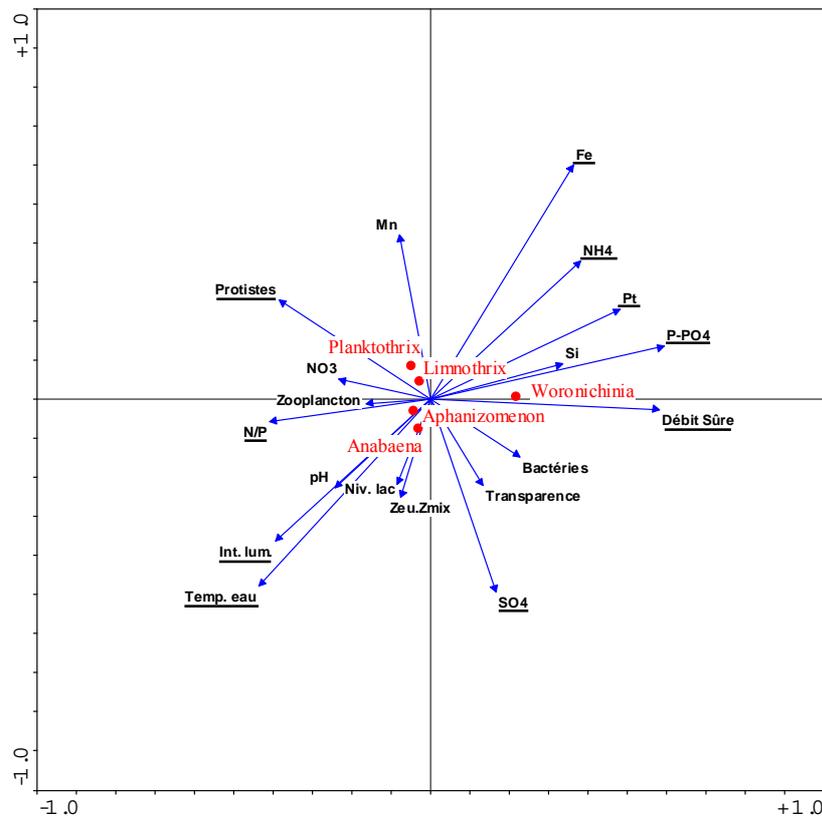


Fig. 48 : Ordination d'une analyse canonique des correspondances réalisée sur base des genres de cyanobactéries majeurs du lac de la Haute-Sûre ainsi que sur base des données physico-chimiques. Pourcentage de variance cumulé des relations espèces-environnement pour les 2 premiers axes : 83.8. Les variables statistiquement significatives selon le test de permutation de Monte-Carlo ($p < 0.05$) sont soulignées

Les populations de cyanobactéries, incluant essentiellement les genres Woronichinia, Limnothrix, Planktothrix, Anabaena et Aphanizomenon peuvent être scindées en trois groupes distincts sur base de la CCA (Fig. 48). Ainsi, Woronichinia (groupe 1), Limnothrix et Planktothrix (groupe 2), Anabaena et Aphanizomenon (groupe 3) ont tous trois des centroïdes dont la projection au sein de l'ordination est contrastée.

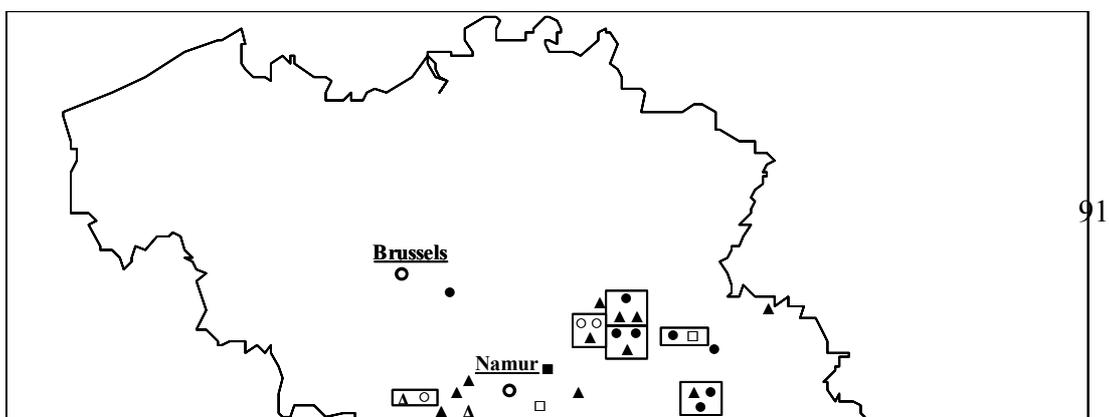
Le premier groupe, comprenant exclusivement *Woronichinia*, se distingue très clairement des autres. Ainsi, il apparaît que *Woronichinia* est positivement corrélé aux concentrations élevées en fer, ammonium, phosphore total, orthophosphate ainsi qu'aux valeurs importantes de débit de l'affluent majeur du lac. A contrario, les variables protistes, N/P, intensité lumineuse, et température de l'eau sont négativement corrélées aux populations de *Woronichinia*.

La projection des centroïdes du second groupe, incluant *Planktothrix* et *Limnothrix*, suggère que ces deux genres ont des exigences écologiques étroitement liées. Celles-ci dépendraient principalement des concentrations importantes en protistes mais également de faibles concentrations en sulfate.

Le troisième groupe, composé d'*Anabaena* et d'*Aphanizomenon*, est positivement associé aux valeurs élevées de température et d'intensité lumineuse. Ces deux genres sont de plus, négativement corrélés à la présence de fer, d'ammonium et de phosphore total.

5.5.2. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français

La distribution géographique des différents genres de cyanobactéries responsables d'efflorescences dans le sud de la Belgique, au Grand-Duché de Luxembourg et dans le nord-est de la France est illustrée à la carte 4.



Carte 4 : Distribution des genres de cyanobactéries responsables d'efflorescences
(1997, 1999-2001)

Microcystis, Planktothrix et Anabaena sont les genres de cyanobactéries les plus fréquemment rencontrés dans les efflorescences belges, luxembourgeoises et françaises. Ils (co-)dominent respectivement 34 %, 34 % et 20 % des plans d'eau échantillonnés. Aphanizomenon et Woronichinia sont rarement observés, ils (co-)dominent 9 % des échantillons

5.5.2.a. Approche statistique de la dominance des cyanobactéries de plans d'eau belges, luxembourgeois et français

Une analyse de clustering réalisée sur base des concentrations en Ca-SO₄-Mg et des valeurs de conductivité déterminées pour les 64 sites d'échantillonnage (Fig. 49), a permis de définir 4 groupes d'eau majeurs (1-2A-2B-3) correspondant à des formations géologiques distinctes (« Ardennes, central region, Lorraine », voir carte 2).

Les données physico-chimiques relatives à ces 4 groupes d'eau sont présentées sous formes de box-plots à la figure 50.



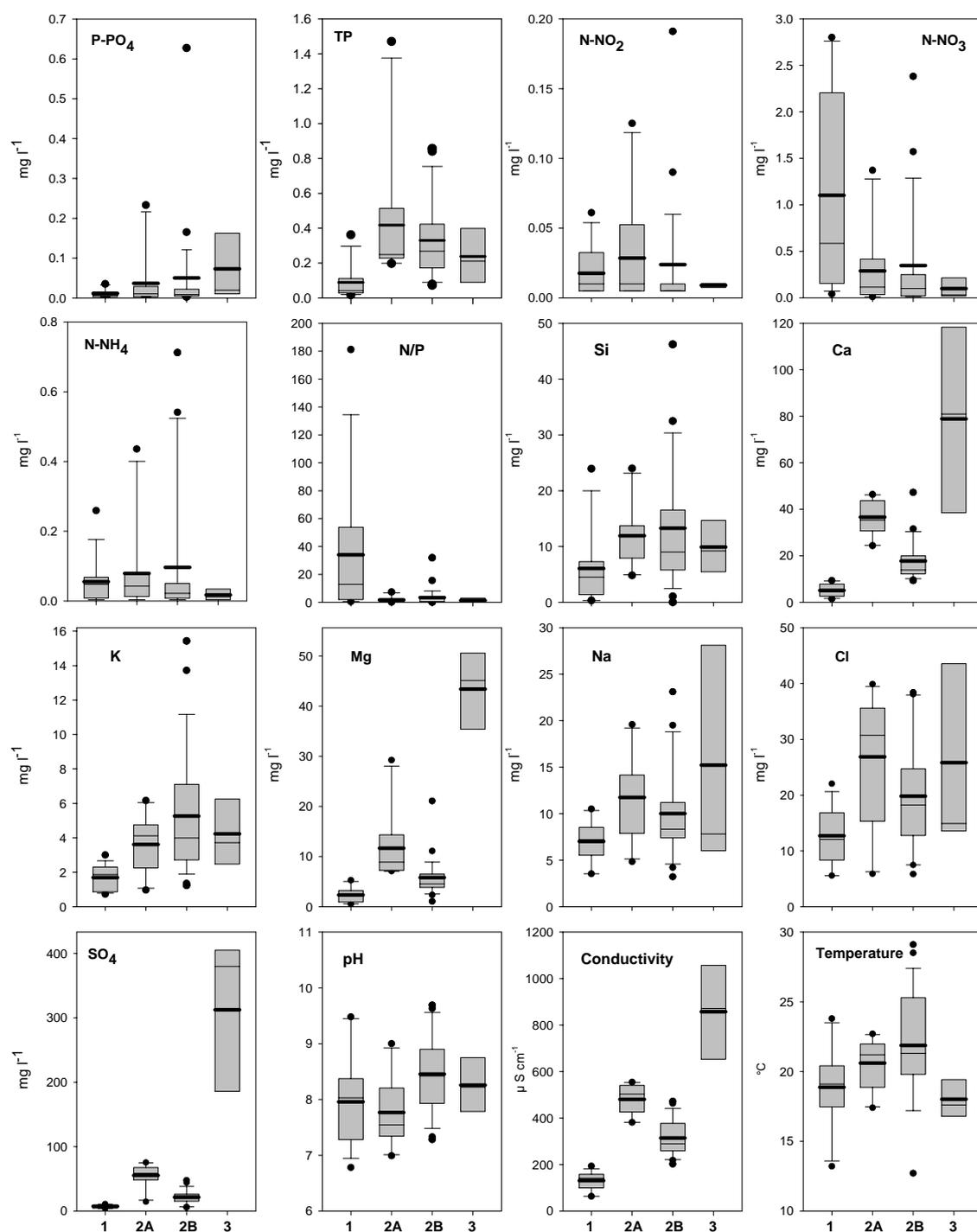


Fig. 50 : Box-plots des données physico-chimiques des pièces d'eau échantillonnées dans le sud de la Belgique, au Luxembourg et dans le nord-est de la France au cours des étés 97, 99-2001.
 Rectangle gris : 25^{ème}-75^{ème} percentile. Trait large : moyenne. Trait fin : médiane. Barre verticale : 5^{ème}-95^{ème} percentile. Points noirs : valeurs extrêmes

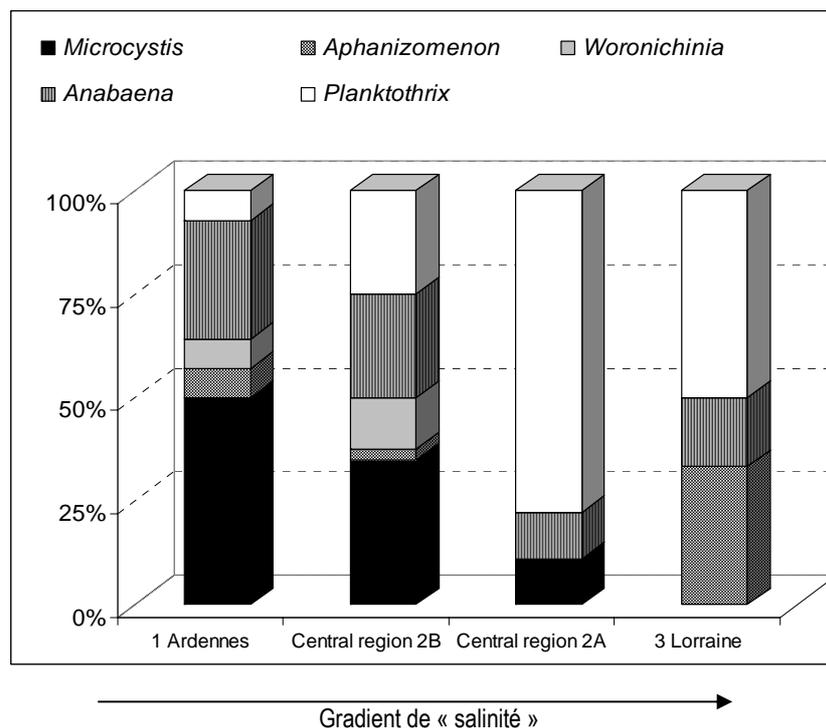


Fig. 51 : Abondance relative des cyanobactéries responsables d'efflorescences au sein des 4 types d'eau définis préalablement sur base d'un clustering

L'abondance relative des genres de cyanobactéries en fonction des quatre types d'eau révèle que la présence de certaines cyanobactéries est vraisemblablement dépendante de la « salinité » (au sens large) liée aux différentes régions géologiques traversant la zone d'échantillonnage (Fig. 51). Ainsi, la dominance de *Microcystis* semble plus souvent associée à des sites pour lesquels les valeurs de « salinité » (Ca-SO₄-Mg) et de conductivité sont faibles, à l'opposé de *Planktothrix*, plus fréquemment mis en évidence dans des eaux à forte conductivité et à haute teneur en sulfate, calcium et magnésium.

L'analyse canonique des correspondances, réalisée sur base de la présence-absence des genres (co-)dominants ainsi que sur les données physico-chimiques, met en évidence l'influence majeure des concentrations en calcium, sulfate, magnésium ainsi que des valeurs de conductivité (Fig. 52). Selon le test de permutation de Monte-Carlo, seules ces 4 variables sont statistiquement significatives. L'ordination révèle que les populations d'*Aphanizomenon* sont étroitement liées aux valeurs élevées de ces 4 paramètres. Alors que les populations de *Woronichinia* sont plus fréquemment rencontrées dans des eaux moins riches en calcium, sulfate et magnésium et dont les valeurs de conductivité sont plus faibles.

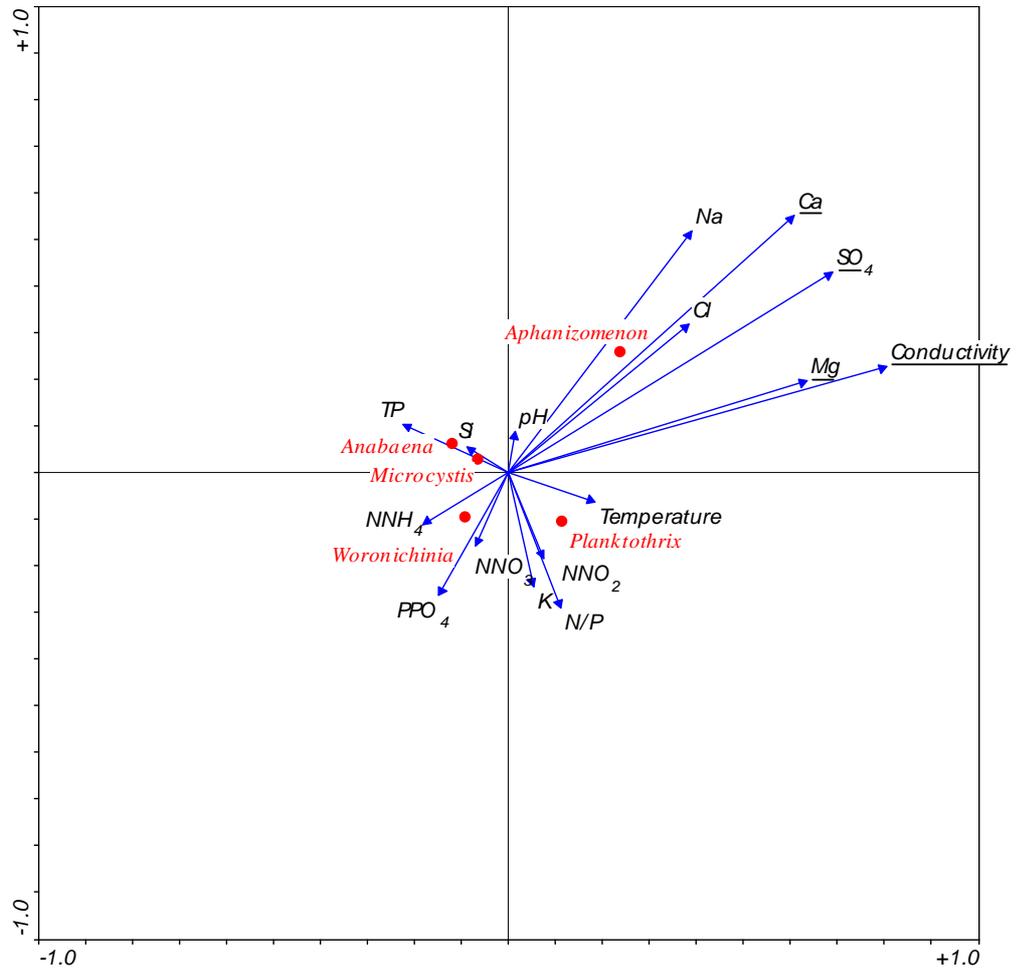
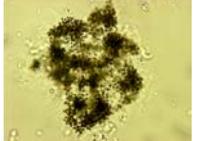


Fig. 52 : Ordination d'une analyse canonique des correspondances réalisée sur base des cyanobactéries dominant les plans d'eau belges, luxembourgeois et françaises ainsi que sur base des données physico-chimiques des différentes stations de prélèvement. Pourcentage de variance cumulatif des relations espèces-environnement pour les 2 premiers axes : 67.6. Les variables statistiquement significatives selon le test de permutation de Monte-Carlo ($p < 0.05$) sont soulignées.

5.6. Isolements de souches de cyanobactéries récoltées dans le bassin d'Artois-Picardie

11 souches de cyanobactéries représentatives des genres dominant les efflorescences d'Artois-Picardie ont été isolées de 8 sites différents. La liste de ces souches ainsi qu'une photo de chaque genre concerné sont présentées au tableau 11.

Souche	Lieu	Date	Espèce	Milieu	Photo
3PES1	Péronne	05-09-03	<i>Microcystis aeruginosa</i>	BG11	
3CLS1	Chabaud-Latour	05-09-03	<i>Planktothrix agardhii</i>	BG11	
3LQS1	Le Quesnoy	05-09-03	<i>Planktothrix agardhii</i>	BG11	
3VJS1	Val Joly		<i>Planktothrix agardhii</i>	BG11	
3ROS1	Romelaère	04-09-03	<i>Planktothrix agardhii</i>	BG11	
3LQS2	Le Quesnoy	05-09-03	<i>Anabaena compacta</i>	BG11 ₀	
3VIS1	Etang du Vignoble	05-09-03	<i>Anabaena spiroides</i>	BG11 ₀	
3AMS2	Amaury	05-09-03	<i>Aphanizomenon gracile</i>	BG11 ₀	
3VJS2	Val Joly	14-08-03	<i>Aphanizomenon gracile</i>	BG11 ₀	
3SSS1	Saint-Saulve	05-09-03	<i>Aphanizomenon gracile</i>	BG11 ₀	

Tab. 11 : Souches cyanobactériennes monoclonales isolées de plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie

La souche 3PES1 partage de nombreuses spécificités avec l'espèce type *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. En effet, les colonies sont la plupart du temps macroscopiques, fenêtrées et lobées. Le mucilage est fin et ne forme pas de limite nette. Les cellules qui les composent sont sphériques après la division cellulaire, elles ont 4.2-5.0 µm de diamètre et possèdent des vésicules gazeuses. Elles sont disposées densément et de façon homogène au sein des colonies.

Les quatre souches de *Planktothrix agardhii* (3CLS1-3LQS1-3VJS1-3ROS1) sont semblables d'un point de vue morphologique et morphométrique. En effet, leurs trichomes sont unisériés, isopolaires, non constrictés et composés de cellules à vésicules gazeuses généralement plus larges que longues ($3.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ de large, $2.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$ de long). Les cellules terminales ont une extrémité arrondie.

Les deux souches d'*Anabaena* (3LQS2-3VIS1) sont toutes deux à trichomes spiralés. La souche 3LQS2 correspond à *Anabaena compacta*, la souche 3VIS1 à *Anabaena spiroides*.

Anabaena compacta possède des trichomes flottant librement, solitaires et régulièrement spiralés, sans gaine mucilagineuse. Les spires ont un diamètre de $14.5 \pm 1.2 \mu\text{m}$. Les spires incluant les hétérocystes sont plus étroites. Les cellules sont sphériques et prennent souvent la forme d'un tonnelet ($4.1 \pm 0.7 \mu\text{m}$ de long, $4.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ de large). Les hétérocystes sont solitaires ($5.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ de large) et distants des akinètes. Les akinètes sont sphériques à légèrement ovales ($5.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ long, $5.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ de large).

Anabaena spiroides est caractérisé par des trichomes flottant librement, solitaires, sans mucilages. Ils sont spiralés de façon irrégulière. Les cellules sont sphériques et prennent souvent la forme de tonnelet ($4.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ de long, $8.4 \pm 0.6 \mu\text{m}$ de large). Elles contiennent beaucoup de vésicules gazeuses. Les hétérocystes sont solitaires et sphériques ($9.1 \pm 0.7 \mu\text{m}$ de long et $9.9 \pm 0.7 \mu\text{m}$ de large). Les akinètes sont ellipsoïdaux et distants des hétérocystes, isolés mais parfois groupés par deux ($19.8 \mu\text{m}$ de long, $13.3 \mu\text{m}$ de large).

Les trois souches d'*Aphanizomenon* (3AMS2-3VJS2-3SSS1) correspondent à l'espèce *Aphanizomenon gracile*. Cette espèce est caractérisée par des trichomes légèrement constrictés, flottant librement. Les trichomes ne sont jamais groupés, ils sont rectilignes parfois légèrement courbes. Les cellules végétatives, ainsi que les hétérocystes sont de formes cylindriques. Les akinètes n'ont pu être observés en culture. Les cellules terminales sont rarement différenciées mais peuvent parfois être légèrement hyalines.

5.7. Tests écophysiologicals sur trois souches de cyanobactéries isolées du bassin d'Artois-Picardie

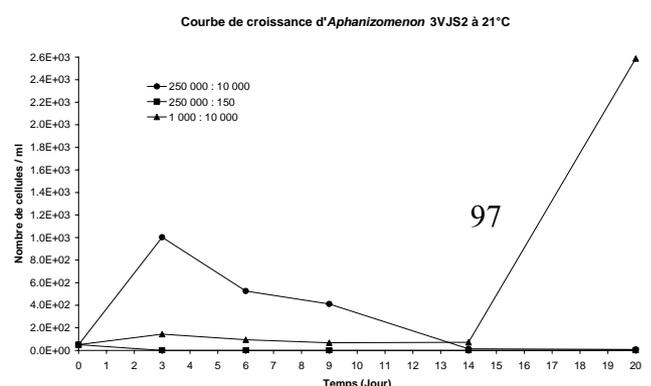
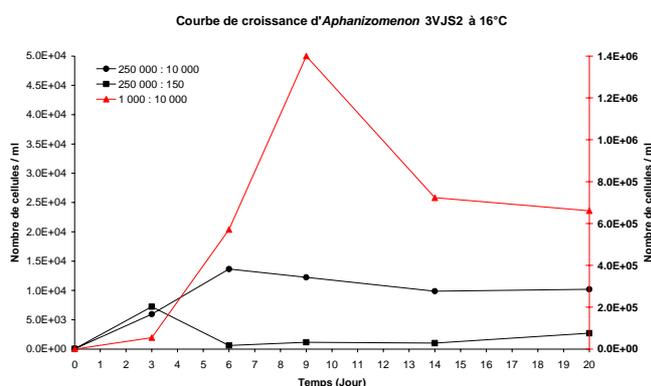


Fig. 53 : Courbes de croissance déterminées dans le cadre de tests écophysiologiques effectués sur 3 souches de cyanobactéries

A 16 °C, seule la courbe de croissance de la souche *Aphanizomenon* 3VJS2 a pu être définie puisque les souches *Microcystis* 3PES1 et *Planktothrix* 3VJS1 ne se sont pas développées à cette température (Fig. 53).

Les trois combinaisons de concentration en N-P testées ont induit 3 profils de croissances différents pour *Aphanizomenon* 3VJS2.

La croissance révélée dans le milieu N-P de 250 000 : 10 000 (saturation des concentrations en N-P) a été linéaire les 6 premiers jours au bout desquels les densités ont atteint un plateau ne dépassant pas les 1.4×10^4 cellules/ml durant le reste de l'expérimentation.

En condition de carence pour le phosphore (N-P : 250 000 :150), la croissance a été confinée au trois premiers jours faisant suite au début de l'expérimentation. La densité relevée au terme de ce troisième jour est faible, elle est de 7.25×10^3 cellules/ml.

Finalement, dans le milieu carencé en azote (N-P : 1 000 : 10 000), les densités déterminées au bout du troisième jour sont supérieures à celles obtenues dans les deux autres types de milieux (T3 : 5.47×10^4 cellules/ml). Le nombre de cellules augmente exponentiellement au cours des 9 premiers jours pour atteindre un maximum de 1.4×10^6 cellules/ml. Au terme de ces 9 premiers jours le pic de densité s'effondre et des valeurs proches de 6.5×10^5 cellules/ml sont obtenues au temps T20.

A 21 °C, les courbes de croissance d'*Aphanizomenon* 3VJS2 obtenues sont différentes de celles déterminées à 16 °C. Ainsi, concernant le milieu 250 000 : 10 000, les densités augmentent jusqu'au troisième jour avant de s'effondrer contrairement à l'expérience menée à 16 °C où les densités atteignaient un plateau constant dès le temps T6.

Dans le milieu 1 000 : 10 000, ce n'est qu'au bout de 14 jours que la densité augmente de manière significative pour atteindre les valeurs les plus élevées de 2.6×10^5 cellules/ml au temps T20.

Quant au milieu 250 000 : 150, aucune augmentation de densité n'a pu être mise en évidence.

Au bout des 20 jours d'expérimentation, *Planktothrix* 3VJS1 a atteint les densités les plus importantes des expériences menées à 21 °C en avoisinant des densités de l'ordre de 1.66×10^5 cellules/ml dans le milieu 1 000 : 10 000. Ces concentrations maximales restent, malgré tout, presque 10 fois inférieures aux densités de la souche d'*Aphanizomenon* enregistrées à 16 °C pour ce même milieu.

Les deux autres concentrations testées révèlent le même type de courbe de croissance caractérisée par un développement tardif ne débutant de façon significative qu'à partir du temps T9.

En ce qui concerne *Microcystis*, seul le milieu 1 000 : 10 000 a donné au bout des 20 jours d'expérimentation une augmentation significative de la densité.

En effet, les densités relevées aux concentrations 250 000 : 10 000 et 250 000 : 150 sont très réduites, elles ne dépassent pas le seuil de 2.7×10^2 cellules/ml.

5.8. Analyses toxicologiques

5.8.1. Identifications et quantifications des microcystines

5.8.1.a. Artois-Picardie

71 % des blooms analysés sont hépatotoxiques. La gamme de concentrations en microcystines totales révélée s'échelonne de 1.6 à 1972.4 µg MC-tot/g PS d'efflorescence (Fig. 54). La variante LR, est la toxine la plus fréquemment mise en évidence dans les échantillons. En effet, tous les échantillons hépatotoxiques contenaient de la microcystine-LR contrairement aux autres variantes telles que la MC-RR et -YR mises en évidence dans 40 % des analyses seulement. De plus,

beaucoup d'échantillons contenaient des formes indéterminées de MC. Ces formes ont été révélées dans 50 % des analyses effectuées.

60 % des blooms contenant des microcystines étaient essentiellement composés de populations de *Microcystis* et d'*Anabaena*. Par contre, *Planktothrix* et *Aphanizomenon* (co-)dominaient seulement 40 % des blooms hépatotoxiques. La concentration la plus élevée en microcystine de 1972.4 $\mu\text{g MC-tot} / \text{g PS}$ a été obtenue pour l'échantillon de Chabaud-Latour 04-09-02. Cette efflorescence était dominée par des cyanobactéries du genre *Microcystis*.

La répartition géographique des blooms toxiques est illustrée sur la carte 5. Il apparaît que l'ensemble des blooms toxiques sont localisés en bordure de la frontière franco-belge. Ce fait relève sans doute d'un artefact lié à la zone de prospection principalement localisée à la limite nord du bassin d'Artois-Picardie. De plus, aucun échantillon reçu du sud-ouest du bassin d'Artois-Picardie ne nous a permis de réaliser une analyse de toxine qui aurait pu éventuellement mettre également en évidence plusieurs blooms hépatotoxiques au sein de cette région.

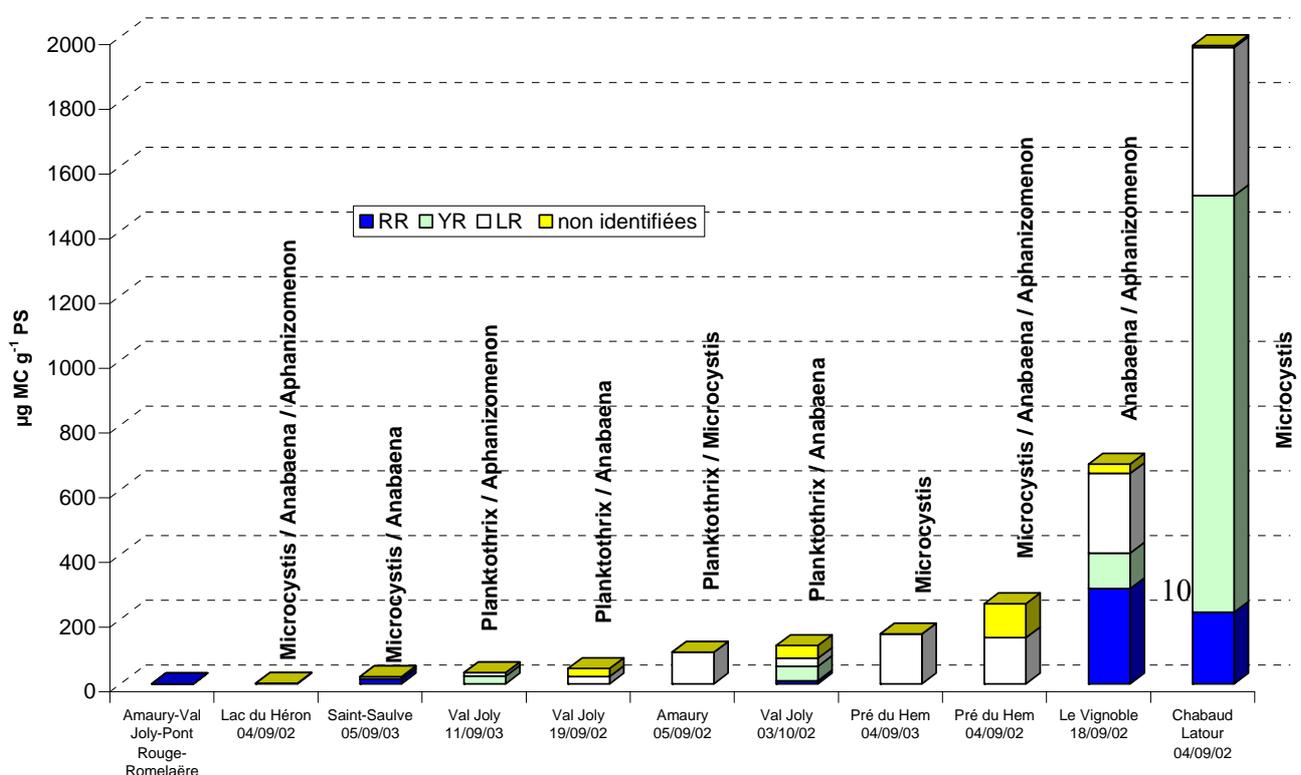
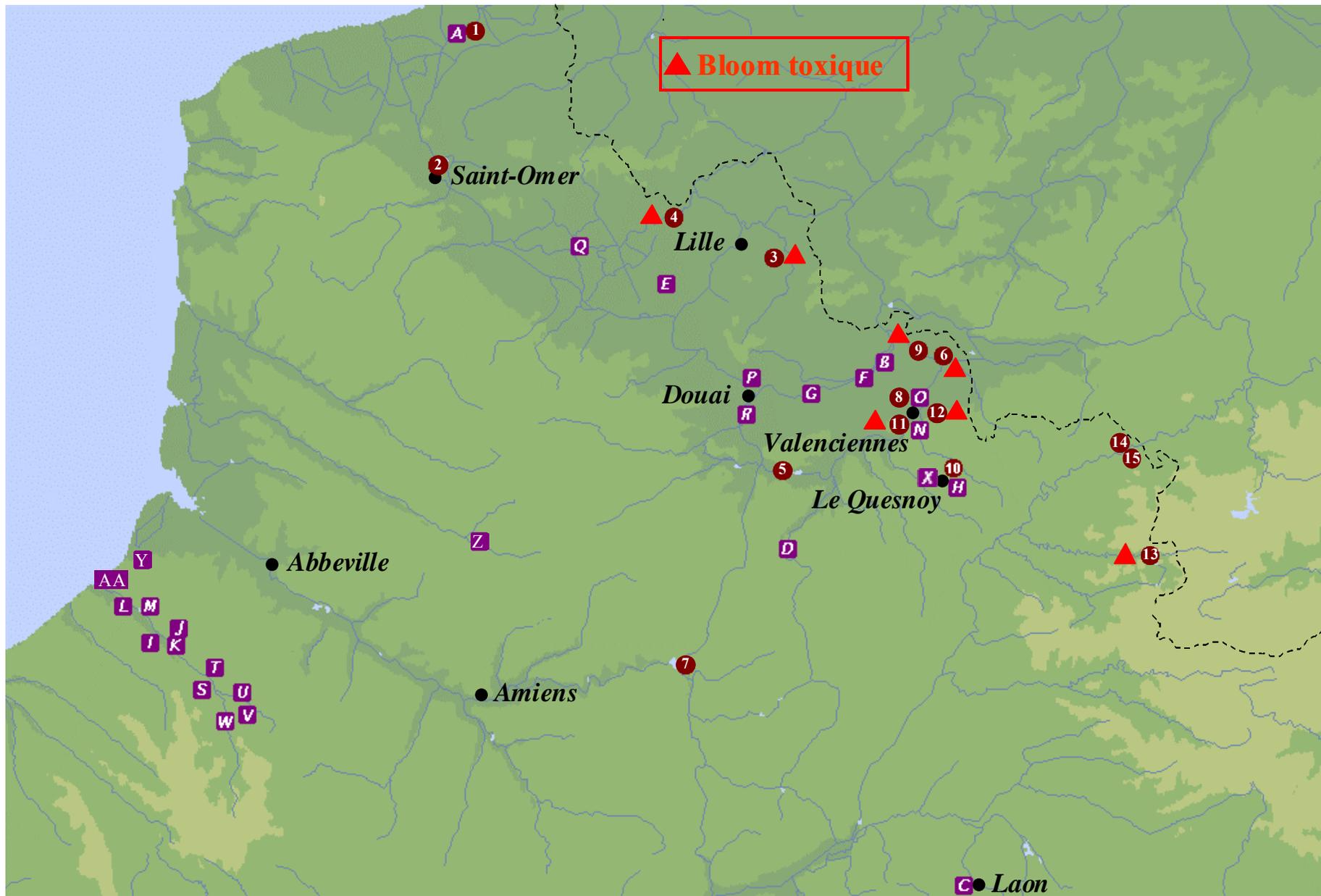


Fig. 54 : Concentrations en MC-LR, -RR, -YR, -non identifiées et populations cyanobactériennes dominant les échantillons analysés



Carte 5 : Distribution des blooms hépatotoxiques (▲) au sein du bassin d'Artois-Picardie

Les densités cyanobactériennes obtenues au Val Joly démontrent qu'au cours des années 2002 et 2003 certaines valeurs guides recommandées par l'OMS et le CSHF pour les eaux de baignade sont, à plusieurs reprises, dépassées.

En effet, le 19 septembre 2002 (Fig. 55) la densité en cyanobactéries (3.5×10^4 cellules/ml) a dépassé la première valeur guide de 20 000 cellules/ml. A de telles concentrations, le Conseil supérieur d'hygiène publique de France recommande la surveillance journalière du plan d'eau concerné ainsi que le dénombrement hebdomadaire des populations de cyanobactéries.

En 2003 (Fig. 56), les densités mises en évidence sont plus de 100 fois supérieures à celles enregistrées au cours de l'année précédente. De ce fait, la seconde valeur guide (100 000 cellules/ml) a été franchie à 4 reprises au cours de la période estivale-automne. Selon le CSHF, des dosages de microcystines auraient du être faits en vue d'imposer des limitations, voire l'interdiction des activités nautiques.

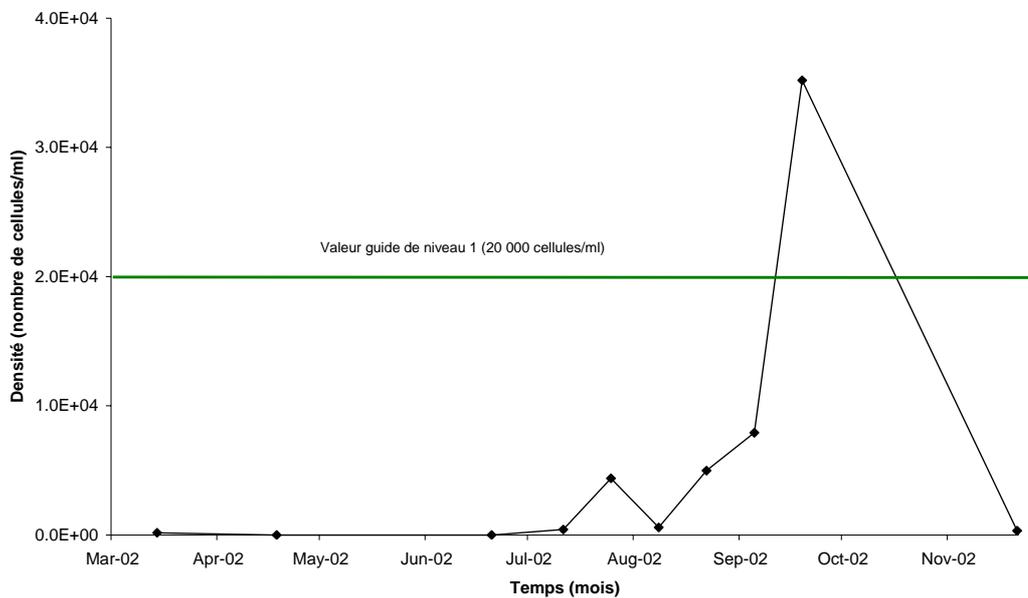


Fig. 55 : Dynamique de la densité totale des cyanobactéries présentent au lac du Val Joly au cours de l'année 2002 et valeur guide relative aux eaux de baignade définie par l'OMS et le CSHF

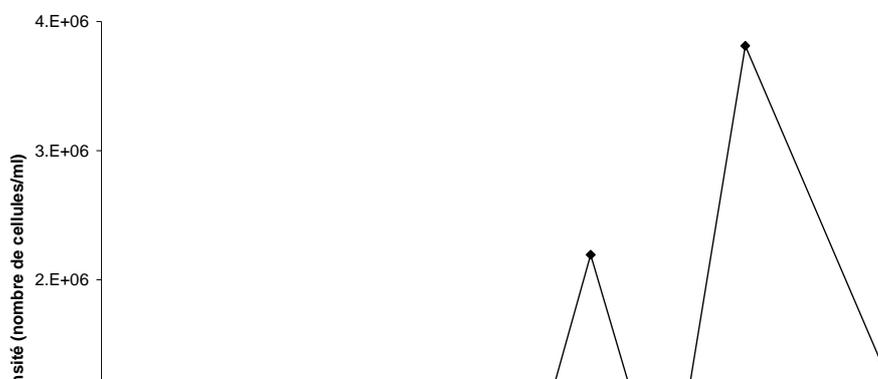
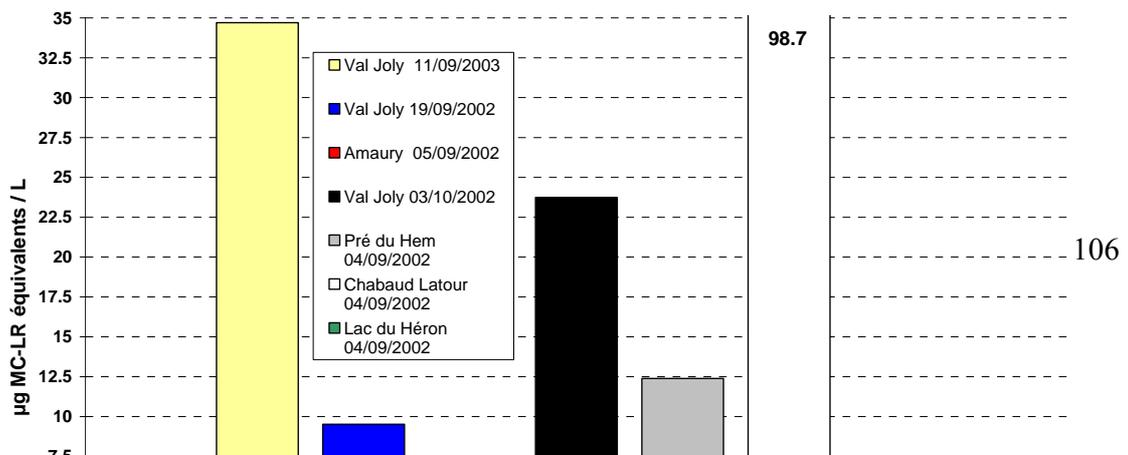


Fig. 56 : Dynamique de la densité totale des cyanobactéries présentent au lac du Val Joly au cours de l'année 2003 et valeur guide relative aux eaux de baignade définie par l'OMS et le CSHF

Le graphique 57 illustre les concentrations en MC-LR équivalents par litre de 7 échantillons, pour lesquels le volume d'eau filtré a pu être déterminé. La gamme de concentrations obtenue s'échelonne de 0.08 à 98.62 µg MC-LR équivalents/l.

Selon les recommandations de l'OMS relatives aux eaux de distribution, 6 des 7 échantillons analysés ont des concentrations en MC-LR équivalents par litre de 10x à 100x plus importantes que la valeur seuil de 1 µg MC-LR équivalents/l. Ainsi par exemple, la concentration en MC équivalents de l'échantillon prélevé à Chabaud-Latour, le 04-09-2002 est de 98.7 µg MC-LR équivalents/l, soit presque 100x supérieur à la norme OMS.

En outre, selon les recommandations du CSHPF, le lac du Val Joly, en date du 11-09-2003 et 03-10-02 ainsi que le plan d'eau de Chabaud-Latour (04-09-2002), auraient du faire l'objet d'une interdiction liée à toutes activités nautiques.



Valeur seuil OMS : 1µg MC-LR éq./L

Fig. 57 : Concentration en MC-LR éq./l pour 6 échantillons du bassin d'Artois-Picardie

5.8.1.b. Belgique et Grand-Duché de Luxembourg.

Des microcystines ont été détectées dans 53 % des échantillons analysés (Fig. 58). 47 % des efflorescences toxiques étaient dominées par *Microcystis*, suivi de *Planktothrix* (29 %) et de *Woronichinia* (18 %). Les concentrations en MC s'échelonnent de 34 µg/g de poids sec à 2231 µg/g de poids sec révélé dans un extrait dominé par *Woronichinia*. MC-LR est la variante la plus souvent mise en évidence, elle a été détectée dans 64 % des blooms analysés. A l'opposé, la variante -LY n'a jamais été mise en évidence.

La répartition des différentes efflorescences hépatotoxiques au sein de la zone prospectée est reprise sur la carte 6.

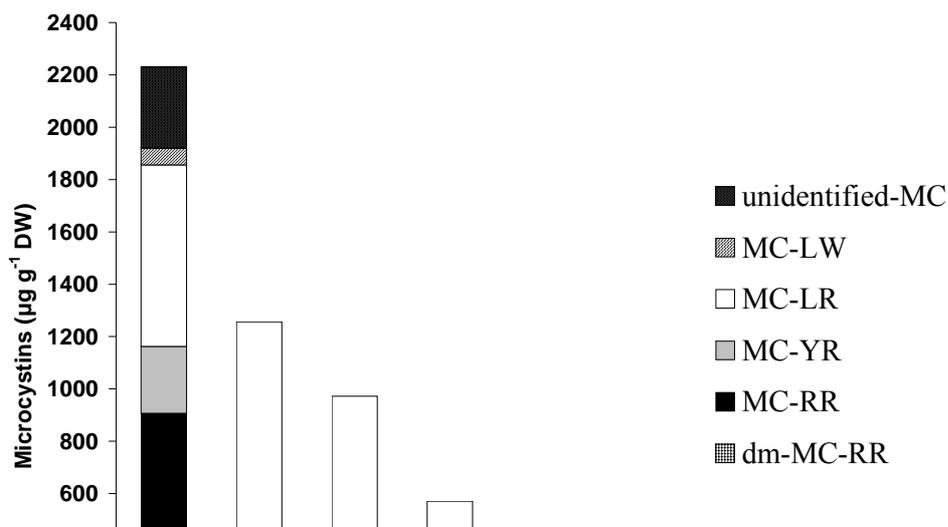
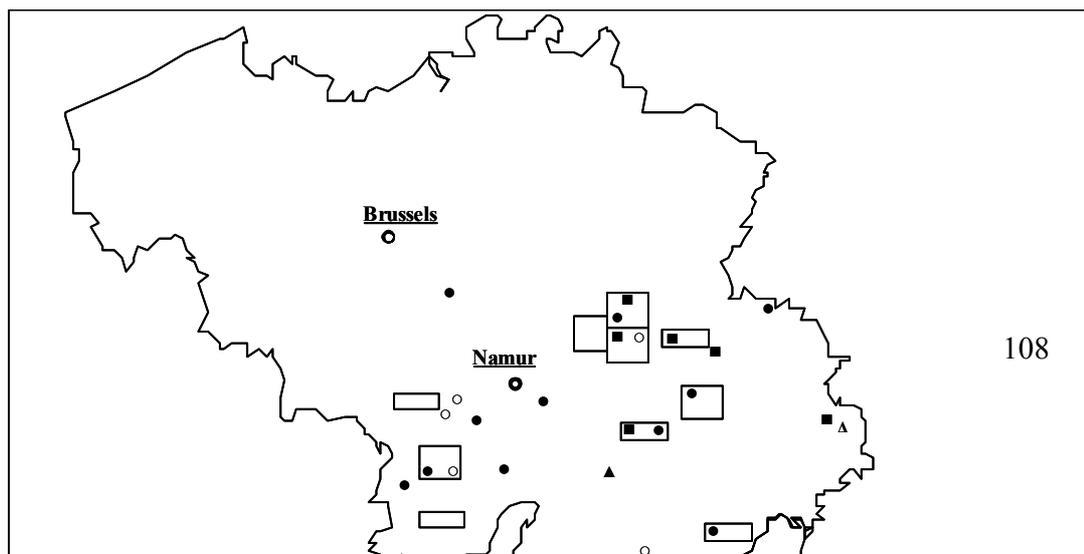


Fig. 58 : Concentrations de 6 variantes de microcystines (dmMC-RR/MC-RR/MC-YR/MC-LR/MC-LW/MC-LY) présentes dans des efflorescences belges, luxembourgeoises et françaises.
* : station 1-7-10-12-26-28-29-30-32-33-35-39-45-48-52 pour lesquelles aucune MC n'a été mise en évidence



Carte 6: Distribution géographique des efflorescences hépatotoxiques

5.8.2. Tests de EC₅₀-24 h : détermination de la toxicité aiguë d'extraits de cyanobactéries vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)

Les résultats obtenus à partir du test de référence (dichromate de potassium) K₂Cr₂O₇ témoignent de la bonne sensibilité de la souche de *Daphnia magna* et par conséquent, de son adéquation dans les tests EC₅₀-24 h vis-à-vis des cyanotoxines. Ainsi, au terme du test de référence, une corrélation étroite entre le pourcentage d'immobilisation et les concentrations en K₂Cr₂O₇ a été

obtenue ($R^2=0.93$) (Fig. 59). Néanmoins, la sensibilité de la souche utilisée s'avère être supérieure à celle préconisée par la norme ISO6341, car les valeurs EC_{50} -24 h obtenues vis-à-vis du $K_2Cr_2O_7$ sont 3 x plus réduites (0.2 mg/l au lieu de 0.6-2.1 mg/l selon normes ISO6341).

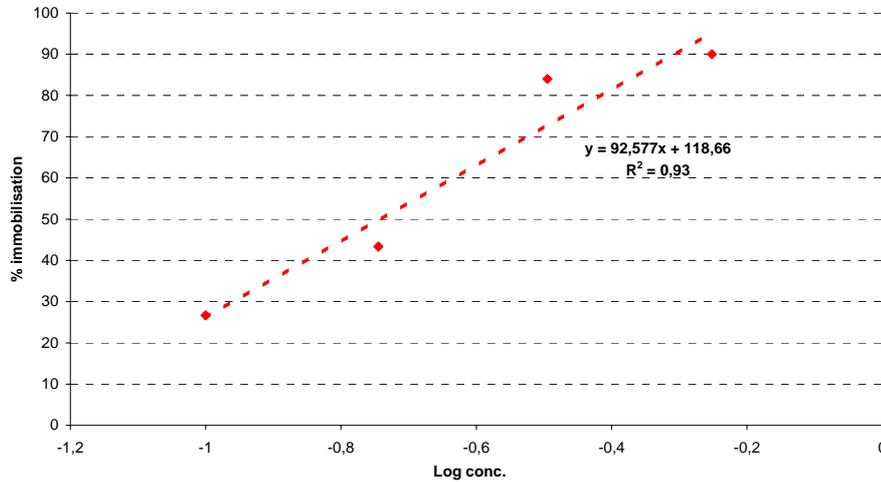
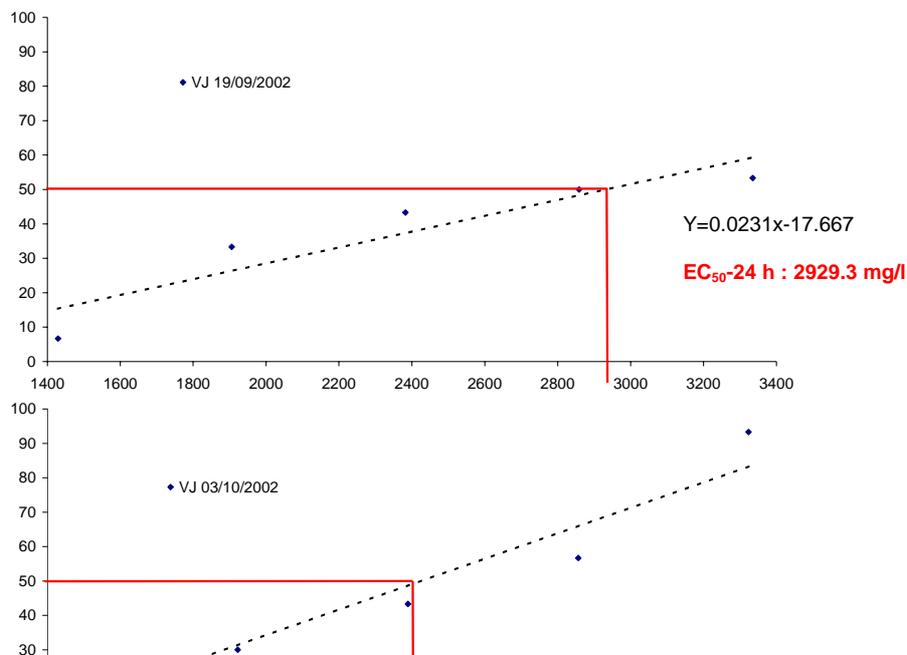


Fig. 59 : Pourcentage d'immobilisation obtenu au terme du test EC_{50} -24 h de référence ($K_2Cr_2O_7$) vis-à-vis de *Daphnia magna*

Au total 4 échantillons d'efflorescences ont été testés à deux reprises (pré-tests et tests affinés). Les résultats des tests définitifs sont illustrés à la figure 60.

Les 4 extraits testés ont un effet toxique aigu sur *Daphnia magna*. Les valeurs de EC_{50} -24 h varient entre 2.4 et 7.6 g d'efflorescence lyophilisée par litre. L'échantillon le plus toxique correspond à celui récolté au Pré du Hem le 04-09-2003. Celui-ci était principalement composé de *Microcystis*.

Il n'y a pas de corrélation marquée entre d'une part, le contenu en MC-tot, et d'autre part, les différentes valeurs de EC_{50} -24 h déterminées. En effet, même si la valeur de EC_{50} -24 h la plus faible correspond à l'extrait contenant les plus importantes concentrations en MC-tot, il n'en va pas de même avec les autres échantillons testés. Ainsi, par exemple au Val Joly, l'échantillon récolté le 11/09/03 est plus toxique pour *Daphnia magna* que celui prélevé le 03/10/02, malgré des concentrations en MC-tot 3 fois plus réduites.



6. Discussion

Dans le monde entier, beaucoup de lacs à vocation récréative mais également de nombreux lacs utilisés comme réservoir d'eau potable sont soumis aux fléaux des efflorescences de cyanobactéries toxigènes.

A l'heure actuelle, les cyanotoxines sont déjà responsables de centaines de cas d'intoxications, de mortalités animales et humaines à travers le monde (Alonso Andicoberry et al. 2002; Jochimsen et al. 1998; Briand et al. 2003; Carmichael et al. 2001; Chorus et al. 2000).

Cette étude portant sur diverses régions d'Europe centrale démontre, pour la première fois (hormis quelques études ponctuelles), que le sud de la Belgique, le Grand-Duché de Luxembourg, le nord-est de la France ainsi que le bassin d'Artois-Picardie n'échappent pas à cette problématique. En effet, au cours des périodes estivales et automnales, bon nombre de plans d'eau sont fréquemment les lieux privilégiés de la prolifération massive de cyanobactéries.

La double approche utilisée dans le cadre de cette recherche basée d'une part, sur des prélèvements ponctuels et, d'autre part, sur le suivi saisonnier des populations cyanobactériennes dans deux lacs (Val Joly / Haute-Sûre) a permis de mieux appréhender les espèces impliquées dans les efflorescences ainsi que les conditions environnementales favorisant leur développement. De plus, l'évaluation des densités de cyanobactéries ainsi que les analyses de microcystines réalisées ont révélé, à plusieurs reprises, les risques sanitaires liés au dépassement des valeurs guides établies par l'OMS (Chorus & Bartram 1999) (et le CSHF) pour les eaux de baignade et de distribution.

6.1. Le lac du Val Joly

Le lac du Val Joly est un plan d'eau eutrophe à hypereutrophe où la prolifération massive de cyanobactéries est fréquemment observée. En effet, plusieurs blooms ont été rapportés en différents points du lac au cours des périodes estivales et automnales 2002 et 2003. Il est communément admis que le développement des cyanobactéries en région tempérée se fait essentiellement à la fin de l'été et au début de l'automne (Sommer et al. 1986; Oliver & Ganf 2000; Reynolds & Walsby 1975).

Malgré des densités réduites mises en évidence en 2002 (100 fois moins qu'en 2003), ces biovolumes ont été suffisamment importants pour avoir permis l'apparition d'efflorescences en bordure du lac. Les pics de densités maximales, observés à la fin de la période estivale ainsi qu'au début de la période automnale, étaient composés de *Planktothrix* et d'*Aphanizomenon*. Plusieurs autres espèces minoritaires ont été observées. Celles-ci comprenaient essentiellement : *Microcystis* spp., *Snowella litoralis*, *Pseudanabaena* sp., *Limnothrix redekei*, *Anabaena compacta* et *Anabaena spiroides*.

L'ensemble des cyanobactéries communément observées au lac du Val Joly sont fréquemment décrites comme responsables de nombreuses efflorescences aux quatre coins du monde (Komárkova-Legnerová & Eloranta 1992; Willame & Hoffmann 1999; Cook et al. 2004; Huszar et al. 2000).

L'analyse en composantes principales révèle que la demande chimique en oxygène (DCO) est une variable importante liée aux efflorescences de cyanobactéries. Les valeurs de DCO sont des estimateurs de la charge en matière organique de l'eau. La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire à la dégradation de la totalité de la matière organique. Dès lors, cette variable n'a vraisemblablement pas d'effets directs sur la croissance des cyanobactéries. Elle doit plutôt être considérée comme un bioindicateur de la biomasse totale présente dans les eaux du lac au même titre que la Chl-a est un bioindicateur de la biomasse algale. Il est important à signaler que des données additionnelles sont nécessaires pour conforter ce type d'analyse statistique qui repose actuellement sur un nombre trop réduit d'observations.

La dominance des cyanobactéries en eaux douces est principalement liée aux concentrations en phosphore, en azote, à la température, au pH et à la stratification thermique (Paerl 1996; Paerl & Millie 1996; Paerl et al. 2001; Dokulil & Teubner 2000; Downing et al. 2001; Kanoshina et al. 2003).

La dominance de *Planktothrix* et d'*Aphanizomenon* trouve vraisemblablement son origine dans les faibles concentrations en composés azotés. En effet, ces concentrations qui ne dépassent pas le seuil de 300 µg N/l, limitent l'expansion des autres algues et des cyanobactéries (telles que les *Microcystis*) ne sachant pas tirer profit d'une autre source d'azote. Le genre *Aphanizomenon* a la faculté de pouvoir fixer l'azote atmosphérique via une cellule spécialisée appelée hétérocyste. Cet atout physiologique confère aux Nostocales, en générale, un avantage compétitif certain dans les milieux pauvres en azote (Haselkorn et al. 1980).

Planktothrix ne possède pas d'hétérocyste, néanmoins, ce genre ainsi que d'autres Oscillatoriales, sont connus pour pouvoir induire une activité nitrogénase dépendant principalement de la lumière et des concentrations en oxygène (Nicklisch 1994; Zevenboom et al. 1982; Wasmund et al. 2001). Ce bagage enzymatique lui permet de survivre durant de longue période en l'absence de source d'azote dans le milieu. Van Liere et Mur (1980) ainsi que Zevenboom & Mur (1982) ont démontré par des expériences menées en chémostat qu'*Aphanizomenon flos-aquae* et *Planktothrix agardhii* avaient des besoins similaires pour croître. Néanmoins, *Planktothrix agardhii* est plus compétitif à des intensités lumineuses plus réduites.

L'analyse de Weighted Avering (WA) (ter Braak & Looman 1986) tend à démontrer que la dominance de *Planktothrix*, par rapport à *Aphanizomenon*, est plus liée aux concentrations en phosphore, en chlorure, en sulfate et aux valeurs de conductivité. En outre, contrairement à *Aphanizomenon*, l'abondance de ce genre est moins corrélée à la température de l'eau. Ces résultats sont partiellement en concordance avec ceux obtenus par Willame et al. (in press) qui sur base de 64 efflorescences ont pu démontrer que la présence de *Planktothrix* dans des milieux eutrophes à hypereutrophes était liée à la salinité (charge ionique au sens large) de l'eau (voir chapitre 6.4.). En effet, l'abondance relative de *Planktothrix* est plus élevée dans les clusters 2A et 3 correspondant à des masses d'eau dont la conductivité est élevée et dont les concentrations en Ca, Mg et SO₄ sont importantes.

Néanmoins, contrairement aux résultats obtenus sur le bassin d'Artois-Picardie, Willame et al. (sous presse) ont révélé qu'*Aphanizomenon* était également principalement rencontré dans des milieux riches en Ca, Mg et SO₄ et à haute valeur de conductivité. En outre, *Aphanizomenon* est communément décrit dans de nombreux lacs calcaires (Zhang & Prepas 1996; Konopka 1989).

Ces résultats contradictoires trouvent vraisemblablement leur origine dans les analyses statistiques reposant sur un nombre trop réduit d'observations. Seul l'emploi d'un plus grand nombre de données pourra à terme conforter les analyses statistiques réalisées.

Un des problèmes majeurs liés à la présence de *Planktothrix* est sa faculté à réaliser des blooms pérennes, c'est-à-dire des blooms perpétuellement présents au cours des différentes saisons de l'année. Au Val Joly, les populations estivales de *Planktothrix* s'effondrent pour atteindre des biovolumes négligeables durant la période hivernale. Cependant, il n'est pas exclu que lors d'hiver plus doux, les populations puissent se maintenir à des densités élevées. Ce fait a déjà été constaté dans plusieurs lacs européens (Briand et al. 2002).

Certaines populations de *Planktothrix* peuvent donc se maintenir durant la période hivernale même à des températures relativement basses. Malheureusement, les essais menés en culture ne confortent pas cette constatation puisque seule la souche d'*Aphanizomenon* a montré une croissance significative à 16 °C. Ce fait trouve vraisemblablement son origine dans la densité de l'inoculum utilisé qui serait trop faible et n'aurait pas permis le développement de certaines souches et ce principalement à 16 °C (condition plus défavorable au développement). Cette densité trop réduite expliquerait, en outre, le développement tardif des souches à 21 °C.

Les courbes de croissance d'*Aphanizomenon* obtenues à 16 °C démontrent clairement que ce genre peut pallier à un manque d'azote puisque les densités les plus importantes sont obtenues

dans le milieu carencé en azote. De même, de Figueiredo et al. (2004b) ont démontré que la croissance d'une souche d'Aphanizomenon flos-aquae était supérieure dans un milieu carencé en azote par rapport à un milieu riche en composés azotés.

La courbe de croissance de Planktothrix 3VJS1 témoigne également de leur faculté à tirer bénéfice de l'azote atmosphérique lorsque les conditions du milieu sont carencées en nitrate et ammonium. Dans de telles conditions, leur croissance apparaît même supérieure (voir Fig. 53).

En 2002 et 2003, les populations d'Aphanizomenon et de Planktothrix apparaissent concomitamment. Mais au bout de quelques semaines les populations de Planktothrix prennent l'ascendant sur celles d'Aphanizomenon. Planktothrix est connu pour pouvoir croître à des intensités lumineuses très réduites. De plus, les filaments de Planktothrix peuvent induire un effet d'ombrage (self-shading) pénalisant ainsi le développement des autres organismes photosynthétiques, généralement plus exigeants en énergie lumineuse. L'effet combiné de la diminution de la période d'ensoleillement liée à l'effet saisonnier, de la diminution de la température et de la déstratification qui en découle peut également défavoriser le développement d'Aphanizomenon. L'analyse WA suggère que ce genre est lié à des températures plus élevées. De plus, les pics de densité d'Aphanizomenon en 2002 et 2003 ont lieu postérieurement à une phase marquée de stratification. A l'opposé, Planktothrix est adapté à des conditions de turbulence importante (Reynolds et al. 2002), il apparaît donc assez logique que, dans de telles conditions, ce genre devienne le dominant.

Très peu de Microcystis ont été observés dans les eaux du lac du Val Joly. Ce fait pourrait trouver son origine dans les températures estivales trop réduites pour permettre la dominance de ce genre. Les expériences menées sur la souche Microcystis 3PES1 tendent à supporter cette constatation puisque cette souche n'a pu se développer dans l'expérience menée à 16 °C. De plus, la dominance de Microcystis est principalement liée aux régions chaudes du Sud de l'Europe (Portugal - Vasconcelos 1994 ; Grèce - Cook et al. 2004).

Les densités élevées en cyanobactéries ainsi que la présence de microcystines mises en évidence dans plusieurs échantillons révèlent le danger potentiel que représente le lac du Val Joly. Même si le plan d'eau fait l'objet d'une interdiction relative à la baignade, des baigneurs ont été observés en différents points du lac au cours de l'été caniculaire 2003.

Les résultats obtenus dans le cadre des tests de toxicité sur *Daphnia magna* démontrent également la toxicité associée aux efflorescences de cyanobactéries. Cette toxicité n'est pas strictement liée aux concentrations en microcystines totales mais elle repose également sur des composés organiques dont l'origine et la nature sont indéterminés. Ceux-ci sont communément appelés les « *Daphnia toxic compounds* » (DTC) (Tarczynska et al. 2001).

Outre, les problèmes strictement liés aux efflorescences toxigènes, nous avons pu recenser la mortalité de nombreuses moules flottant à la surface lors de la campagne du 31-07-03 (Fig. 61). Cette mortalité doit, vraisemblablement, être associée à un manque d'oxygène mis en évidence dans les couches les plus profondes. En effet, à cette date, les valeurs d'oxygène dissous sont proches d'1 mg/l. Cette carence en oxygène (anoxie) est typique des milieux eutrophes à hypereutrophes. En effet, en absence de lumière (en profondeur en phase diurne ou en phase nocturne) la respiration des hétérotrophes combinée à celle des autotrophes aboutit à l'anoxie du milieu concerné.



Fig. 61 : Moules récoltées lors de la campagne d'échantillonnage 31-07-03

6.2. Autres plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie

La prospection des plans d'eau réalisée dans le cadre de cette étude révèle l'abondance des efflorescences de cyanobactéries au sein du bassin d'Artois-Picardie.

Microcystis et *Planktothrix* sont les genres de cyanobactéries (co-)dominants les plus fréquemment rencontrés dans les plans d'eau à efflorescences. Ils (co-)dominent chacun 40 % des plans d'eau investigués alors qu'*Anabaena* et *Aphanizomenon* ne sont respectivement révélés que dans 23 et 20 % de ceux-ci. La dominance de *Limnothrix* et *Woronichinia* est assez rare puisqu'ils n'ont été observés que dans, respectivement, 5 et 3 % des échantillons.

Microcystis et *Planktothrix* sont des genres toxigènes connus pour leur faculté à synthétiser, essentiellement, des hépatotoxines responsables de centaines de cas de mortalités animales et humaines à travers le monde. Ces deux genres sont sans doute les plus communs de toute l'Europe centrale car leur dominance a également été reportée dans les pièces d'eau à efflorescences du sud de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg (Willame et al. in press) et de l'Allemagne (Fastner et al. 1999; Wiedner et al. 2001). *Microcystis* est également fréquemment rencontré dans les plans d'eau à efflorescences slovaques (Marsalek et al. 2000) et portugais (Vasconcelos 1994).

La dominance des cyanobactéries dans les plans d'eau échantillonnés s'explique principalement par le caractère hypereutrophe de ceux-ci. Les cyanobactéries responsables d'efflorescences sont connues pour se développer préférentiellement dans de tels milieux au cours de l'été et de l'automne.

L'analyse statistique réalisée révèle que le rapport TN/TP, les concentrations en silicium et en chlorure sont les paramètres clés impliqués dans la dominance des différents genres.

Le rapport TN/TP est décrit par beaucoup d'auteurs comme le paramètre majeur conditionnant la dominance des cyanobactéries (Paerl 1996). Les cyanobactéries se développent habituellement lorsque ce rapport est inférieur à 29. Néanmoins, la dominance des cyanobactéries ne peut être réduite à cette seule variable car elle repose sur la combinaison de multiples paramètres environnementaux (Dokulil & Teubner 2000).

Selon la CCA, ce rapport TN/TP discrimine partiellement les populations d'*Aphanizomenon* et d'*Anabaena* d'une part, et de *Planktothrix*, d'autre part. Ainsi, contrairement à *Planktothrix*, *Aphanizomenon* et *Anabaena* seraient liés aux valeurs élevées du rapport TN/TP. Ce fait peut paraître assez étonnant puisque ces Nostocales peuvent pallier au manque d'azote. De plus, les résultats obtenus dans le cadre des tests écophysologiques démontrent que le maximum de densité atteint est obtenu dans le milieu où le rapport TN/TP est le plus faible.

Jensen et al. (1996) ont démontré que le rapport N/P n'est pas une variable explicative « absolue ». En effet, dans beaucoup de lacs danois, la dominance des cyanobactéries sur les

chlorophytes ne peut s'expliquer exclusivement par le rapport N/P. De plus, il est toujours délicat de comparer des résultats obtenus dans le cadre de tests expérimentaux réalisés en laboratoire avec ceux obtenus in situ. En effet, les premiers impliquent un nombre beaucoup plus réduit de variables et de ce fait ne donnent qu'une image partielle des mécanismes impliqués dans le développement des cyanobactéries.

Une nouvelle fois, les concentrations en chlorure jouent un rôle majeur dans la dominance d'Aphanizomenon, d'Anabaena et de Planktothrix. Contrairement à l'analyse de WA réalisée sur les données du lac du Val Joly, Aphanizomenon, à l'opposé de Planktothrix, est corrélé aux concentrations élevées en chlorure. Comme nous l'avons déjà mentionné précédemment, il est très délicat de tirer des conclusions sur des analyses statistiques comportant un nombre trop réduit de données. Néanmoins, la salinité, au sens large du terme, est sans doute un élément primordial lié à la dominance et à la diversité des cyanobactéries. Malheureusement cette variable est la plus part du temps négligée dans les études portant sur l'écologie des cyanobactéries.

La présence de Planktothrix et de Limnothrix est fréquemment corrélée aux concentrations en silicium. L'effet du silicium sur ces deux genres est très vraisemblablement indirect. Les concentrations importantes en silicium, témoignent la plupart du temps de conditions climatiques pluvieuses (input de silicium via le lessivage). Ces conditions météorologiques sont particulièrement propices à leur développement.

Ces genres sont connus pour pouvoir se contenter de faibles intensités lumineuses, de conditions de turbulence importantes qui sont généralement défavorables aux autres algues.

Le problème engendré par la toxicité des blooms en Artois-Picardie, ne peut plus être négligé. Les résultats obtenus démontrent le réel danger de santé publique lié à la présence de microcystines (de Figueiredo et al. 2004a). Les concentrations obtenues, exprimées en gramme de poids sec d'extrait se situent dans la gamme de valeurs habituellement mises en évidence dans d'autres pays tels que le Brésil (270-1121 µg/g P.S.), le Danemark (10-1695 µg/g P.S.) (Henriksen & Moestrup 1997), le Japon (0.02-2260 µg/g P.S.) (Park et al. 1993) et la Belgique, notamment (31-2231 µg/g P.S.) (Willame et al., in press).

L'échantillon du pré du Hem (04-09-2003) s'est révélé être le plus toxique pour *Daphnia magna* (EC₅₀-24 h : 2381.0 mg/l). De plus, cet échantillon est également parmi ceux testés, celui pour lequel la concentration en MC était la plus élevée. Néanmoins, comme nous l'avons souligné précédemment, il n'existe pas une relation strictement linéaire entre les valeurs de EC₅₀- 24 h et les concentrations en MC (Maršálek & Bláha 2004).

L'effet toxique des cyanobactéries et de leurs toxines vis-à-vis du genre *Daphnia* est bien connu (Rohrlack et al. 1999; Reinikainen 1994). Il repose essentiellement sur l'espèce utilisée ainsi que sur le mode d'administration des toxines (extraits bruts, extraits purifiés, souches,...). Les tests réalisés avec *Daphnia magna* doivent être considérés comme des tests évaluant la toxicité globale des échantillons plutôt que la toxicité correspondant au contenu en microcystines (Tarczyska et al. 2001). D'autres organismes moins couramment utilisés dans les tests de toxicités montrent une plus grande sensibilité aux extraits de cyanobactéries. Ainsi, le crustacé *Thamnocephalus platyurus* est un des organismes le plus sensible aux extraits de cyanobactéries (Maršálek & Bláha 2004) parmi ceux les plus fréquemment utilisés dans les microbiotests.

6.3. Le lac de la Haute-Sûre (Luxembourg)

L'analyse statistique réalisée sur le set de données relatif au lac de la Haute-Sûre démontre que la prolifération des populations de cyanobactéries est essentiellement liée aux valeurs importantes de température, de pH, de densité bactérienne ainsi qu'aux valeurs faibles de nitrate, de silicium, de débit de la Sûre (affluent majeur du lac).

Les cyanobactéries responsables d'efflorescences sont réputées pour particulièrement apprécier les valeurs élevées de température et de pH (Paerl et al. 2001).

Peu de résultats existent sur un lien potentiel entre la présence ou l'absence de certaines bactéries et le développement de cyanobactéries responsables d'efflorescences. Néanmoins, on sait que certaines bactéries de la phycosphère des cyanobactéries jouent un rôle primordial dans le développement de celles-ci. Les cyanobactéries sont capables de sécréter des substances chimiques ayant un pouvoir attractif sur les bactéries hétérotrophes. Ces bactéries établissent des liens synergiques avec leurs hôtes en recyclant les nutriments au sein de la phycosphère ou en consommant l'oxygène néfaste aux processus de fixation de l'azote atmosphérique (Paerl & Millie 1996).

Au cours de ces trois années d'échantillonnage, les Nostocales du genre *Anabaena* et *Aphanizomenon* ainsi que les Oscillatoriales du genre *Planktothrix* et *Limnothrix* ont été les acteurs majeurs de la dynamique des populations cyanobactériennes. Leur faculté à pallier à la carence en azote explique sans doute la relation de corrélation inverse qui existe entre leur abondance et les concentrations en nitrate.

Quant aux valeurs de débit et de concentration en silicium, elles reflètent des conditions environnementales pluvieuses qui la plupart du temps sont préjudiciables à la prolifération des cyanobactéries, surtout en l'absence de stratification thermique.

Une fois de plus, les résultats obtenus au lac de la Haute-Sûre démontrent que les variables : N/P, azote, phosphore, température de l'eau, salinité, sont étroitement liées aux développements des genres de cyanobactéries.

La CCA réalisée donne également l'intensité lumineuse comme paramètre explicatif de la dominance des genres d'*Anabaena* et d'*Aphanizomenon*. Contrairement aux genres *Planktothrix* et *Limnothrix* connus pour leur faculté à croître lorsque les conditions lumineuses sont défavorables.

Les protistes jouent également un rôle dans la dominance de *Planktothrix*, *Limnothrix* et *Woronichinia*. Très peu d'études prennent en considération les populations de protistes dans le développement des cyanobactéries et dès lors il est difficile de commenter ces résultats. Néanmoins, il est probable que la corrélation négative entre les biovolumes de *Woronichinia* et les densités importantes de protistes réside dans la prédation que ceux-ci peuvent exercer sur les cyanobactéries. Cette prédation est d'autant plus performante que les organismes ingérés sont petits. Ainsi, même si les cyanobactéries du genre *Woronichinia* sont coloniales, les cellules qui les composent sont de dimensions réduites. Ces cellules sont très facilement libérées des colonies lors de stress mécaniques (Komárek & Anagnostidis 1998). La prédation exercée par les protistes sur les organismes de petites tailles pourrait ainsi favoriser le développement des organismes de tailles plus importantes, telles que les cyanobactéries filamenteuses. En outre, la corrélation entre la présence des protistes et de certaines cyanobactéries pourrait également trouver son origine dans la présence de macromolécules synthétisées par les cyanobactéries et métabolisées par les protistes. Les nanoflagellées hétérotrophes sont connus pour pouvoir assimiler des macromolécules dissoutes (Christoffersen et al. 1996; Sherr 1988) telles que les polysaccharides synthétisés par les cyanobactéries possédant du mucilage.

Les résultats obtenus lors des recherches menées au lac de la Haute-Sûre ne peuvent pas être aveuglément comparés à ceux obtenus au lac du Val Joly et ce, pour plusieurs raisons. La

première réside dans le fait que les campagnes d'échantillonnage ont été menées durant des années différentes (1999-2000-2001 : Haute-Sûre / 2002-2003 : Val Joly) durant lesquelles prévalaient des conditions environnementales contrastées. La seconde est liée aux différences inhérentes aux sites étudiés. D'une part, le lac de la Haute-Sûre est un lac mésoeutrophe profond situé dans les Ardennes luxembourgeoises, d'autre part le lac du Val Joly est un plan d'eau hypereutrophe, peu profond. Finalement, la diversité phytoplanctonique est étroitement liée aux caractéristiques piscicoles (Komárkova 1998). Or, cette variable, potentiellement différente, n'a pas été prise en considération dans cette étude.

6.4. Autres plans d'eau belges, luxembourgeois et français

L'ensemble des résultats obtenus lors de ce travail mené sur les plans d'eau belges, luxembourgeois et français (nord-est) ont abouti à la réalisation d'une publication intitulée : « Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxembourg » Willame et al. (in press).

Les données récoltées révèlent qu'un nombre important de plans d'eau, allant de la simple mare au réservoir d'eau potable, sont soumis aux fléaux des cyanobactéries toxigènes.

Microcystis et Planktothrix sont les genres les plus fréquemment décrits comme responsables d'efflorescences en Belgique-Luxembourg et dans le nord de la France. Par conséquent, ils peuvent donc être considérés comme les plus communs de toute l'Europe centrale (voir paragraphe 6.2.).

Selon les données récoltées et celles déjà publiées, il apparaît assez clairement que la distribution des genres de cyanobactéries responsables d'efflorescences suit étroitement un gradient nord-sud. Au nord, les populations de Nostocales seraient les cyanobactéries les plus représentatives des fleurs d'eau (Sivonen et al. 1990; Skulberg et al. 1994; Willén & Mattsson 1997), au centre celles de Planktothrix et Microcystis (Fastner et al. 1999; Wiedner et al. 2001) et finalement, le sud de l'Europe serait principalement concerné par des efflorescences de Microcystis (Vasconcelos 1994). L'étude récente réalisée par Cook et al. (Cook et al. 2004) portant sur l'étude de 33 plans d'eau démontre également que Microcystis est le genre dominant le plus fréquemment rencontré dans les fleurs d'eau grecques.

Les analyses statistiques menées démontrent, une nouvelle fois, l'influence majeure des concentrations en ions ainsi que des valeurs de conductivité. Les spécificités liées à ces deux variables dépendent, dans ce cas, des caractéristiques géologiques associées à la zone de prospection.

L'importance des paramètres géologiques est rarement considérée dans les études portant sur les efflorescences de cyanobactéries. Néanmoins, Reynolds et Petersen (2000) ont démontré l'influence de la nature géologique du bassin versant sur les populations de cyanobactéries de lacs irlandais.

En milieu eutrophe à hypereutrophe, il apparaît donc que l'influence des paramètres communément employés pour expliquer la dominance des cyanobactéries (azote, en phosphore,...), joue un rôle secondaire sur la dominance d'un genre donné.

Plusieurs blooms hépatotoxiques ont été observés au sein de la zone prospectée. 53 % des efflorescences analysées contenaient des hépatotoxines. Ce pourcentage est inférieur à celui obtenu par l'analyse des échantillons d'Artois-Picardie révélant la présence de microcystines dans

71 % des échantillons. Néanmoins, ces pourcentages sont relativement proches de ceux obtenus dans d'autres régions d'Europe (66 % au Danemark (Henriksen 1996), 66 % en Allemagne (Fastner et al. 2001), 60 % au Portugal (Vasconcelos 2001)). *Microcystis* est une nouvelle fois, le genre le plus fréquemment observé dans les échantillons hépatotoxiques. Ce fait corrobore les résultats obtenus par d'autres études dont celles de Skulberg (1994) et de Sivonen (1990). Les concentrations en microcystines mises en évidence sont proches de celles obtenues dans les échantillons d'Artois-Picardie ainsi que dans la plupart des autres régions d'Europe (Chorus 2001). L'échantillon dans lequel la concentration en MC-tot fût la plus importante était majoritairement composé de *Woronichinia*. A l'opposé, en Artois-Picardie, l'échantillon de Chabaud-Latour, dominé par des populations de *Microcystis*, contenait les plus hautes teneurs en MC-tot.

7. Conclusions et perspectives

Les plans d'eau d'Artois-Picardie, du nord-est de la France, du sud de la Belgique et du Grand-Duché de Luxembourg n'échappent pas à la problématique des efflorescences toxiques de cyanobactéries.

Planktothrix et *Microcystis* sont les deux genres de cyanobactéries les plus fréquemment rencontrés dans les plans d'eau à efflorescences. En Artois-Picardie, de nombreux blooms hépatotoxiques ont été révélés principalement à la frontière franco-belge. De même, en Belgique, au Grand-Duché de Luxembourg et dans le nord-est de la France, beaucoup d'efflorescences hépatotoxiques ont également été mises en évidence. Les concentrations en microcystines sont proches de celles communément rencontrées dans d'autres plans d'eau européens.

En Artois-Picardie, des densités en cyanobactéries et des concentrations en microcystines largement supérieures aux valeurs seuils définies par l'OMS (et le CSHF) ont été atteintes dans plusieurs pièces d'eau, dont celle du Val Joly.

Par conséquent, selon les recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France du 6 mai 2003, un système de surveillance des plans d'eau où d'importantes densités de cyanobactéries ont été observées doit être établi.

Ce travail constitue les prémices de l'évaluation de la problématique associée aux cyanobactéries toxigènes dans les plans d'eau du bassin d'Artois-Picardie.

Il subsiste, en effet, des larges zones d'ombre puisqu'une grande partie du bassin d'Artois-Picardie (partie centrale) reste exempte de toutes données. De plus, l'ensemble des résultats obtenus par le biais des analyses statistiques devront à terme s'appuyer sur un plus grand nombre de données. En outre, plusieurs paramètres tels que les données météorologiques et certaines variables biotiques, dont les densités en protistes et en bactéries, devraient être prises en compte. Un intérêt

tout particulier doit être donné aux concentrations ioniques car celles-ci sont habituellement négligées dans de telles études. Or, les résultats obtenus démontrent leur rôle clé dans la dominance d'un genre donné.

L'emploi d'outils moléculaires tels que la « denaturing gradient gel electrophoresis » (DGGE), les PCR-multiplex, pourrait affiner l'étude de la dynamique des cyanobactéries (principalement celle des picocyanobactéries) et permettre l'évaluation du risque sanitaire lié aux toxines avant même que ces dernières ne soient détectées dans le milieu par les techniques classiques.

Si le danger des cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux de baignade et de consommation est « relativement » bien évalué, l'impact de ces proliférations massives sur l'ensemble de la faune et de la flore aquatiques est nettement moins bien défini. Des études ont démontré que la microcystine pouvait avoir un impact négatif sur la physiologie et la croissance des végétaux (Hamvas et al. 2003). En outre, il est actuellement bien établi que les cyanotoxines peuvent contaminer l'ensemble de la chaîne alimentaire aquatique en s'accumulant par exemple dans les bivalves (Pereira et al. 2004) ou dans le zooplancton (Thostrup & Christoffersen 1999). Cette voie potentielle de contamination est réelle mais fait, cependant, l'objet de très peu d'études,...

8. Références bibliographiques

Alonso Andicoberry, C., L. Garcia Villada, V. Lopez Rodas & E. Costas, 2002. Catastrophic mortality of flamingos in a Spanish national park caused by cyanobacteria, *Vet. Rec.* 151: 706-707.

Anagnostidis, K. & J. Komárek, 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 3 -Oscillatoriales, *Alg. Stud.* 50-53: 327-472.

Azevedo, S. M. F. O., W. W. Carmichael, E. M. Jochimsen, K. L. Rinehart, S. Lau, G. R. Shaw & G. K. Eaglesham, 2002. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil, *Toxicology* 181-182: 441-446.

Bourrelly, P., 1985. *Les Algues d'Eau Douce*. Tome III. Eugléniens, Péridiniens, Algues rouges et Algues bleues, Boubée, Paris, 606 pp.

Briand, J. F., S. Jacquet, C. Bernard & J. F. Humbert, 2003. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems, *Vet. Res.* 34: 361-377.

Briand, J. F., C. Robillot, C. Quiblier Lloberas & C. Bernard, 2002. A perennial bloom of *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) in a shallow eutrophic French lake: limnological and microcystin production studies, *Arch. Hydrobiol.* 153: 605-622.

Carmichael, W. W., 1994. Toxins of cyanobacteria, *Sci. Amer.* 270: 78-86.

Carmichael, W. W., 1997. The cyanotoxins, *Adv. Bot. Res.* 27: 211.

Carmichael, W. W., S. M. F. O. Azevedo, J. S. An, R. J. R. Molica, E. M. Jochimsen, S. Lau, K. L. Rinehart, G. R. Shaw & G. K. Eaglesham, 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins, *Environ. Health Persp.* 109: 663-668.

Castiglioni, B., R. Ermanno, A. Frosini, K. Sivonen, P. Rajaniemi, A. Rantala, M. A. Mugnai, S. Ventura, A. Wilmotte, C. Boutte, S. Grubisic, P. Balthasart, C. Consolandi, R. Bordoni, A. Mezzelani, C. Battaglia & G. De Bellis, 2004. Development of a universal microarray based on the ligation detection reaction and 16S rRNA gene polymorphism to target diversity of cyanobacteria, *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 7161-7172.

- Castiglioni, B., E. Rizzi, A. Frosini, M. A. Mugnai, S. Ventura, K. Sivonen, P. Rajaniemi, A. Rantala, A. Wilmotte, C. Boutte, C. Consolandi, R. Bordoni, A. Mezzelani, E. Busti, L. Rossi Bernardi, C. Battaglia & G. De Bellis, 2002. Application of an universal DNA microarray to cyanobacterial diversity assessment, *Minerva. Biotec.* 14: 253-257.
- Chorus, I., 2001. *Cyanotoxins. Occurrence, Causes, Consequences*, Springer, Berlin, 357 pp.
- Chorus, I. & J. Bartram, 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*, WHO, London, 416 pp.
- Chorus, I., I. R. Falconer, H. J. Salas & J. Bartram, 2000. Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters, *J. Toxicol. Env. Health B* 3: 323-347.
- Christoffersen, K., C. Bernard & J. Ekebom, 1996. A comparison of the ability of different heterotrophic nanoflagellates to incorporate dissolved macromolecules, *Arch. Hydrobiol. Spec. Iss. Adv. Limnol.* 48: 73-84.
- Codd, G. A., S. G. Bell & W. P. Brooks, 1989. Cyanobacterial toxins in water, *Water Sci. Technol.* 21: 1-13.
- Cohen, S. G. & C. B. Reif, 1953. Cutaneous sensitization to blue-green algae, *J. Allergy* 24: 452-457.
- Cook, C. M., E. Vardaka & T. Lanaras, 2004. Toxic cyanobacteria in Greek freshwaters, 1987-2000: occurrence, toxicity, and impacts in the Mediterranean region, *Acta Hydroch. Hydrob.* 32: 107-124.
- Cronberg, G. & J. Komárek, 1994. Planktic cyanoprokaryotes found in south Swedish lakes during the XIIIth International Symposium on Cyanophytes Research, *Alg. Stud.* 75: 323-352.
- de Figueiredo, D. R., U. M. Azeiteiro, S. M. Esteves, F. J. M. Gonçalves & M. J. Pereira, 2004a. Microcystin-producing blooms - a serious global public health issue, *Ecotox. Environ. Safe* 59: 151-163.
- de Figueiredo, D. R., U. M. Azeiteiro, F. Gonçalves & M. J. Pereira, 2004b. *Aphanizomenon flos-aquae* grown under different nutrient concentrations and the effects of its exudates on growth of two green algae, *Fresen. Environ. Bull.* 13: 657-664.
- Descy, J. P., T. M. Frost & J. P. Hurley, 1999. Assessment of grazing by the freshwater copepod *Diatomus minutus* using carotenoid pigments: a caution, *J. Plankton Res.* 21: 127-145.
- Desikachary, T. V., 1959. *Cyanophyta*, Indian council of agricultural research, New Delhi, 686 pp.
- Dokulil, M. T. & K. Teubner, 2000. Cyanobacterial dominance in lakes, *Hydrobiologia* 438: 1-12.
- Downing, J. A., S. B. Watson & E. McCauley, 2001. Predicting Cyanobacteria dominance in lakes, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 1905-1908.
- Eriksson, J. E., D. Toivola, J. Meriluoto, H. Karaki, Y. G. Han & D. Hartshorne, 1990. Hepatocyte deformation induced by cyanobacterial toxins reflects inhibition of protein phosphatases, *Biochem. Bioph. Res. Co.* 173: 1347-1353.
- Falconer, I. R., 1996. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria, *Phycologia* 35: 6-11.
- Fastner, J., U. Neumann, B. Wirsing, J. Weckesser, C. Wiedner, B. Nixdorf & I. Chorus, 1999. Microcystins (Hepatotoxic heptapeptides) in German fresh water bodies, *Environ. Toxicol.* 14: 13-22.
- Fastner, J., B. Wirsing, C. Wiedner, R. Heinze, U. Neumann & I. Chorus, 2001. Microcystins and hepatocyte toxicity. In I. Chorus (ed), *The Cyanotoxins*, Springer, Berlin: 22-37.
- Geitler, L., 1932. *Cyanophyceae*, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1196 pp.

- Gustafson, K., J. Cardellina, R. Fuller, O. Weislow, R. Kiser, K. Snader, G. Patterson & M. Boyd, 1989. AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae), *J Natl. Cancer I.* 81: 1254-1258.
- Hamvas, M. H., C. Máthé, E. Molnár, G. Vasas, I. Grigorszky & G. Borbely, 2003. Microcystin-LR alters the growth, anthocyanin content and single-stranded DNase enzyme activities in *Sinapis alba* L., *Aquat. Toxicol.* 62: 1-9.
- Haselkorn, R., B. Mazur, J. Orr, D. Rice, N. Wood & R. Rippka, 1980. Heterocyst differentiation and nitrogen fixation in cyanobacteria (blue- green algae). In W.E. Newton & N.H. Orme-Johnson (eds), *Nitrogen Fixation, Volume II*, University Park Press, Baltimore.
- Henriksen, P., 1996. Microcystin profiles and contents in Danish populations of cyanobacteria/blue-green algae as determined by HPLC, *Phycologia* 35: 102-110.
- Henriksen, P. & O. Moestrup, 1997. Seasonal variation in microcystin contents of Danish cyanobacteria, *Nat. Toxins* 5: 99-106.
- Huszar, V. L. M., L. H. S. Silva, M. Marinho, P. Domingos & C. L. Sant'Anna. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. *Hydrobiologia* 424, 67-77. 2000.
- ISO, 1996. Norme ISO 6341: qualité de l'eau. Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Essai de toxicité aiguë, 1-9 pp.
- Jensen, J. P., E. Jeppesen, K. Olrik & P. Kristensen, 1994. Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1692-1699.
- Jochimsen, E. M., W. W. Carmichael, J. An, D. M. Cardo, S. T. Cookson, C. E. M. Holmes, M. B. Antunes, D. A. De Melo Filho, T. M. Lyra, V. Spinelli, T. Barreto, S. M. F. O. Azevedo & W. R. J. Jarvis, 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil, *Engl. J. Med.* 338: 873-878.
- Kanoshina, I., U. Lips & J. M. Leppanen, 2003. The influence of weather conditions (temperature and wind) on cyanobacterial bloom development in the Gulf of Finland (Baltic Sea), *Harmful Algae* 2: 29-41.
- Kaya, K. & T. Sano, 1996. Algicidal compounds in yeast extract as a component of microbial culture media, *Phycologia* 35: 117-119.
- Keleti, G., J. L. Sykora, E. C. Libby & M. A. Shapiro, 1979. Composition and biological properties of lipopolysaccharides isolated from *Schizothrix calcicola* (Ag.) Gomont (Cyanobacteria), *Appl. Environ. Microb.* 38: 471-477.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis, 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 4 -Nostocales, *Alg. Stud.* 56: 247-345.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis, 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. In H. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig, D. Mollenhauer (eds), *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1*, Gustav Fischer, Stuttgart, 548 pp.
- Komárek, J. & B. Fott, 1983. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung Chlorococcales- Das Phytoplankton des Süßwassers, Schweizerbart Verlag, Stuttgart, 1044 pp.
- Komárkova, J., 1998. Fish stock as a variable modifying trophic pattern of phytoplankton, *Hydrobiol.* 369/370: 139-152.
- Komárkova-Legnerová, J. & P. Eloranta, 1992. Planktic blue-green algae (Cyanophyta) from Central Finland (Jyväskylä region) with special reference to genus *Anabaena*, *Alg. Stud.* 67: 103-133.
- Konopka, A., 1989. Metalimnetic cyanobacteria in hard-water lakes: buoyancy regulation and physiological state, *Limnol. Oceanogr.* 34: 1174-1184.

- Kotai, J., 1972. Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae, Norwegian Institute for Water Research, Oslo, Publication B-11/69.
- Lanciotti, E., C. Santini, E. Lupi & D. Burrini, 2003. Actinomycetes, cyanobacteria and algae causing tastes and odours in water of the River Arno used for the water supply of Florence, J. Wat. Suppl. : Res. and Technol.- AQUA. 52: 489-500.
- Lund, C. L. & J. W. G. Lund, 1995. Freshwater Algae, Biopress Ltd, Bristol, 360 pp.
- Madigen, M. T., J. M. Martinko & J. Parker, 2000. Brock Biology of Microorganisms, Prentice-Hall, London, 991 pp.
- Maršálek, B., L. Bláha & F. Hindák, 2000. Review of toxicity of cyanobacteria in Slovakia, Biologia 55: 645-652.
- Maršálek, B. & L. Bláha, 2004. Comparison of 17 biotests for detection of cyanobacterial toxicity. Environ.Toxicol. 19 : 310-317.
- Murphy, J. & J. P. Riley, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, Anal. Chim. Acta 27: 31-36.
- Nicklisch, A., 1994. Does mortality by nitrogen deficiency influence the succession of *Limnithrix redekei* and *Planktothrix agardhii*?, Verh. Internat. Verein. Limnol. 25: 2214-2217.
- OECD, 1981. Tests guidelines 202, decision of the council C(81) 30 final and updates, Paris.
- Oliver, R. L. & G. G. Ganf, 2000. Freshwater blooms. In B. A. Whitton & M. Potts (eds), The Ecology of Cyanobacteria, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 149-194.
- Paerl, H. W., 1996. A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments, Phycologia 35: 25-35.
- Paerl, H. W., R. S. Fulton & P. H. Moisander, 2001. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria, The Scientific World 1: 76-113.
- Paerl, H. W. & D. F. Millie, 1996. Physiological ecology of toxic aquatic cyanobacteria, Phycologia 35: 160-167.
- Park, H. D., M. F. Watanabe, K. I. Harada, H. Nagai, M. Suzuki, M. Watanabe & H. Hayashi, 1993. Hepatotoxin (microcystin) and neurotoxin (anatoxin-a) contained in natural blooms and strains of cyanobacteria from Japanese freshwaters, Nat. toxins 1: 353-360.
- Pereira, P., E. Dias, S. Franca, E. Pereira, M. Carolino & V. Vasconcelos, 2004. Accumulation and depuration of cyanobacterial paralytic shellfish toxins by the freshwater mussel *Anodonta cygnea*, Aquat. Toxicol. 68: 339-350.
- Persson, P. E., 1996. Cyanobacteria and off-flavours, Phycologia 35: 168-171.
- Reinikainen, M., 1994. Acute toxicity of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (strain PCC 7820) to *Daphnia pulex* (Cladocera), Alg. Stud. 75: 229-237.
- Reynolds, C. S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores & S. Melo, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton, J. Plankton Res. 24: 417-428.
- Reynolds, C. S. & A. C. Petersen, 2000. The distribution of planktonic Cyanobacteria in Irish lakes in relation to their trophic states, Hydrobiologia 424: 91-99.
- Reynolds, C. S. & A. E. Walsby, 1975. Water-blooms, Biol. Rev. 50: 437-481.

- Rippka, R., J. Deruelles, J. B. Waterbury, M. Herdman & R. Y. Stanier, 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria, *J. Gen. Microbiol.* 111: 1-61.
- Rodier, J., 1996. *L'Analyse de l'Eau*, 8^e edition, Dunod, Paris, 1432 pp.
- Rohrback, T., E. Dittmann, M. Henning, T. Börner & J. G. Kohl, 1999. Role of microcystins in poisoning and food ingestion inhibition of *Daphnia galeata* caused by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, *Appl. Environ. Microb.* 65: 737-739.
- Schrader, K. K., N. P. D. Nanayakkara, C. S. Tucker, A. M. Rimando, M. Ganzera & B. T. Schaneberg, 2003. Novel derivatives of 9,10-anthraquinone are selective algicides against the musty-odor cyanobacterium *Oscillatoria perornata*, *Appl. Environ. Microb.* 69: 5319-5327.
- Sherr, E. B., 1988. Direct use of high molecular weight polysaccharide by heterotrophic flagellates, *Nature* 335: 348-351.
- Sivonen, K., 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production, *Phycologia* 35: 12-24.
- Sivonen, K., S. I. Niemelä, R. M. Niemi, L. Lepistö, T. H. Luoma & L. A. Räsänen, 1990. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters, *Hydrobiologia* 190: 267-275.
- Skulberg, O. M., B. Underdal & H. Utkilen, 1994. Toxic waterblooms with cyanophytes in Norway - current knowledge, *Alg. Stud.* 75: 279-289.
- Sommer, U., M. Gliwicz, W. Lampert & A. Duncan, 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters, *Arch. Hydrobiol.* 106: 433-471.
- Tarczynska, M., G. Nalecz-Jawecki, Z. Romanowska Duda, J. Sawicki, K. Beattie, G. Codd & M. Zalewski, 2001. Tests for the toxicity assessment of cyanobacterial bloom samples, *Environ. Toxicol.* 16: 383-390.
- ter Braak, C. J. F. & C. W. N. Looman, 1986. Weighted averaging, logistic regression and the Gaussian response model, *Vegetatio* 65: 3-11.
- Thostrup, L. & K. Christoffersen, 1999. Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*, *Arch. Hydrobiol.* 145: 447-467.
- Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik, *Mitt. Int. Ver. Limnol.* 9: 1-38.
- Van Liere, L. & L. R. Mur, 1980. Occurrence of *Oscillatoria agardhii* and some related species, a survey, *Develop. Hydrobiol.* 2: 67-77.
- Vasconcelos, V. M., 1994. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Portuguese fresh waters, *Arch. Hydrobiol.* 4: 439-451.
- Vasconcelos, V. M., 2001. Freshwater cyanobacteria and their toxins in Portugal. In I. Chorus (ed), *Cyanotoxins: Occurrence Causes Consequences*, Springer-Verlag, New York: 62-67.
- Vezie, C., L. Brient, K. Sivonen, G. Bertru, J. C. Lefevre & M. Salkinojasalonen, 1997. Occurrence of microcystin-containing cyanobacterial blooms in freshwaters of Brittany (France), *Arch. Hydrobiol.* 139: 401-413.
- Wasmund, N., M. Voss & K. Lochte, 2001. Evidence of nitrogen fixation by non-heterocystous cyanobacteria in the Baltic Sea and re-calculation of a budget of nitrogen fixation, *Mar. Ecol.- Progr. Ser.* 214: 1-14.
- WHO, 1998. Guidelines for drinking water quality, Second edition, Addendum to Volume 2, Health Criteria and other supporting information, Geneva.

- Wiedner, C., I. Chorus & J. Fastner, 2001. The waterbodies surveyed for cyanotoxins in Germany. In I. Chorus (ed), *The Cyanotoxins*, Springer, Berlin: 6-21.
- Willame, R. & L. Hoffmann, 1999. Bloom-forming blue-green algae in Belgium and Luxembourg, *Alg. Stud.* 94: 365-376.
- Willame, R., T. Jurczak, J. F. Iffly, J. Meriluoto & L. Hoffmann, 2005. Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxembourg, *Hydrobiologia*, in press.
- Willén, T. & R. Mattsson, 1997. Water-blooming and toxin-producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters, 1981-1995., *Hydrobiologia* 353: 181-192.
- Wirsing, B., L. Hoffmann, R. Heinze, D. Klein, D. Dalozé, J. C. Braekman & J. Weckesser, 1998. First report on the identification of microcystin in a water bloom collected in Belgium, *System. Appl. Microbiol.* 21: 23-27.
- Zevenboom, W., A. Bij de Vaate & L. R. Mur, 1982. Assessment of factors limiting growth rate of *Oscillatoria agardhii* in hypertrophic Lake Wolderwijd, 1978, by use of physiological indicators, *Limnol. Oceanogr.* 27: 39-52.
- Zevenboom, W. & L. R. Mur, 1982. N₂-fixing cyanobacteria: why they do not become dominant in Dutch, hypertrophic lakes, *Develop. Hydrobiol.* 2: 123-130.
- Zhang, Y. & E. E. Prepas, 1996. Regulation of the dominance of planktonic diatoms and cyanobacteria in four eutrophic hardwater lakes by nutrients, water column stability, and temperature, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 621-633.