

ETUDE INTERREGIONALE GRAND OUEST SUR LES CYANOBACTERIES EN EAU DOUCE

CARACTERISATION DE SITES A USAGE D'EAU POTABLE
ET DE LOISIRS VIS-A-VIS DE LA PROLIFERATION
DE CYANOBACTERIES

EXAMEN DES CAUSES DE DEVELOPPEMENT
DES ALGUES ET PROPOSITION
D'UN SUIVI SANITAIRE



avril 2004

ETUDE INTERREGIONALE GRAND OUEST

SUR LES CYANOBACTERIES EN EAU DOUCE

Cette étude a concerné les DDASS et DRASS des régions Basse-Normandie, Bretagne et Pays de Loire dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux d'alimentation et des eaux de loisirs. Elle a été financée par des crédits délégués par le Ministère chargé de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées (Direction Générale de la Santé).

Participants à l'étude

Cette étude s'est déroulée dans le cadre d'un comité animé par Patrick PEIGNER, Ingénieur de Génie Sanitaire à la DDASS de Maine-et-Loire.

Ce comité était composé comme suit :

- R. BARDET DDASS de la Sarthe
- J. BODIN DDASS de la Manche
- C. BOUTET DDASS du Calvados
- L. BRIENT Université de Rennes
- JM. BUISSET DDASS d'Ille et Vilaine
- P.J. CABILLIC DDASS du Morbihan
- C. CHERRUEL DDASS des Côtes d'Armor
- R. CORLAY DDASS de la Vendée
- S. DEGUIN ENSP
- J. DUFILS DDASS de la Manche
- R. FAVERAIS DDASS de la Mayenne
- C. GAUFFENY DDASS de Loire-Atlantique
- M.A. GORAGUER DDASS de Loire-Atlantique
- S. KERBOUL DDASS du Calvados
- JJ. KERNEIS DDASS du Morbihan
- I. JEAN DDASS du Maine-et-Loire
- M. LEGEAS ENSP
- B. LEGOUILL DDASS du Morbihan
- M. LEITAO Bi-Eau
- F. MANSOTTE DDASS de Loire-Atlantique
- D. MARCHAND DRASS de Bretagne
- M. MARZIN DDASS de la Vendée
- S. PASSELERGUE DDASS d'Ille et Vilaine
- P. PEIGNER DDASS de Maine-et-Loire
- S. PERNEY DDASS des Côtes d'Armor
- B. PIRIOU DRASS des Pays de Loire
- S. PRUDHOMME DDASS de l'Orne
- F. SIMON DDASS de la Mayenne
- R. TRACOL DRASS de Basse-Normandie

La rédaction de ce rapport a été assurée par L. Brient, M. Legeas, M. Leitao et P. Peigner au sein d'un comité de pilotage associant également M.A. Goraguer et F. Mansotte.

L'étude statistique des données a été assurée par C. Gaudemer dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude (DESS statistique) portant sur la recherche des facteurs favorisant la prolifération des algues cyanobactéries en eau douce dans le Grand Ouest.

SOMMAIRE

Résumé	4
1. Préambule - Rappel du contexte	11
2. Méthodologie	13
2.1. Les sites étudiés.....	13
2.2. Le terrain.....	15
2.3. Le laboratoire	15
2.3.1. Les analyses algales	15
2.3.2. Les analyses de toxines	16
2.3.3. Les analyses physico-chimiques	18
2.4. Modalités de recueil des données	18
3. Résultats	23
3.1. Analyse globale des données	23
3.1.1. Objectifs de l'analyse statistique	23
3.1.2. Analyse des données	23
3.1.2.1 Matériel.....	23
3.1.2.2 Méthode	24
3.1.2.3 Principaux résultats	26
3.1.2.3.1 Analyse descriptive des valeurs de cyanobactéries.....	26
3.1.2.3.2 Recherche de relations entre les cyanobactéries et les autres paramètres	29
3.1.2.3.3 Relation entre les cyanobactéries et les toxines	38
3.2. Description écologique de quelques sites	44
3.2.1. Sites avec beaucoup de cyanobactéries.....	44
3.2.1.1 Etang de Marcillé Robert.....	44
3.2.1.2 St Denis du Maine	47
3.2.1.3 Chemillé	48
3.2.1.4 St Laurent de Terregate	49
3.2.2. Sites avec une situation intermédiaire	50
3.2.2.1 Pouancé.....	50
3.2.3. Sites avec peu de cyanobactéries.....	51
3.2.3.1 Mézangers	51
3.2.3.2 Arnage	52
3.3. Synthèse sur les algues	53

4. <u>Discussion</u>	56
4.1 Intérêts et limites du protocole	56
4.1.1. Choix des sites	56
4.1.1.1 Fiche signalétique du plan d'eau et de son bassin versant	56
4.1.2. Choix des paramètres	57
4.1.2.1 Conditions de prélèvements	57
4.1.2.2 Données météorologiques	57
4.1.2.3 Observations de l'eau.....	57
4.1.2.4 Azote et phosphore	57
4.1.2.5 Chlorophylle	58
4.1.2.6 Dénombrement	58
4.1.2.7 Microcystines.....	58
4.1.3. Ecart entre le protocole initial et les données collectées.....	60
4.2. Discussion des résultats.....	60
4.2.1. Echantillonnage	60
4.2.1.1 La fréquence	60
4.2.1.2 Les modalités de prélèvements	61
4.2.2. Dénombrement.....	62
4.2.3. Analyse des toxines	63
4.3. Principaux enseignements de cette étude	63
4.3.1. Au regard des proliférations de cyanobactéries.....	63
4.3.1.1 Diversité des sites	63
4.3.1.2 Caractéristiques des plans d'eau.....	64
4.3.1.3 Observation de l'eau.....	64
4.3.1.4 Teneurs en chlorophylle a et en nutriments	64
4.3.1.5 Influence des conditions météorologiques	65
4.3.2. Au regard des productions de microcystines.....	65
4.3.2.1 Lien avec les cyanobactéries	65
4.3.2.2 Teneur en chlorophylle a et en nutriments	68
4.3.2.3 Influence des conditions météorologiques	68
5. <u>Perspectives</u>	69
5.1. Cadre de la réflexion prospective	69
5.1.1. Proposition d'un protocole de suivi sanitaire des sites.....	69
5.1.1.1 Meilleure connaissance écologique des sites.....	69
5.1.1.2 Proposition d'un protocole de suivi	71
5.1.2. Proposition d'études scientifiques visant à consolider les résultats.....	75
6. <u>Conclusions</u>	76
Bibliographie	79

RESUME

L'étude réalisée en 2002 dans le Grand Ouest est née d'une volonté partagée par les services santé-environnement des DDASS des 3 régions pour, d'une part définir une stratégie d'exploitation commune des résultats des contrôles sanitaires et d'autre part, tenter de mieux appréhender les phénomènes observés de développement brutal d'algues.

Pour ce faire, 26 plans d'eau ont été sélectionnés et ont fait l'objet de contrôles rapprochés selon un protocole précis.

I. RESULTATS DES MESURES DES CONCENTRATIONS EN ALGUES ET TOXINES

Le premier objectif de l'étude a été d'évaluer les concentrations en algues et toxines observées durant l'été 2002 pour chacun des sites.

Les résultats de ce suivi (détermination et quantification des algues – concentration en toxines) ont confirmé l'importance de ce problème de développement des algues toxiques :

- 1) Les cyanobactéries sont identifiées sur tous les sites.
- 2) La présence des cyanobactéries est stochastique.
- 3) Toute la période d'étude, c'est-à-dire de mai à novembre, a montré une forte colonisation des cyanobactéries.
- 4) Les genres les plus fréquemment rencontrés sont par ordre décroissant : *Planktothrix*, *Anabaena*, *Microcystis* et *Aphanizomenon*.
- 5) Un seul plan d'eau servant à la baignade s'est maintenu tout au long de l'étude au-dessous du seuil de 20 000 cellules de cyanobactéries (plan d'eau de la Gemerie à Arnage –72).
- 6) 69 % des plans d'eau ont été au moins 1 fois au-dessus du seuil de 100 000 cellules de cyanobactéries par ml.
- 7) plus de 50 % des échantillons analysés présentent des teneurs en microcystines supérieures à 0,25 µg/l.
- 8) 7 % de ces résultats supérieurs à 0,25 µg/l sont compris entre 10 et 25 µg/l. Un seul dépasse 25 µg/l (51 µg/l). Une analyse faite sur une accumulation a confirmé le risque majeur de ces écumes (730 µg/l).
- 9) Sur 13 des plans d'eau servant à la production d'eau potable, 12 d'entre eux ont été exposés à la production de microcystines.
- 10) Il n'a été détecté aucune trace de microcystines dans les eaux traitées (détection limite de 0,16 et 0,05 µg/l).
- 11) Certains milieux très riches d'une espèce non productrice de microcystines peuvent renfermer des toxines en raison de la présence d'une algue minoritaire.

12) Il est possible, au vu des résultats, de classer les sites en 3 grandes catégories :

- Le premier groupe à risque fort où se retrouvent 10 sites, pour moitié utilisés pour des activités récréatives et pour l'autre réservés à l'alimentation en eau potable.
Pour 8 sites dont 5 classés à risque fort, les valeurs maximales sont situées entre 1 et 5 millions de cellules/ml.
- Un deuxième groupe où le nombre de cellules de cyanobactéries a dépassé 100 000/ml mais où la moyenne se situe plutôt entre 20 000 et 100 000 pendant la période d'analyse (8 sites).
- Un dernier groupe où le dépassement des 20 000 cellules est peu fréquent, avec une moyenne entre 2 000 et 20 000 cellules de cyanobactéries/ml. Cette dernière série rassemble les sites au nombre de 8 pouvant être considérés comme les moins à risque.

13) La gestion des résultats des contrôles a donné lieu à 7 restrictions d'activités nautiques ou baignade pour les 12 sites à usage de loisirs nautiques.

14) L'utilisation d'algicide a par ailleurs été constatée sur 3 sites.

II. ANALYSE DES DONNEES

Le second objectif de l'étude, à savoir évaluer les causes du développement de ces algues, a été étudié grâce à une exploitation de l'ensemble des résultats et non plus site par site.

Cette exploitation statistique, même si elle a été rendue délicate en raison d'un manque d'homogénéité au départ de la base de données, a néanmoins permis de tirer des enseignements intéressants et fiables d'un point de vue statistique dès lors que n'ont été retenus que les sites pour lesquels les informations existaient.

Les enseignements tirés de cette exploitation sont les suivants :

- 1) Plus la biomasse exprimée en chlorophylle *a* est élevée, plus celle des cyanobactéries l'est aussi.
- 2) La concordance entre les teneurs en microcystines équivalents LR et celle des cyanobactéries n'est pas systématique pour les sites les moins productifs en cyanobactéries. Par contre, pour les sites riches en cyanobactéries, les teneurs en microcystines LR sont toujours élevées.
- 3) Le volume et l'âge du plan d'eau ont une influence sur le développement des cyanobactéries :
 - à un volume élevé (supérieur 1 800 000 m³) correspond une faible production de cyanobactéries.
 - Un plan d'eau récent, c'est-à-dire mis en eau depuis moins de 30 ans, a moins de risque de connaître un développement de cyanobactéries. L'envasement important, source de remobilisation de nutriments, peut sans doute expliquer cette observation statistique.

- 4) Les conditions météo sont corrélées tant avec le développement des cyanobactéries qu'avec la quantité de toxines produites. En terme de prévision d'apparition d'efflorescence, seuls les paramètres météo semblent avoir du sens.

La production de cyanobactéries est significativement plus importante pour des températures élevées pendant 3 à 10 jours, liées à un ensoleillement élevé durant cette période. Il en est de même pour la production de toxines. De manière plus précise, il apparaît que la production de microcystines est plus forte lorsque :

- La température minimale de l'air du jour est supérieure à 11° C.
 - Les températures minimales de l'air cumulées sur les 6 jours précédant le prélèvement sont supérieures à 70° C.
 - Les températures maximales de l'air cumulées sur 3 jours avant le prélèvement sont supérieures à 64° C et à 130° C sur 6 jours.
 - Le rayonnement global cumulé sur 2 jours avant le prélèvement est supérieur à 2 835 joules/cm² et à 4 628 joules/cm² sur 3 jours.
- 5) Les mêmes tendances se dégagent lorsque ce sont les valeurs de microcystines équivalentes LR qui sont introduites dans les tests.
- 6) Ni les vents (intensité et directions), ni les pluies ne semblent influencer les valeurs de toxines mesurées dans les échantillons prélevés au cours de cette étude.
- 7) Les paramètres physico-chimiques sont plus difficiles à utiliser en terme de gestion des risques :
- les teneurs en chlorophylle a en particulier sont bien corrélées aux teneurs en cyanobactéries. Toutefois, il est intéressant de noter que les valeurs consignées figurant dans les recommandations de l'OMS sont très inférieures à ce qui a été observé durant l'étude.

Nbre de cellules de cyanobactéries observées/ml	Teneur en chlorophylle a attendue à partir de cette étude (µg/l)	Valeurs d'équivalence en chlorophylle a des recommandations OMS (µg/l)
200	7,3	0,1
2 000	17,4	1,0
20 000	41,4	10,0
100 000	75,8	50,0
1 000 000	180,1	-

Le seuil des 20 000 cellules de cyanobactéries par ml d'eau serait atteint lorsque la chlorophylle atteint 40 µg/l.

- 8) La présence de cyanobactéries est également corrélée de façon significative à un niveau fort de phosphore total.
- 9) L'approche faite sur 9 sites d'une corrélation entre les formes de l'azote et les concentrations en microcystines équivalent LR, a mis en évidence une corrélation tendant à montrer que lorsqu'il y avait plus d'azote Kjeldhal que de nitrates (rapport nettement supérieur à 1), il y avait moins de microcystines équivalent LR et inversement. Cette affirmation, reprise par

différents scientifiques, devra faire l'objet de compléments d'études dans la mesure où les données étudiées lors de l'étude ont concerné un nombre de sites réduit.

- 10) Les études statistiques ont également confirmé que plus le niveau de transparence de l'eau était faible, plus il y avait de cellules de cyanobactéries.

III. DESCRIPTION ECOLOGIQUE DES SITES

Le dernier volet de l'étude s'est attaché à partir des résultats statistiques, à conforter les enseignements tirés de cette analyse statistique à partir d'une approche écologique des sites classés par familles en fonction des concentrations algales observées.

Cet examen permet de tirer les enseignements suivants :

- 1) Les sites connaissent une succession algale propre à chacun des sites.
- 2) L'installation des algues vertes (Chlorophycées) va, dans certaines conditions, être suivie de celle des cyanobactéries dès lors notamment que les conditions de développement de ces algues vertes vont être pénalisées notamment par une diminution de l'azote et de la lumière dans les plans d'eau. Les cyanobactéries, *Planktothrix Agardhii* notamment, présents sur plusieurs sites s'adaptent bien aux milieux turbides et peu lumineux.
- 3) Dans les milieux peu profonds, déstratifiés, soumis aux vents, l'azote et le phosphore peuvent être relargués par les sédiments assurant ainsi les besoins de ces algues. Dès que ces cyanobactéries peu exigeantes en lumière et nutriments vont s'installer, elles vont se développer au détriment des autres.
- 4) Le site dont la teneur en phosphore est la plus faible de tous les sites (moyenne de 0,006 mg/l de phosphore) a une teneur en biomasse algale très modeste : milieu mésotrophe, légèrement brassé et bénéficiant d'une bonne pénétration de la lumière.
- 5) Il est important de pouvoir disposer à la fois d'une bonne connaissance des milieux (morphologie, caractéristiques des plans d'eau) mais aussi de disposer d'informations rapprochées quant à l'évolution des caractéristiques environnementales (météo, physico-chimie, peuplement).
- 6) En l'absence de prolifération et d'écumes visibles en surface, le milieu peut être riche en cyanobactéries de même qu'après une explosion algale, les toxines peuvent se maintenir plusieurs semaines dans le milieu.



**Principales espèces de cyanobactéries
mises en évidence dans le cadre de cette étude
Photos Luc Brient - Université de Rennes I**



Photo 1 *Microcystis wesenbergii*



photo 2 *Microcystis aeruginosa*

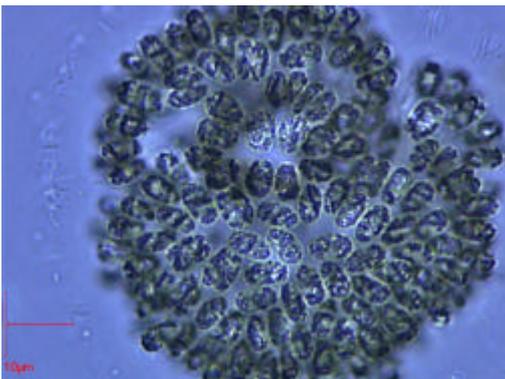


photo 3 *Woronichinia naegeliana*

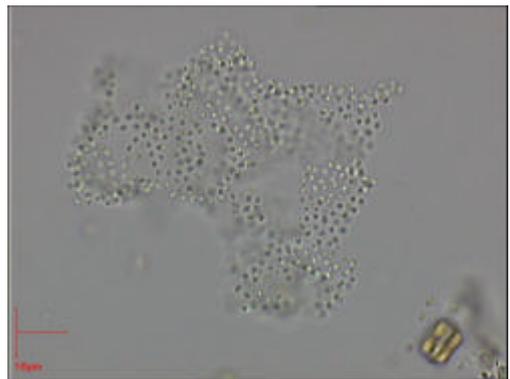


photo 4 *Aphanocapsa*



photo 5 *Coelomoron pusillum*

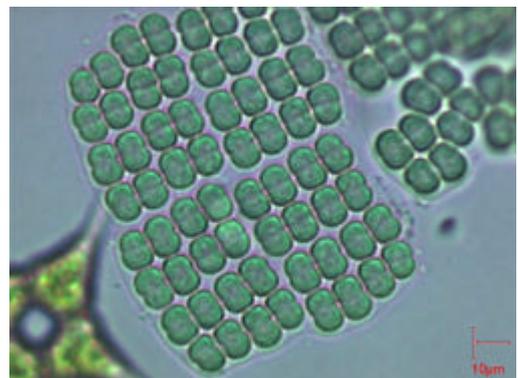


photo 6 *Merismopedia*

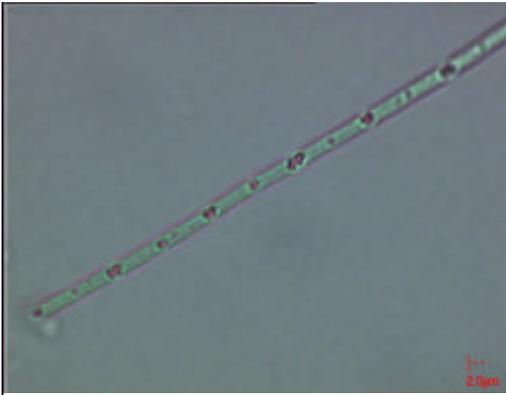


photo 7 *Limnothrix redeckeii*

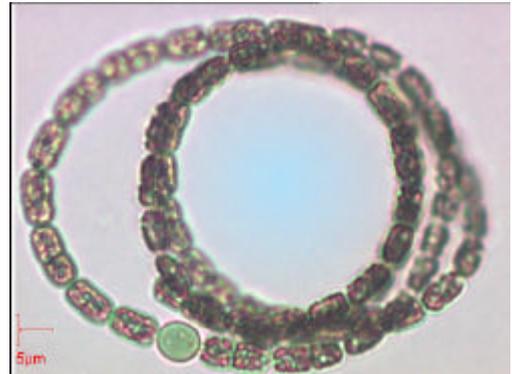


photo 8 *Anabaena flos aquae*



photo 9 Différentes espèces d'*Anabaena*

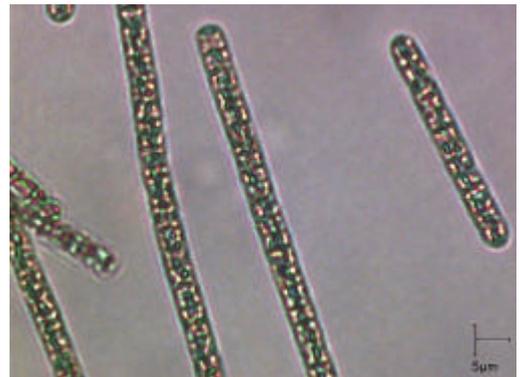


photo 10 *Planktothrix agardhii*



photo 11 *Oscillatoria*

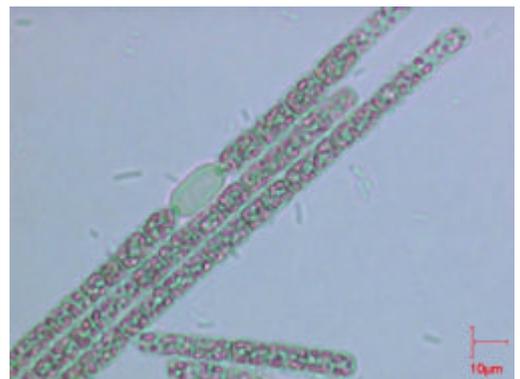


photo 12 *Aphanizomenon flos aquae*

1. PREAMBULE – RAPPEL DU CONTEXTE

La prolifération d'algues en eau douce est une préoccupation des services Santé-Environnement des Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales. Si l'existence des micro-algues est connue depuis longtemps, leur fréquence d'apparition et leur volume ont considérablement augmenté au cours de ces dernières années.

Cette conséquence induite en particulier par l'excès de rejets riches en nitrate et phosphore, a été mise en évidence depuis le début des années 1990 par le laboratoire d'Evolution des Systèmes Naturels et Modifiés de l'Université de Rennes I (Pr. G. BERTRU et J.C. LEFEUVRE), et revêt aujourd'hui une importance croissante par la mise en évidence des toxines produites par les cyanobactéries appelées autrefois algues bleues.

Plusieurs départements du Grand Ouest confrontés à cette réalité ont été amenés à gérer localement des situations nécessitant la prise de décisions sanitaires, notamment sur des plans d'eau à usage de baignade.

Les niveaux guides et les préconisations rédigées pour le compte de l'Organisation Mondiale de la Santé ont été définis par des comptages de cellules, des identifications d'algues et des recherches de toxines le cas échéant et ont servi de bases pour définir la conduite à tenir vis-à-vis de ces efflorescences anormales.

Afin de définir une stratégie d'action concertée et d'éviter, en l'absence de réglementation nationale spécifique, que des positions divergentes soient arrêtées par des départements voisins, il a été décidé de réunir en avril 2001 les départements des trois régions du Grand Ouest : Basse-Normandie, Bretagne et Pays de la Loire. Cette concertation a été animée à son départ en avril 2001 par la DDASS des Côtes d'Armor (G. Sauvaget) puis depuis octobre 2001 par la DDASS de Maine-et-Loire (P. Peigner).

A l'issue de plusieurs réunions d'échange associant les différents départements des trois régions, il a été décidé de réaliser une étude durant l'été 2002 sur différents sites des trois régions à usage d'eau potable, de baignade ou de loisirs nautiques.

Afin de définir le contenu de cette étude, une première étape a comporté la rédaction d'une synthèse bibliographique des données disponibles sur ce phénomène. Cette synthèse a été rédigée par l'UMR Ecologie-Biologie de l'université de Rennes (Luc Briant, Chantal Vézic et Georges Bertru).

Cette synthèse a permis d'élaborer un protocole d'étude qui a été finalisé et adressé en juin 2002 à chacune des 10 DDASS participant à l'étude. Ce protocole figure en annexe.

L'enjeu majeur de l'étude, indépendamment de la réalisation de prélèvements en vue de caractériser les algues et les concentrations en toxines présentes dans les plans d'eau, a été de mettre en œuvre une méthode de suivi identique pour l'ensemble des départements.

Cette méthode a pris en compte notamment les aspects suivants :

- Caractérisation des bassins versants selon une fiche descriptive commune à l'ensemble des sites ;
- Conditions de réalisation des prélèvements : une « formation » des agents préleveurs a notamment été réalisée avant le démarrage de l'étude, à l'initiative des prestataires intervenants (laboratoire Bi-Eau d'Angers et Université de Rennes) ;
- Période de prélèvements : un calendrier précis des fréquences de prélèvement a également été défini avant le démarrage de l'étude ;
- Nature des paramètres suivis : la liste des recherches (algues – toxines – physico-chimie) a également été arrêtée dans le cadre du protocole d'étude ;
- Recueil quotidien d'informations : en complément des informations recueillies lors des prélèvements, il a été décidé de solliciter les exploitants des sites de baignades pour qu'ils fournissent quotidiennement certaines informations portant sur la météo (température, pluie, vent), la transparence, la présence d'écume, la fréquentation des sites, l'utilisation éventuelle d'algicide et la couleur. La caractérisation de la couleur des plans d'eau s'est faite en s'appuyant sur un comparateur fourni à chaque exploitant de baignade.

Au total, ce sont 26 sites (13 à usage de baignade ou d'activités nautiques et 13 à usage d'eau potable) qui ont été intégrés dans l'étude.

La totalité de la réalisation de l'étude a été prise en charge sur les crédits délégués par le ministère de la santé aux services santé-environnement des DDASS. Une délégation spécifique de 121 958 € a été attribuée en début d'année 2002 pour en assurer la réalisation.

La Direction Générale de la Santé a été destinataire du protocole d'étude avant sa réalisation. Une présentation en a été faite au Sous-Directeur de la gestion des risques des milieux lors de sa venue à Nantes en juin 2002.

Le déroulement de l'étude s'est effectué dans le cadre d'un comité de suivi animé par la DDASS de Maine-et-Loire et associant l'ensemble des DDASS et DRASS concernées ainsi que les partenaires suivants :

- L'ENSP : le département EGERIES de l'Ecole a été associé au déroulement de l'étude. Il a apporté une contribution au niveau du contenu de l'étude ainsi que pour permettre l'exploitation statistique des résultats.
- Le laboratoire Bi-Eau d'Angers et l'université de Rennes qui ont procédé aux comptages et identification des algues ainsi qu'aux analyses de toxines.

L'AFSSA a par ailleurs été tenue informée des travaux menés par le groupe, dans la mesure où à la demande de la Direction Générale de la Santé, elle est actuellement chargée de formuler des avis sanitaires sur ce problème d'algues toxiques dans les eaux douces à usage d'eau potable, de baignade et de loisirs nautiques.

2. METHODOLOGIE

2.1. LES SITES ETUDIES

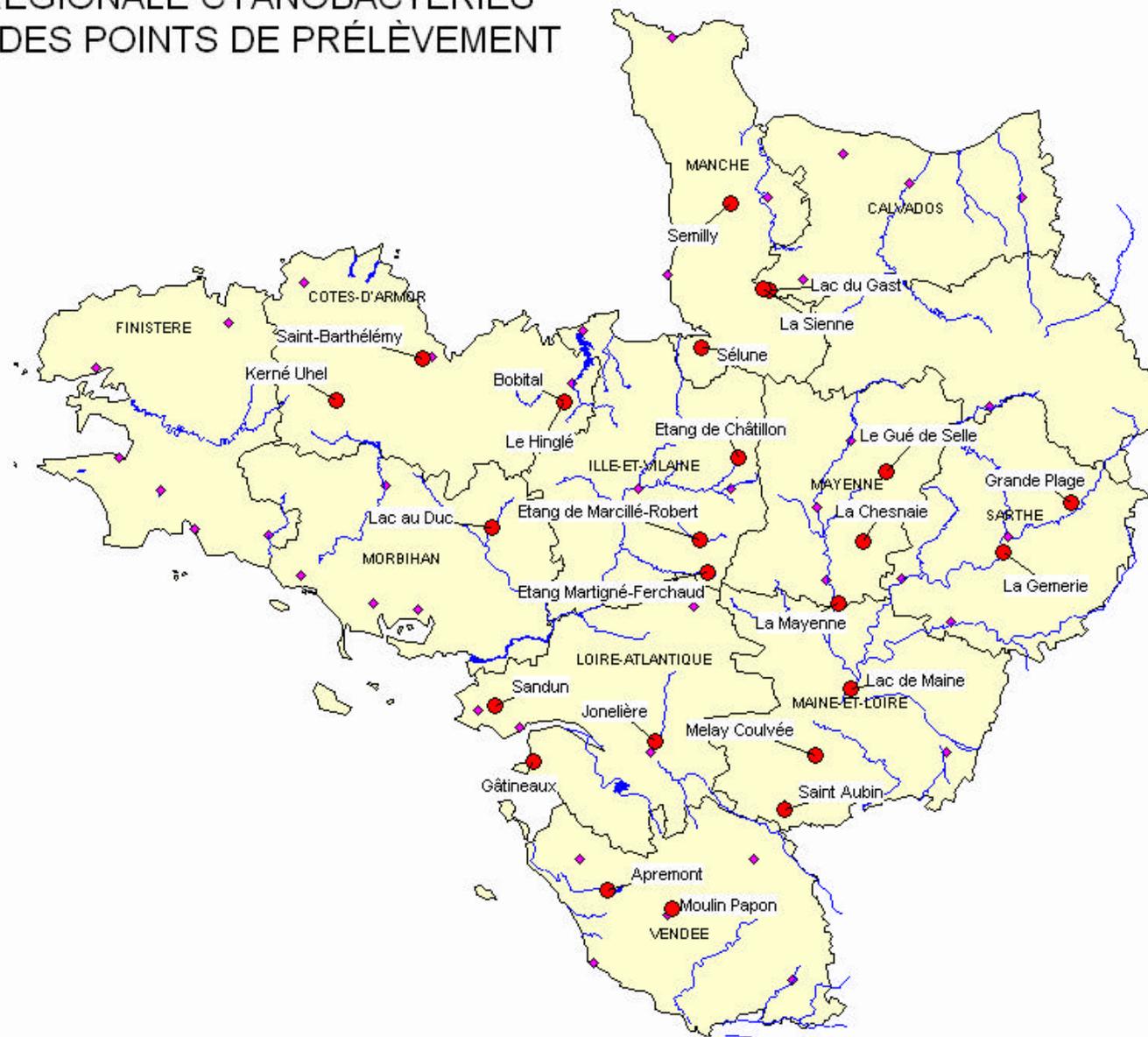
Les sites choisis sont au nombre de 26 et ils figurent dans le tableau ci-dessous.

département	commune	nom du site	usage	laboratoire	Localisation du prélèvement *
14	Le Gast	Retenue du Gast	AEP	Univ-Rennes	
	St Sever	La Sienne	AEP	Univ-Rennes	
22	Lanrivain	Kerné Uhel	AEP	Univ-Rennes	1
	Meaugon	St Barthélémy	AEP	Univ-Rennes	1
	Le Hinglé	Le Hinglé	AEP	Univ-Rennes	1
	Bobital	Bobital	AEP	Univ-Rennes	1
35	Martigné Ferchaud	Etang	Baignade	Univ-Rennes	2
	Marcillé-Robert	Etang	Baignade	Univ-Rennes	2
	Châtillon-en-Vendelais	Etang	Baignade	Univ-Rennes	2
44	St Michel-Chef-Chef	Etang des Gatineaux	AEP	Univ-Rennes	1
	Guérande	Etang de Sandun	AEP	Univ-Rennes	1
	Nantes	L' Erdre (La Jonelière)	Act. nautique	Univ-Rennes	3
49	Angers	Lac de Maine	Baignade	Bi-Eau	2
	Chemillé	Melay Coulvée	Baignade	Bi-Eau	2
	Pouancé	Etang St Aubin	Baignade	Bi-Eau	2
50	St Laurent de Terregatte	Sélune	AEP	Univ-Rennes Univ-Rennes	1
	Saint Lo	Semilly	AEP	Univ-Rennes	1
53	Daon	Rivière la Mayenne	Baignade	Bi-Eau	2
	Mézangers	Etang du Gué de Selle	Baignade	Bi-Eau	2
	St Denis du Maine	Plan d'eau de la Chesnaie	Baignade	Bi-Eau	2
56	Ploërmel	Lac au Duc	AEP	Univ-Rennes	3
	Ploërmel	Lac au Duc	Baignade	Univ-Rennes	3
72	Arnage	Plan d'eau de la Gemerie	Baignade	Bi-Eau	2
	Tuffé	Grande plage	Baignade	Bi-Eau	2
85	Apremont	Barrage d'Apremont	AEP	Bi-Eau	1
	La Roche sur Yon	Retenue de Moulin Papon	AEP	Bi-Eau	1

Tabl. 1 : Récapitulatif des sites étudiés dans l'Ouest en 2002.

- * 1 robinet d'eau brute à l'usine
- 2 prélèvement après homogénéisation
- 3 utilisation d'un tube de prélèvement

ETUDE INTER RÉGIONALE CYANOBACTÉRIES LOCALISATION DES POINTS DE PRÉLÈVEMENT



2.2 LE TERRAIN

Les méthodologies employées sur le terrain avaient été préalablement discutées lors d'une journée de formation avec les partenaires de l'étude, afin d'assurer, autant que possible, une certaine homogénéité. Les prélèvements ont été effectués par les personnels des DDASS.

Pour les eaux de baignade :

Les prélèvements ont été faits dans la zone utilisée pour la baignade, à quelques mètres de la rive en intégrant la couche d'eau 0 à -1 m. Certaines DDASS ont travaillé avec un tube à prélèvement de 1 m et de 5 cm de diamètre, d'autres ont procédé à une simple homogénéisation mécanique (création d'un tourbillon) de la zone d'échantillonnage dans ce premier mètre.

Pour les eaux potables :

Dans le cas des eaux brutes, les échantillons ont été prélevés en général au robinet d'arrivée d'eau dans l'usine. Pour les eaux traitées, le prélèvement a été réalisé en fin de filière de traitement.

De même que pour les baignades, il a été prélevé :

- 1 litre pour les dosages de chlorophylle a et de physico-chimie ;
- 500 ml pour les analyses algales et les recherches de toxines.

Systématiquement, et à des fins de recherche de toxines dans l'eau distribuée, il était également prélevé :

- 125 ml d'eau traitée.

Après avoir séjourné en glacière ou au réfrigérateur, tous les flacons étaient envoyés le jour même des échantillonnages par courrier rapide aux laboratoires destinataires.

2.3. LE LABORATOIRE

2.3.1. Les analyses algales

Les échantillons d'algues étaient traités à leur arrivée, suivant les méthodologies appliquées dans le laboratoire :

A Bi-Eau :

Dès la réception de l'échantillon, un volume précis de l'échantillon (micropipette Gilson) est mis à sédimenter en cuve à fond transparent (de 0.001 à 5 ml) avec une goutte de lugol. Une fois le matériel algal sédimenté (de quelques heures à une journée), le comptage est effectué au microscope à inversion (méthode Utermöhl, 1958). Un total de 150 à 200 individus est dénombré, en général par l'observation de 15 à 30 champs optiques, et notés sur une feuille de comptage préalablement établie.

Le comptage est saisi sur Excel, dans une macro-commande spécifique, permettant d'établir un tableau (incrémenté au fur et à mesure des comptages) présentant par catégorie le nombre de cellules par millilitre. En fonction de la quantité de Cyanobactéries présentes, on détermine si les seuils définis par l'OMS sont dépassés ou non. Dans le premier cas, un sous-échantillon de l'eau brute (ainsi qu'un de l'eau traitée, dans le cas des eaux potables) est envoyé à l'Université de Rennes pour dosage de toxines.

A l'Université de Rennes :

Le comptage des algues est réalisé au moyen d'une cellule de Nageotte dont le volume intérieur est de 50 μ l. Si moins de 30 cellules sont estimées sur l'ensemble de la cellule, 100 ml de l'échantillon sont concentrés sur un filtre en polycarbonate de 3 μ m. Le volume compté après concentration correspond à un volume brut de 5 ml.

Notons que ces deux laboratoires s'étaient préalablement concertés sur une feuille de comptage « type », qui détaille les différents taxons de Cyanobactéries (potentiellement toxiques ou non) et qui reprend les principaux genres des autres classes constitutives du peuplement phytoplanctonique (Chlorophycées, Diatomophycées,...).

Les tableaux exhaustifs issus de ces comptages sont présentés par site, en annexe. Ils ont progressivement été envoyés aux DDASS respectives, dans les 48 heures suivant la réception des échantillons, en incrémentant les dates, ce qui permettait d'avoir à chaque fois le récapitulatif de la campagne.

En annexe de ce document sont présentées des fiches par station, avec notamment les concentrations globales :

- teneur en chlorophylle a en μ g/l
- total cellules de Cyanobactéries/ml
- total de cellules/ml
- microcystines en μ g/l

2.3.2. Les analyses de toxines

Deux techniques sont utilisées par le laboratoire de l'Université de Rennes I :

Le test ELISA :

Le kit utilisé sous forme de plaque à 96 puits provient de la société Envirologix inc. (U.S.A.) et est commercialisé en France par ABC biokits. La gamme de quantification est comprise entre 0.16 et 2.5 μ g/l pour les premiers tests et entre 0.05 et 0.83 μ g/l pour les derniers.

A partir de la structure ADDA (acide aminé trouvé dans toutes les molécules de microcystines) deux antigènes produisent des anticorps spécifiques permettant de développer un procédé indirect d'analyse ELISA. Sa limite de détection est de 50 ng/l (0.05 µg/l) soit 20 fois au-dessous du seuil admissible fixé par les eaux potables par le décret du 21 décembre 2001. Dans le cadre de l'étude, cette technique n'a été utilisée que sur les eaux traitées, sans extraction ni concentration préalable de l'échantillon. L'expression de son résultat est exprimée en équivalent de microcystine LR par µg/l.

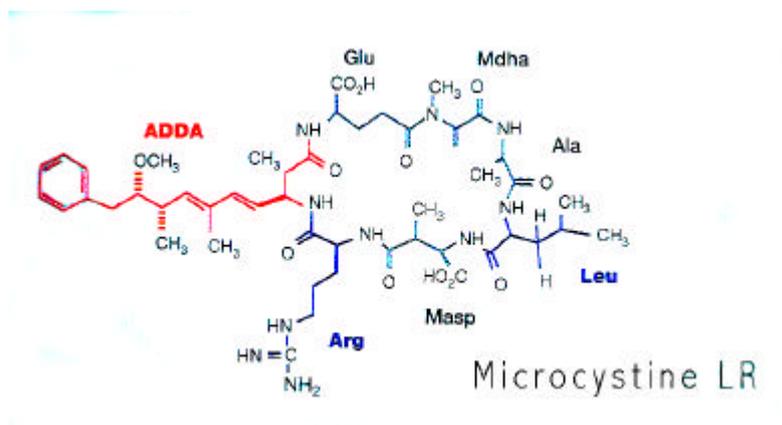


Fig. 1 : Molécule de microcystine LR

Toutes les eaux traitées sont analysées en duplicata, en intégrant à chaque série d'analyse un contrôle et un standard à trois concentrations. Après arrêt de la coloration en jaune par acidification, les puits sont analysés par un lecteur de micro-plaques aux deux longueurs d'onde 450 et 650 nm. Les concentrations des échantillons sont calculées à partir de la courbe semi-logarithmique.

La méthode chimique :

Elle est employée sur les eaux brutes, et réalisée par HPLC en phase inverse (méthode d'Harada & al., 1996). Sa limite de détection est de 50 µg/l sur un échantillon non concentré.

La mise en évidence des microcystines se fait au moyen d'un détecteur UV avec un balayage entre 200 et 300 nm. Il permet d'obtenir un spectre en référence au standard de la microcystine LR avec son pic caractéristique à 238 nm. Les temps de rétention des pics des échantillons singularisent les molécules commercialisées.

Un volume d'eau compris entre 125 et 500 ml pour la plupart des échantillons est filtré sur filtre de verre type GF/C (porosité 1,2 µm). Le filtre est broyé, placé dans un microtube pour extraction dans 1 ml de méthanol à 80 % et maintenu au maximum 48 h à 4°C jusqu'à l'analyse. Les extraits sont centrifugés à 10 000 tours par minute pour éliminer les débris et un volume de 20 µl du surnageant est injecté dans la chaîne analytique. Le système HPLC est un modèle Spectra-physics 8000 qui utilise une colonne en phase inversée Microsphère C₁₈ (longueur 100 mm, diamètre 4,6 mm, Chrompack, Middelburg, Pays-Bas). La phase mobile est constituée d'acétonitrile et d'acétate d'ammonium 10 mM (26/74, en volume) en isocratique avec un débit de 1ml par minute.

Expression des résultats :

La quantité de toxine présente dans l'échantillon est déterminée en comparant la surface des pics à la surface du pic obtenue avec le standard de la microcystine LR ramené au volume filtré. Les résultats de l'analyse des microcystines donnent la concentration intracellulaire de microcystine LR en $\mu\text{g/l}$ lorsque cette hépatotoxine est présente et la concentration « totale » de microcystines intracellulaires en $\mu\text{g/l}$ d'équivalent microcystine LR lorsque plusieurs pics de microcystines sont observés. Généralement trois à cinq pics ont été identifiés dans les échantillons analysés lors de cette étude. La microcystine RR est la plus fréquente des microcystines dans les échantillons après la LR.

Les tableaux de résultats envoyés font apparaître différents sigles ou intitulés :

- « - » : échantillon non testé
- « **ND** » : échantillon analysé mais absence de pics par rapport au volume filtré (entre 0.125 et 0.5 l).
- **résultats en $\mu\text{g/l}$ de « Microcystine LR »** : quantification de cette molécule par rapport au spectre et temps de rétention. Fait état de la présence réelle.
- **résultats en $\mu\text{g/l}$ d' «Equivalent Microcystine LR $\mu\text{g/l}$ »** : correspond à la somme de tous les pics (y compris celui de la LR) par rapport au spectre et aux différents temps de rétention des standards.

2.3.3. Les analyses physico-chimiques

Les 10 sites suivis par Bi-Eau ont vu leurs analyses de chlorophylle *a* et de physico-chimie (nitrates et orthophosphates) confiées au Laboratoire Départemental d'Hydrologie d'Angers.

Au laboratoire de l'Université de Rennes I, les analyses de la chlorophylle *a* sont réalisées après extraction à l'acétone à 90 % sur un volume d'échantillon de 250 ml et exprimées selon les équations trichromatiques de Scor Unesco.

2.4. MODALITES DE RECUEIL DES DONNEES

Afin de disposer des mêmes informations pour l'ensemble des sites, différentes fiches de saisie ont été réalisées et fournies aux différents intervenants.

Il s'agissait des fiches de relevé d'information quotidienne destinées aux exploitants de ces sites et des fiches de prélèvement pour les agents des DDASS.

Une fiche de caractérisation des bassins versants a complété l'information recueillie sur les différents sites.

Ces fiches sont présentées ci-après.

FICHE DE SUIVI QUOTIDIEN DES PLANS D'EAU (Baignade - Loisirs - Eau Potable)

SITE :

Mois :

Date	Conditions météo					EAU								Fréquentation	Plaintes	Observations	
	Température		Pluie	Vent	Météo	Transparence cm	Température de l'eau	Couleur	Ecume en surface	Utilisation d'un algicide	Oxygène dissous		pH				
	10 H	16H									10 h	16 h	10 h				16 h
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	
15																	

4. descriptif du bassin versant

occupation du sol : urbanisation : forte faible Moyenne
superficie :ha Agricole : Grandes cultures élevages nombre UGBN
autres :
Agglomérations : nombre : population :hbts nombre de stations d'épuration :
rejets d'eaux usées sur le plan d'eau : pluviaux Drains marais zone humide
rejets industriels : nature :
noms des cours d'eau :

5. données existantes sur la qualité

sur le plan d'eau : *suivi chimique* : nature : fréquence :
suivi des cyanophycées : nature : fréquence :
sur les cours d'eau en amont : nature : fréquence :

6. estimation du risque cyanophycées par la Ddass

blooms alguaux déjà mis en évidence : NON OUI
si oui, quels mois : et depuis quelle année :
si algues toxiques : microcystine > 10 µg/l < 10 µg/l algues non toxiques absence de recherche
symptômes sur les humains après baignade Nature..... Date.....
mortalité : de poissons d'oiseaux de rongeurs autres Date.....
estimation du plan d'eau : à risque faible risque fort risque sans risque

7. commentaires



RECHERCHE DE CYANOBACTERIES DANS LES PLANS D'EAU

FICHE DE PRELEVEMENT

Nom du plan d'eau :

Date du PLV : Heure : Commune :

Date du dépôt de l'échantillon au laboratoire :

Usage : Récréatif Eau potable

Fréquentation au moment du prélèvement :

Météo du jour : Soleil - Couvert - Nuage - Averse - Pluie - Orage - Tempête

Météo de la veille : Soleil - Couvert - Nuage - Averse - Pluie - Orage - Tempête

Si fortes précipitations les jours précédents, hauteur en mm et durée estimée (source METEO FRANCE) :

.....
Température AIR : EAU :
pH : Transparence en cm (Disque de Secchi) :

PHYTOPLANCTON

Présence Faible Moyenne Forte

Changement anormal de coloration de l'eau : OUI NON Couleur du disque :

Si oui préciser la localisation et la description de la nappe (étendue, couleur,.....).

OBSERVATIONS

(Affichage sur le site, personne rencontrée, fiche d'observation quotidienne tenue à jour, observations diverses,)

.....
.....
.....
.....

Visite effectuée par :

3. RESULTATS

3.1 ANALYSE GLOBALE DES DONNEES

3.1.1 Objectifs de l'analyse statistique

Cette étude multi-centrique avait à l'origine pour objectif principal de tenter de mettre en évidence des facteurs ou des paramètres descripteurs de l'environnement qui aideraient à la gestion sanitaire des plans d'eau soumis au risque de voir se développer des cyanobactéries toxiques.

Cet objectif pouvait se décliner en trois sous-objectifs :

- tenter de mettre en lien une typologie particulière du plan d'eau (bassin versant, contexte climatique, âge et géométrie du plan d'eau) avec une plus grande probabilité de voir s'y développer des efflorescences à cyanobactéries ;
- tenter de faire le lien entre des paramètres de l'environnement (présence de nutriments dans les eaux, successions algales, température, pH, ensoleillement, ...) et le moment d'apparition des efflorescences à cyanobactéries ;
- tenter de mettre en relation la présence de certaines espèces algales et le niveau de microcystines mesuré.

3.1.2 Analyse des données

3.1.2.1 Matériel

La base de données constituée à l'issue de cette étude comporte 13 variables algales, 5 variables bassin versant, 8 variables météorologiques, 11 variables qualité des eaux et 4 variables qualitatives supplémentaires, soit 37 variables quantitatives et 41 variables au total. Ceci, théoriquement, pour les 26 points et à raison d'un prélèvement tous les 15 jours, plus des prélèvements rapprochés en cas de prolifération algale.

Un premier travail a consisté à collecter toutes ces données, soit manuellement à partir de fiches papier, soit par récupération de fichiers informatiques.

La seconde étape, indispensable, a consisté à valider la base ainsi obtenue : vérification et compléments après relance lorsque cela était possible.

Le travail d'analyse statistique proprement dit a alors pu être réalisé.

3.1.2.2 Méthode

La grande hétérogénéité des variables, dans le temps, dans leur nature, dans leur précision, dans leur complétude sur l'ensemble des sites, a conduit à privilégier les outils d'analyse statistique non paramétrique et à multiplier les analyses de manière à conserver un maximum des informations produites. De plus, seuls les 21 points les mieux renseignés (sur les 26 totaux - tableau 3.1-1) ont été inclus dans l'étude.

Parmi les sites destinés à l'AEP, certains ont fait l'objet de deux points de prélèvements. Pour la suite de l'analyse, seul l'un de ces deux points a été sélectionné, sur la base de sa représentativité au regard de l'usage de l'eau : il s'agit de Le Gast (point « restitution »), Guérande (point « tour d'exhaure ») et de Saint-Michel Chef Chef (point « tour »).

Tableau 3.1-1 : Présentation des 26 points de mesure dans cette étude.

Identifiant	Nom de la commune du site	Nombre de prélèvements	Traitement algicide connu
141	Le Gast	n=19	
142	Saint Sever	n=12	
221	Bobital	n=13	
222	Le Hinglé	n=13	
223	La Méaugon	n=11	oui
224	Lanrivain	n=15	oui
351	Chatillon en Vendelais	n=12	
352	Marcillé Robert	n=12	
353	Martigné Ferchaud	n=10	
441	Guérande	n=7	
442	Nantes	n=13	
443	Saint Michel Chef Chef	n=5	
491	Angers	n=13	
492	Chemillé	n=12	
493	Pouancé	n=12	
501	Saint Laurent de Terregatte	n=18	
502	Saint Lô	n=17	
531	Daon	n=12	
532	Mézangers	n=12	
533	Saint Denis du Maine	n=12	
561	Ploermël aep	n=20	oui
562	Ploermël bain	n=6	oui
721	Arnage	n=12	
722	Tuffé	n=9	
851	Apremont	n=13	
852	La Roche sur Yon	n=13	

Dans un premier temps, chaque site a fait l'objet d'une analyse descriptive pour la variable à expliquer, les cyanobactéries, en utilisant la technique des « box plot ».

Dans un second temps, les variables susceptibles d'expliquer les valeurs en cyanobactéries observées ont été testées. Pour ce faire, deux techniques ont été utilisées (leur description méthodologique figure dans le rapport de Melle Gaudemer, joint en annexe).

Une ACP (Analyses en Composantes Principales) a été réalisée sur 10 sites, correspondant à 117 prélèvements : Angers, Chemillé, Pouancé, Saint-Lô, Saint-Laurent de Terregate, Daon, Mézangers, Saint-Denis du Maine, Arnage, Tuffé. Les variables qualitatives étaient les suivantes : embranchements et classes d'algues, chlorophylle a, température de l'eau et phosphore total. Ce type de méthode statistique ne permet d'utiliser que des variables quantitatives.

C'est pourquoi, à la suite de cette ACP, pour inclure les variables qualitatives ou semi-quantitatives, des ACM (Analyses en Correspondances Multiples) ont été réalisées. Pour cela, les variables quantitatives ont été transformées en variables qualitatives à partir des tertiles, sur plusieurs jeux de données :

- une première fois sur ces mêmes 10 sites: embranchement et classes d'algues, chlorophylle a, azote Kjeldhal, phosphore total, nitrates, température de l'eau, et en variables illustratives la transparence, la profondeur moyenne et la profondeur maximale ;
- une seconde fois, sur 11 sites correspondant à 131 prélèvements : Le Gast, Châtillon en Vendelais, Marcillé Robert, Martigné Ferchaud, Nantes, Angers, Saint-Lô, Saint-Laurent de Terregate, Daon, Mézangers, Saint-Denis du Maine, pour les variables embranchement et classes d'algues, chlorophylle a, température de l'eau, température de l'air, pH, et transparence en illustratif.

Les détails sur ces analyses et leurs résultats sont présentés dans le rapport de Caroline Gaudemer (2003), joint en annexe, auquel il est possible de se rapporter pour plus de détails ou pour les figures.

A l'issue de ces travaux, les jeux de données ont été repris individuellement et ré-analysés pour affiner certaines conclusions du travail de C. Gaudemer. Cette réflexion complémentaire a surtout porté sur certains descripteurs des plans d'eau qui n'avaient pu être rentrés dans les analyses précédentes, sur l'analyse des différentes espèces de cyanobactéries observées et sur les valeurs des teneurs en microcystines associées.

3.1.2.3 Principaux résultats

3.1.2.3.1 *Analyse descriptive des valeurs de cyanobactéries* (figure 3.1.-2, a et b)

Les sites ont été distingués selon leur usage principal : sites destinés aux prélèvements pour AEP et sites destinés aux usages récréatifs (baignade).

Sites AEP

Les sites destinés aux prélèvements pour AEP sont au nombre de 14. Les teneurs les plus fortes sont observées sur les sites de Bobital, Guérande, Saint-Michel Chef Chef, Saint-Laurent de Terregate, Saint-Lô, Ploermel, et Appremont. Le site le plus productif est celui de Guérande.

Certains de ces sites présentent des valeurs relativement constantes en cyanobactéries, d'autres ayant des valeurs beaucoup plus variables : la plus forte dispersion est observée pour les sites de Guérande et de Ploermel. Pour Guérande, cette forte dispersion peut être due au petit nombre de prélèvements réalisé (n=5). Les plus faibles valeurs associées aux plus faibles dispersions sont observées sur les sites de Le Hinglé et de la Roche sur Yon.

Sites baignades et de loisirs nautiques

Ces sites sont au nombre de 12. Les teneurs observées sont en général plus élevées que celles des sites AEP. Les valeurs les plus fortes sont observées pour les sites de Marcillé Robert, de Martigné Ferchaud, de Nantes et de Saint-Denis du Maine. Les valeurs les plus dispersées sont observées pour les trois premiers de ces sites. Ceux ayant présenté les plus faibles valeurs médianes et les valeurs les moins dispersées de cyanobactéries sont Daon et Tuffé.

Le classement des sites en tenant compte à la fois des valeurs maximales et des médianes permet de compléter cette description (tableau 3.1-2).

Tableau 3.1-2: Classement des points de prélèvement à partir des valeurs médianes et maximales en cyanobactéries observées ; **(entre parenthèses, le rappel du nombre de prélèvements effectués et de l'usage de l'eau (AEP ou B)).**

Médiane < 10 000 cell./mL et maximum < 100 000 cell./mL	Médiane > 100 000 cell./mL et maximum > 10 ⁶ cell./mL
La Méaugon (11 ; AEP)	Guérande (7 ; AEP)
Arnage (12 ; B)	Saint-Denis du Maine (12 ; B)
Daon (12 ; B)	Marcillé Robert (12 ; B)
Le Hinglé (13 ; AEP)	Martigné Ferchaud (10 ; B)
Lanrivain (15 ; AEP)	Nantes (13 ; B)
Saint-Sever (12 ; AEP)	
Tuffé (9 ; B)	

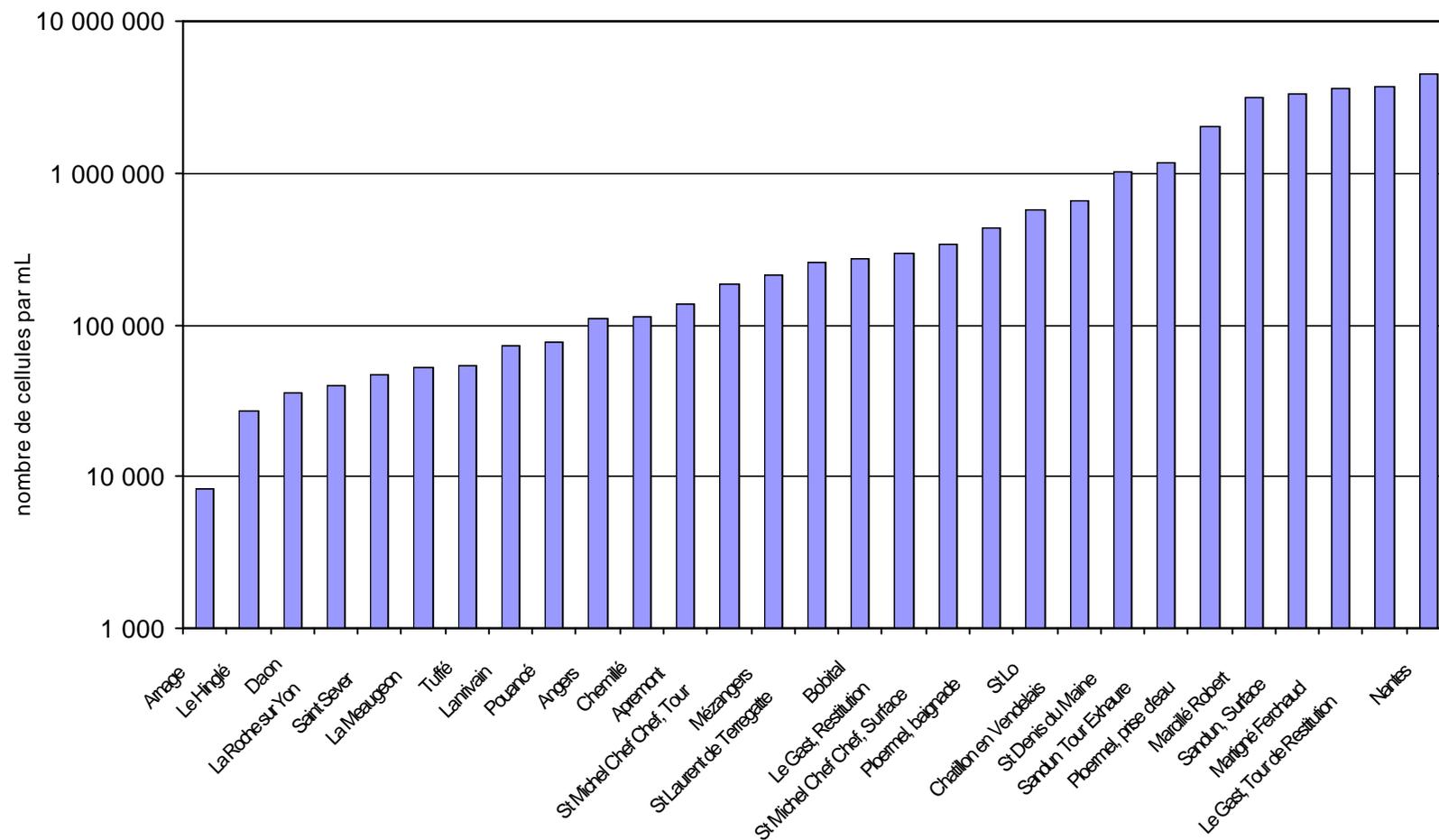


Figure 3.1-2 a : Valeurs maximales en cyanobactéries observées pour chacun des points de prélèvement.

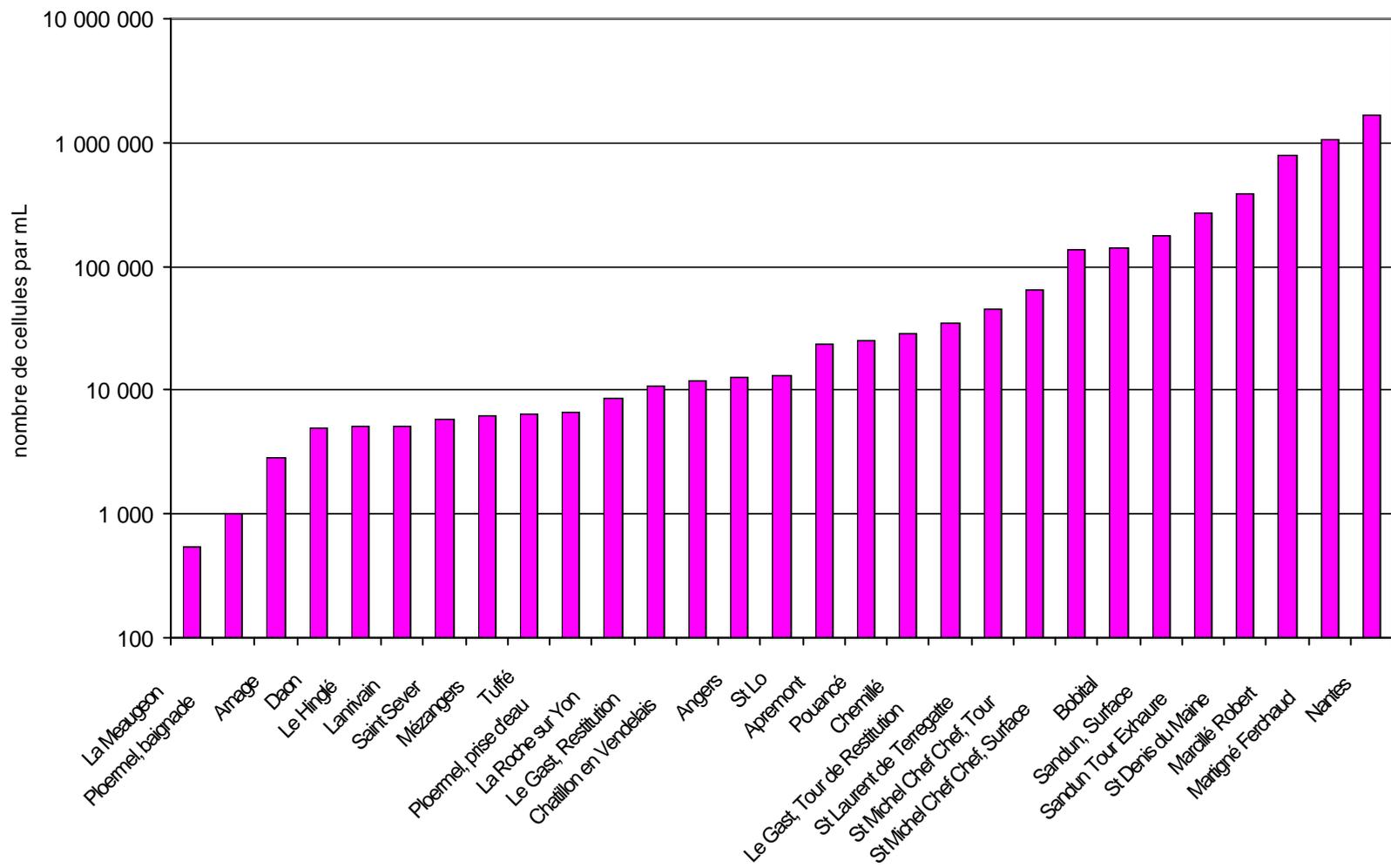


Figure 3.1-2 b : Valeurs médianes en cyanobactéries observées pour chacun des points de prélèvements.

Les sites les moins propices au développement de cyanobactéries sont plutôt des sites destinés à la production d'eau potable, alors que les sites destinés à la baignade présentent les plus forts potentiels de prolifération à cyanobactéries.

Le site de Bobital est assez particulier dans la mesure où il présente constamment des valeurs en cyanobactéries élevées (> au seuil des 20 000 cellules par mL) mais qui restent inférieures à 10⁶ cellules par mL.

3.1.2.3.2 **Recherche de relations entre les cyanobactéries et les autres paramètres**

Résultats issus des ACP et ACM

Que l'analyse statistique soit réalisée sur des variables quantitatives ou sur des variables qualitatives, les principales tendances sont conservées.

Les deux axes qui expliquent systématiquement le mieux l'inertie peuvent être traduits de la manière suivante :

- un premier axe correspondant à une diversité algale globale (D),
- un second axe correspondant à une productivité algale globale (P).

Le croisement de ces deux axes permet de définir plusieurs groupes de sites selon qu'ils se projettent plus ou moins près de l'un de ces deux axes, ou à proximité de leur croisement : les sites à faible productivité et faible diversité, les sites à faible productivité mais forte diversité, les sites à forte productivité mais à faible diversité et enfin, les sites à forte productivité et forte diversité (figure 3.1-2, ci-dessous).

Comparaisons des sites

Le tableau 3.1.3 ci-dessous récapitule les associations révélées par les deux ACM. Pour les sites ayant été inclus dans les deux ACM, l'ensemble des informations est repris globalement.

Tableau 3.1.3 : Répartition des sites selon les secteurs déterminés par les axes des ACM et sur lesquels ils se projettent.

P- / D-	P- / D+	Pm / D-	Pm / Dm	Pm / D+	P+ / Dm	P+ / D+
Le Gast	Angers	St-Laurent	St-Lô	Daon	Marcillé	Chemillé
Arnage	Mézangers			St-Denis	Martigné	Pouancé
					Nantes	
					Châtillon	

Les sites pour lesquels la production de cyanobactéries a été très forte sont indiqués en gras, ceux pour lesquels elle a été nettement faible en gras italique et en caractères ordinaires ceux pour lesquels elle a été moyenne.

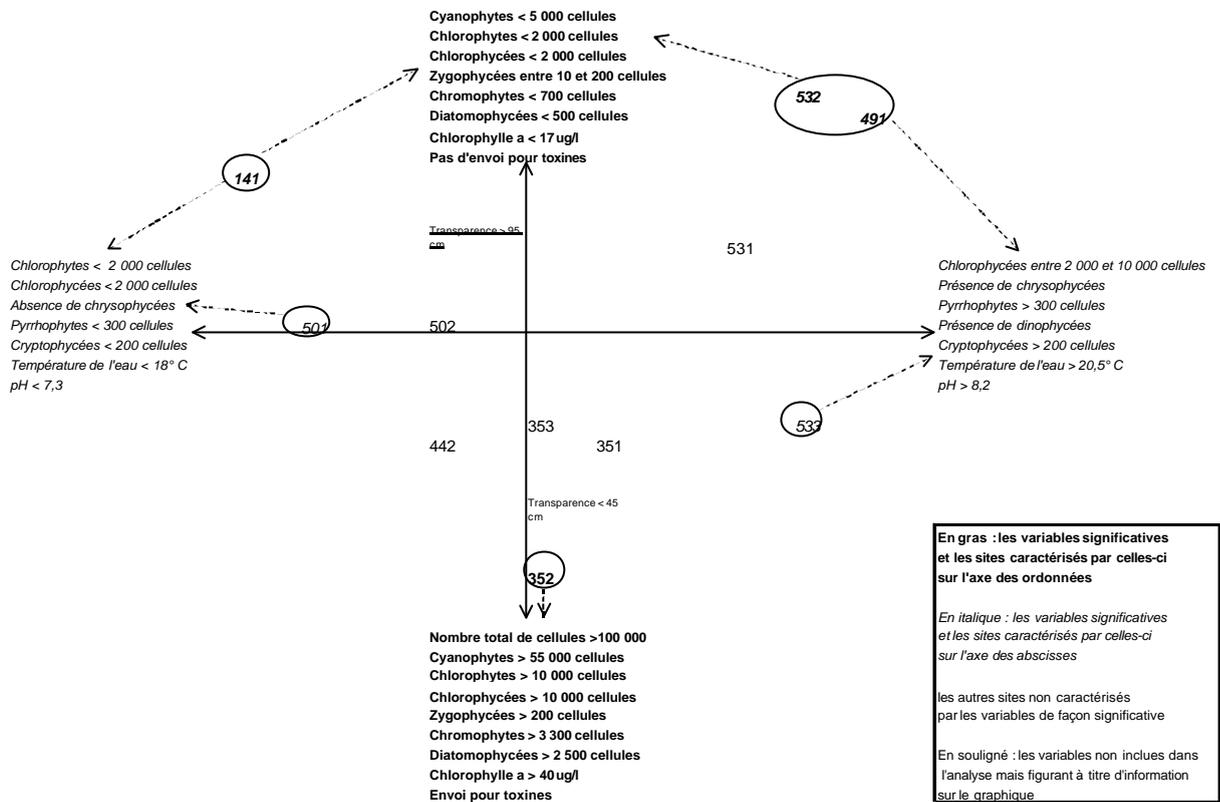


Figure 3.1-2 : Schéma de représentation des résultats de l'ACM réalisée sur 11 sites.

Les sites de Daon et St-Denis du Maine sont particulièrement intéressants, puisqu'ils sont situés dans le même département (donc relativement proches sur le plan géographique), qu'ils appartiennent à la même catégorie de productivité algale totale mais qu'ils ont cependant une productivité de cyanobactéries très différente (Daon : valeur médiane = 4 900 cell./mL et valeur maximale = 35 300 cell./mL ; St-Denis : valeur médiane = 324 850 cell./mL et valeur maximale = 1 027 800 cell./mL).

Le site de Châtillon en Vendelais est également intéressant. Il est situé dans un groupe où sont plutôt bien représentés les fortes productivité en cyanobactéries, dont deux sites dans le même département ; il présente quant à lui une particularité : les cyanobactéries, présentes en quantité (valeur maximale = 650 000 cell./mL) lors d'un pic en juillet, disparaissent ensuite assez brutalement.

Conclusions globales des ACP et ACM

Les analyses des données, montrent qu'une forte présence de cellules de cyanobactéries est corrélée de façon significative à un niveau fort de chlorophylle a.

Ces mêmes analyses indiquent une relation entre présence de cyanobactéries en forte quantité et fortes concentrations en phosphore total. Toutefois, lorsque l'ensemble des couples « cyanobactéries-phosphore total » sont mis dans un graphique (figure 3.1-3), si cette tendance demeure observable, elle n'apparaît plus du tout comme significative. Ceci est probablement dû aux valeurs déjà fortes du phosphore total dans les eaux, même les moins riches (valeurs minimales mesurées de 0,09 mg/L).

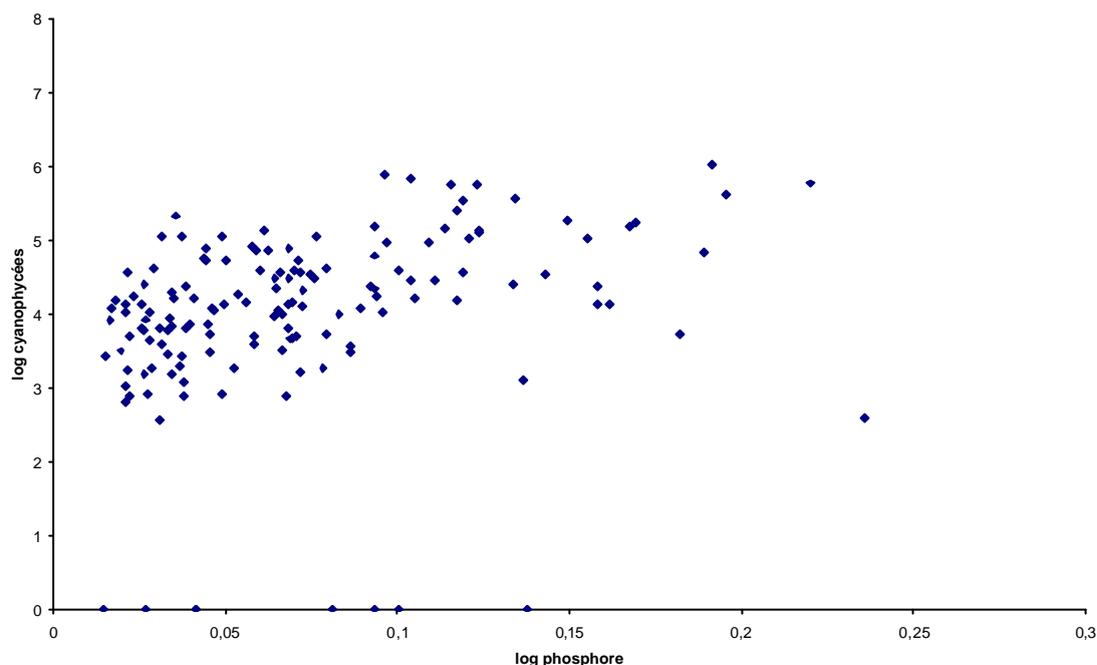


Figure 3.1-3 : relation entre les valeurs de cyanobactéries (log nb cell./mL) observées dans les eaux au cours de la période de juin à décembre 2002 et les teneurs en phosphore total (log Pt).

Ces mêmes ACM montrent que le niveau de transparence de l'eau est plutôt faible lorsque le nombre de cellules de cyanobactéries est élevé. Ces résultats sont logiques et cohérents avec l'état des connaissances. Ils donnent donc du sens aux autres associations mises en évidence.

Parmi celles-ci, la relation entre le nombre de cellules totales et celui de cyanobactéries apparaît significative, malgré la présence dans l'analyse de sites ayant des productivités algales assez contrastées.

A noter que l'examen de la relation entre les valeurs de cyanobactéries et la chlorophylle a ayant été sollicité par certains partenaires de l'étude, et compte tenu de son importance au regard des consignes de gestion des plans d'eau proposées par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF), la significativité de l'association observée a été re-testée séparément pour les valeurs faibles et les valeurs fortes de Chlorophycées.

Dans les deux cas, la relation est significative :

- pour des valeurs de Chlorophycées inférieures à 5 000 cellules
coefficient de corrélation significatif égal à 0.58
- pour des valeurs de Chlorophycées supérieures à 5 000 cellules
coefficient de corrélation significatif égal à 0.48

Sur la base de la répartition des valeurs observées en chlorophylle en fonction des valeurs en cyanobactéries observées, tous sites confondus (figure 3.1-4), le tableau des équivalences est le suivant :

Tableau 3.1.4 : relations observées dans cette étude, entre chlorophylle a et cyanobactéries, comparées à celles proposées dans les recommandations faites pour l’OMS (arbre décisionnel par I. Chorus et J. Bartram - 1999).

Nombre de cellules de cyanobactéries observées /mL	Teneur en chlorophylle a estimée à partir de cette étude (µg/L)	Valeurs d'équivalence en chlorophylle a des recommandations OMS (µg/L)
200	7	0,1
2 000	17	1,0
20 000	41	10,0
100 000	75	50,0
1 000 000	180	-

Il faut indiquer que dans près de 8% des cas (27 observations sur les 317 totales), la chlorophylle a est positive, alors qu’aucune cyanobactérie n’est présente dans l’échantillon d’eau prélevé ; ceci est lié à la présence d’autres algues.

Dans tous les autres cas (92 %) l’association entre teneur en chlorophylle a et cyanobactéries est positive.

Les valeurs consignées de chlorophylle a qui ressortent de cette étude sont très largement supérieures à celles admises traditionnellement. Cette différence est intéressante, dans la mesure où elle provient des conditions d’acquisition des deux types de références : les valeurs proposées pour l’OMS découlent d’un calcul théorique, basé sur les tailles moyennes des cyanobactéries et de leur contenu moyen en chlorophylle a ; les valeurs proposées à l’issue de cette étude correspondent aux observations en conditions réelles d’eutrophisation des plans d’eau de l’Ouest de la France.

Dans les conditions de réalisation de ce travail, pour une période d’observation majoritairement centrée sur la saison estivale (mais non réduite à cette seule période), le seuil des 20 000 cellules de cyanobactéries par mL d’eau serait atteint lorsque la teneur en chlorophylle atteint 40 µg/L.

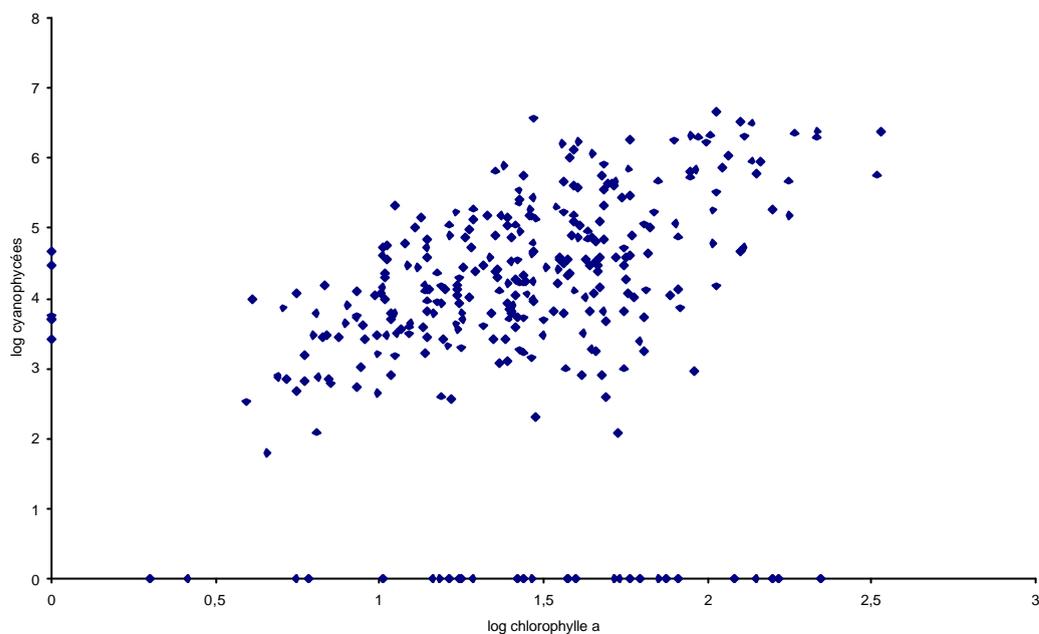


Figure 3.1-4 : relation entre les valeurs en cyanobactéries (log nb cell./mL) observées au cours de la période de juin à décembre 2002 et les teneurs en chlorophylle a (log chl. a).

Etude des caractéristiques des bassins versants.

Seules quelques unes des caractéristiques des bassins versant ayant pu être renseignées, une comparaison qualitative des valeurs de cyanobactéries avec ces caractéristiques, à l'aide d'un test du khi-deux a été réalisée. Les valeurs de cyanobactéries ont été réparties en deux catégories : > ou < à 15 000 cellules/mL.

Le seul lien qui ressort de manière significative est celui entre l'importance du développement de cyanobactéries et le volume du plan d'eau : les plus faibles biomasses de cyanobactéries sont liées aux plus grands volumes (> 1 800 000 m³) et inversement.

Lors du travail de C. Gaudemer, la relation entre la production de cyanobactéries et l'âge du plan d'eau (âge décompté à partir de la date de la première mise en eau) n'a pas pu être testée. Elle l'a été lors de la phase de ré-analyse.

Les sites ont été classés en ordre croissant des médianes en cyanobactéries observées durant la période d'étude. Ils ont ensuite été classés dans un ordre croissant en fonction de leur âge, lorsqu'il était renseigné. Seuls 12 sites ont pu être ainsi étudiés.

Il apparaît ainsi une bonne concordance entre les âges faibles (inférieur ou égal à 30 ans) et les faibles biomasses en cyanobactéries et inversement.

Les données relatives aux profondeurs et aux taux de renouvellement des plans d'eau n'étaient pas suffisamment renseignées ou faibles pour pouvoir être testées.

Parmi les sites mis en évidence dans le paragraphe précédent, Saint-Denis du Maine a une forte productivité en cyanobactéries, un âge supérieur à 30 ans et un volume très faible (90 000 m³). Châtillon en Vendelais est un site très âgé (>100 ans), mais avec un grand volume (2 000 000 m³); sa productivité algale globale est relativement faible, avec une seule période plus intense mais courte (10 jours en juillet). Le site du Gast, qui est l'un de ceux présentant les plus faibles productions d'algues et une production de cyanobactéries moyenne, a un âge faible (15 ans) et un volume élevé (2 900 000 m³). Le Hinglé (29 ans ; 1 900 000 m³) a une productivité globale faible, particulièrement en cyanobactéries.

Ces deux paramètres, âge et volume du plan d'eau, associés, semblent donc pouvoir être retenus comme de bons prédicteurs de la potentialité d'un site au développement algal.

Ceci est en accord avec les données de la littérature :

- un âge élevé peut en effet être lié à des envasements importants (source de nutriments re-mobilisables) et à des enrichissements des sédiments en formes de résistances de la plupart des espèces de cyanobactéries ;
- un volume faible correspondra, quant à lui, généralement à des eaux plus « stagnantes » en période estivale (selon les modalités de renouvellement des eaux) et donc à la création d'un pool de matière organique re-mobilisable pour la croissance algale.

Ce qui est intéressant à l'issue de cette étude, c'est de pouvoir donner des premières indications permettant de relier la biomasse des plans d'eau en cyanobactéries avec leur âge et leur volume :

- quand l'âge est inférieur ou égal à 31 ans, la médiane des médianes en cyanobactéries est de 6 100 cellules/mL, alors qu'elle atteint 45 050 cellules/mL pour un âge supérieur à 31 ans (médianes de toutes les médianes à 21 453 cellules/mL) ; si l'analyse est faite avec les moyennes géométriques des teneurs médianes observées par site, la même différence demeure : respectivement 6 087 cellules/mL contre 36 819 (moyenne géométrique de toutes les valeurs médianes par site : 14 971) ;
- de la même manière, la médiane des teneurs médianes en cyanobactéries observées sur les sites est de 23 551 cellules/mL dès lors que le volume du plan d'eau est inférieur à environ 1,5 million de m³ et de 12 353 lorsqu'il est supérieur (les valeurs respectives des moyennes géométriques des médianes étant de 26 275 et 9 360 cellules/mL).

Les tendances proposées à l'issue de cette étude devront bien entendu être validées et renforcées à partir des données de numérations algales de la campagne 2003 sur les mêmes sites et à partir d'autres sites non inclus dans cette étude.

Effet des conditions météorologiques sur la présence des cyanobactéries

Données utilisées

Dans la mesure où les fiches de suivi étaient très incomplètes, les données nécessaires ont été acquises auprès de Météo France. Dans la plupart des cas, les données sont acquises par des stations automatiques ce qui rend les relevés plus fiables et la série plus homogène. Les relevés sont en effet effectués à des horaires fixes et identiques et les erreurs de relevé sont moindres. En revanche, l'inconvénient est que ces stations automatiques sont parfois localisées très loin du plan d'eau considéré.

Les paramètres choisis comme des éventuels facteurs explicatifs de la présence de cyanobactéries sont des relevés quotidiens de pluie (RR), température minimum (TN) et maximum (TX) sous abri, moyenne des températures horaires sous abri (TM), durée d'insolation (INST), direction du vent maxi moyen (DXY), force du vent maxi moyen (FXY) et rayonnement global (GLOT).

Tous ces paramètres sont disponibles pour les stations météorologiques retenues mais pour l'ensoleillement, un seul paramètre est relevé (soit l'insolation soit le rayonnement global) dans la plupart des stations sauf dans celles de la Roche sur Yon et de Nantes où les deux relevés sont disponibles.

Etant donné que ces variables mesurent toutes les deux l'ensoleillement avec des unités différentes et qu'elles sont très corrélées ($r=0.81835$ $p<0.0001$), il est possible d'estimer les valeurs du rayonnement à partir de celles de l'insolation avec un modèle de régression linéaire sur les données des stations de La Roche sur Yon et de Nantes. Par la suite, ce modèle sera appliqué aux données des autres stations.

La qualité de l'ajustement du modèle peut être testée en comparant les prédictions du modèle aux valeurs réelles de rayonnement sur les données des stations de Nantes et de la Roche sur Yon.

Les points se dispersent relativement bien autour de la 1^{ère} bissectrice et aucun point ne se distingue sensiblement des autres, il n'apparaît donc pas de comportement atypique dans les données.

De plus, puisque le rayonnement va être utilisé en classes et non comme une valeur exacte, le modèle semble acceptable pour estimer le rayonnement à partir de l'insolation.

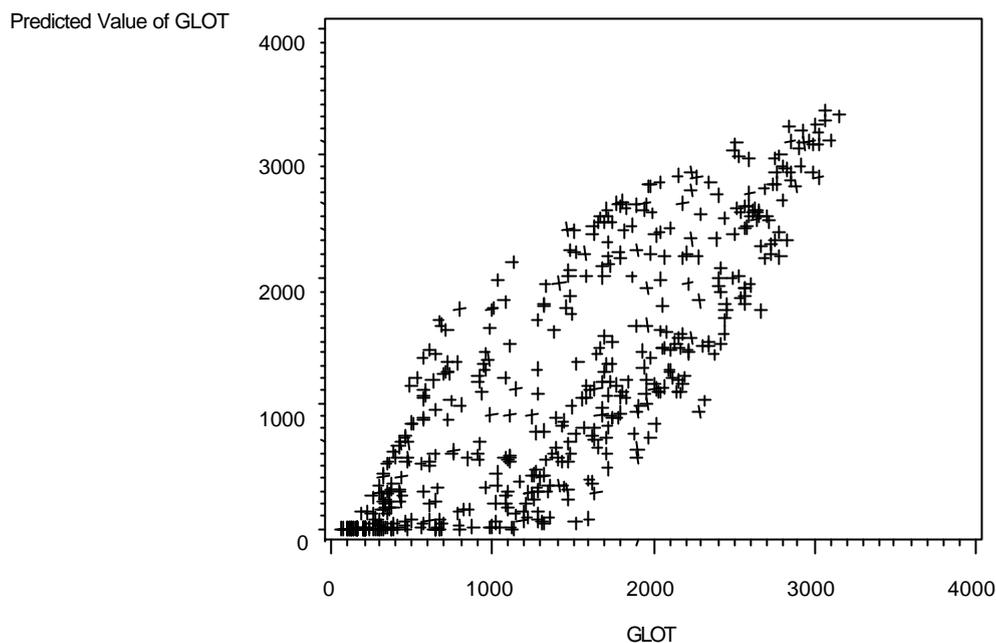


Figure 3.1-5 : relation entre les séries de données de rayonnement global (GLOT : exprimé en joules/cm²) observées et prédites à partir des valeurs d'insolation sur les stations météorologiques de Nantes et La Roche/Yon.

Le cumul des valeurs de la pluie, du rayonnement et des températures minimales et maximales est calculé sur une période de 3 à 10 jours, au pas unitaire d'un jour.

Principaux résultats

L'analyse des données météorologiques recueillies auprès de Météo France a permis d'observer une corrélation significative entre les valeurs de cyanobactéries et celles des températures de l'air cumulées sur une période de 3 à 5 jours (corrélation non significative pour la température de l'air du jour même).

Il n'existe pas de relation statistiquement significative entre les cyanobactéries et la pluviométrie, qu'elle soit du jour ou des 10 jours précédant le prélèvement.

Globalement, en revanche, une relation est observée entre les cyanobactéries et la température de l'air sur les 3 à 5 jours précédant le prélèvement (tableaux 3.1.5 et 3.1.6).

Tableau 3.1.5 : relation entre les températures minimales de l'air et les valeurs de cyanobactéries observées entre mai et décembre 2002.

délai	r	p
jour même	0,091	NS
3	0,109	0,051
4	0,106	0,056
5	0,116	0,037
6	0,096	NS
7	0,089	NS
8	0,102	NS
9	0,105	NS
10	0,106	0,056

Tableau 3.1.6 : relation entre les températures maximales de l'air et les valeurs de cyanobactéries observées entre mai et décembre 2002.

délai	r	p
jour même	0,089	NS
3	0,098	NS
4	0,102	NS
5	0,111	0,046
6	0,12	0,031
7	0,126	0,024
8	0,127	0,023
9	0,135	0,015
10	0,14	0,012

La comparaison de ces deux tableaux montre que les trois jours précédant le prélèvement, c'est plutôt la somme des températures minimales de l'air qui est influente ; alors que dans les 5 à 10 jours précédant le prélèvement, ce sont plutôt les températures maximales cumulées de l'air qui semblent influencer la productivité en cyanobactéries.

Le rayonnement global du jour du prélèvement (valeurs en joules par cm²) ne présente aucune corrélation significative avec les cyanobactéries. En revanche, cette relation existe avec le rayonnement des 2 à 10 jours précédents (tableau 3.1.7).

Tableau 3.1.7 : relation entre le rayonnement global (valeurs mesurées ou estimées) et les valeurs de cyanobactéries observées entre mai et décembre 2002.

délai	r	p
jour même	0,07	NS
2	0,198	0,0004
3	0,212	< 0,0001
4	0,218	< 0,0001
5	0,228	< 0,0001
6	0,234	< 0,0001
7	0,243	< 0,0001
8	0,239	< 0,0001
9	0,245	< 0,0001
10	0,243	< 0,0001

En ordre d'importance décroissante (appréciée par les valeurs des r^2 calculés dans les analyses précédentes), c'est le rayonnement global qui explique le mieux la variabilité des teneurs en cyanobactéries observée, puis les températures maximales cumulées de l'air au cours des 5 à 10 jours antérieurs au prélèvement, puis les températures minimales cumulées de l'air quelques jours avant le prélèvement.

Ainsi, les périodes d'insolation forte durant plus de 3 jours, associées à des températures élevées (situation classique en période estivale, mais pas en période hivernale) seront donc propices aux développements des cyanobactéries, dès lors que le plan d'eau y est favorable. Les quantités d'eaux de pluies tombées le jour du prélèvement ou les jours précédents ne semblent avoir aucun effet sur la présence de cyanobactéries.

3.1.2.3.3 *Relation entre les cyanobactéries et les toxines*

Recherches de toxines effectuées

Les seules toxines recherchées ont été les microcystines LR. Elles ne sont pas les seules qui peuvent être synthétisées par les espèces de cyanobactéries rencontrées sur les plans d'eau de l'étude (tableau 3.1.8), mais ce sont les seules qui font l'objet d'un cadrage réglementaire, puisque pour le moment, les espèces sécrétrices de neurotoxines semblent encore inconnues en France.¹ Le laboratoire de l'Université de Rennes qui a pratiqué cette recherche de toxines a utilisé deux méthodes : soit des analyses par test Elisa, soit des analyses par HPLC en phase inverse.

¹ A noter toutefois la mortalité de 27 chiens dans le Tarn entre 2003 et 2004 qui serait due à une neurotoxine sécrétée par une cyanobactérie benthique (*Lyngbya* sp) - non publié.

Dans le premier cas, les résultats sont exprimés en équivalent de microcystine LR ($\mu\text{g/L}$). Le seuil de détection est de $0,05\mu\text{g/L}$. Dans le second cas, les résultats sont exprimés en microcystine LR ($\mu\text{g/L}$), ou en équivalents de microcystine LR ; dans ce dernier cas, la valeur intègre la somme de tous les pics (y compris celui de la LR), et le seuil est de $0,25 \mu\text{g/L}$.

Tableau 3.1.8 : Principales espèces de cyanobactéries présentes dans l’Ouest de la France selon le rapport ODE (Office Départemental de l’Environnement des Côtes d’Armor) (n°28, décembre 2003) et leurs toxines associées (classement non hiérarchisé ; rencontrées dans les prélèvements réalisés dans le cadre de la présente étude).

Espèces	Neuro-toxines*	Hépatotoxines**
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	+
<i>Microcystis viridis</i>		+
<i>Microcystis wesenbergii</i>		+
<i>Snowella lacustris</i>		+
<i>Woronichinia naegeliana</i>		+
<i>Anabaena circinalis</i>	+	+
<i>Anabeana flos-aquae</i>	+	+
<i>Anabeana planctonica</i>	+	
<i>Anabeana spiroïdes</i>	+	
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	+	
<i>Oscillatoria sp.</i>	+	+
<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+

* : alcaloïdes ; ** : microcystines (dont la microcystine LR)

Les résultats des recherches de toxines réalisées au cours de cette étude sont présentés dans le tableau suivant. Seuls les échantillons contenant des valeurs en cyanobactéries supérieures aux seuils de gestion de l’OMS ont été analysés (nombre de cellules de cyanobactéries supérieur à 2 000 pour les AEP et à 20 000 pour les baignades). Certains échantillons ont cependant été oubliés, en particulier pour les sites destinés à l’AEP.

Au total, parmi les 323 échantillons d’eaux prélevés, 54.5 % concernaient des sites AEP et 45.5 % des sites de baignade (tableau 3.1.9).

164 d’entre eux, soit 50.77 %, ont été envoyés pour une recherche de toxines (microcystines LR et microcystines équivalent LR).

Tableau 3.1.9 : récapitulatif des recherches de toxines effectuées dans le cadre de cette étude.

Nom du Site (n° dépt)	N	% envoi pour analyse de toxine	Nombre de prélèvements > 0,25 µg/l	
			Microcystine LR	Microcystine eq LR
Nantes (44)	13	100%	6	13
Martigné Ferchaud (35)	10	100%	7	9
Guérande (44)	7	100%	1	4
Saint Michel Chef Chef (44)	5	100%	2	2
Apremont (85)	13	100%	*	*
Marcillé Robert (35)	12	83%	2	10
Saint Denis du Maine (53)	12	83%	1	5
Saint Laurent de Terregatte (50)	18	83%	0	2
Bobital (22)	13	77%	3	5
Le Gast (14)	19	68%	0	3
Pouancé (49)	12	67%	1	3
Saint Sever (14)	12	67%	0	0
Le Hinglé (22)	13	62%	2	3
Saint Lô (50)	17	59%	2	4
Chemillé (49)	12	50%	0	3
Lanrivain (22)	15	47%	2	3
La Roche sur Yon (85)	13	46%	*	*
Ploermél aep (56)	20	42%	6	7
Chatillon en Vendelais (35)	12	33%	1	1
Ploermél bain (56)	6	33%	0	1
La Méaugon (22)	11	27%	1	1
Angers (49)	13	25%	0	1
Mézangers (53)	12	25%	0	0
Tuffé (72)	9	11%	0	0
Daon (53)	12	0%		
Arnage (72)	12	0%		

* : Dans le département de la Vendée, un test Elisa a été réalisé.

Présence de microcystines

9 prélèvements pour les baignades et 26 pour les AEP auraient du subir une analyse de toxines dans la mesure où leur nombre de cellule de cyanobactéries était supérieur au seuil établi par l’OMS. Ainsi, 193 prélèvements dépassaient ces seuils et 18% d’entre eux n’ont pas été envoyés pour une recherche de toxines. De plus, 6 prélèvements ont été analysés alors que le protocole ne les considérait pas comme des éventuels échantillons à analyser.

Globalement, 50 % des échantillons d’eau analysés contenaient plus de 0,25 µg/L de microcystines équivalent LR et la moitié d’entre eux contenaient plus de 0,25 µg/L de microcystine LR.

Relation entre les microcystines et les cyanobactéries

Selon les sites, les résultats d'analyse sont plus ou moins différents. En effet, sur certains sites comme Tuffé, Saint Sever,..., l'ensemble des analyses a révélé une teneur en microcystines équivalent LR toujours inférieure au seuil de détection, alors que pour d'autres, celle-ci était toujours supérieure (Marcillé Robert, Nantes). De plus, c'est sur le site de Nantes que nous trouvons les valeurs maximum de microcystines LR (soit 19 µg/l) et de microcystines en équivalent LR (soit 51 µg/l) ; or ce site est également celui qui a présenté le plus de cyanobactéries tout au long de la période d'étude.

La concordance entre les teneurs en microcystines équivalentes LR et en cyanobactéries n'est donc pas systématique pour les sites moins productifs en ces algues. Cependant, pour les sites fortement productifs en cyanobactéries, les teneurs en microcystines équivalentes LR sont toujours élevées.

Le peu de données disponibles et l'existence de seuils analytiques différents selon la méthode de détermination utilisées ont conduit à transformer les valeurs de concentrations en microcystine équivalentes LR en simple présence/absence, selon que la mesure dépasse ou non la valeurs de 0,25 µg/L. Ainsi, un premier essai de régression logistique et de calcul d'odds ratio montre qu'un prélèvement contenant plus de 170 000 cellules de cyanobactéries aura 16 fois plus de risque de contenir des microcystines équivalentes LR qu'un prélèvement contenant moins de 32 000 cellules. Lorsque le nombre de cellules de cyanobactéries est supérieur à 170 000, il existe 13 fois plus de risques de trouver des toxines que lorsqu'il est compris entre 32000 et 170 000 (voir le rapport de Caroline Gaudemer, en annexe).

Ce modèle prédit correctement les prélèvements négatifs en toxines dans 86 % des cas et ceux en contenant dans 70 % des cas. Il peut donc être jugé satisfaisant.

La distribution du produit des fréquences de présences des différentes espèces de cyanobactéries observées au cours de la période d'étude avec les médianes des fréquences pour l'ensemble des sites, indicatif de l'importance de chaque espèce, globalement, est représentée dans la figure 3.1-6. Ce graphique montre que l'espèce la plus souvent rencontrée est *Planktothrix agardhii*, suivie par *Microcystis aeruginosa*, puis *Oscillatoria sp.*, *Aphanizomenon flos-aquae*, les moins présentes étant *Woronichinia naegeliana*, *Anabaena flos-aquae* et enfin *Anabeana circinalis*.

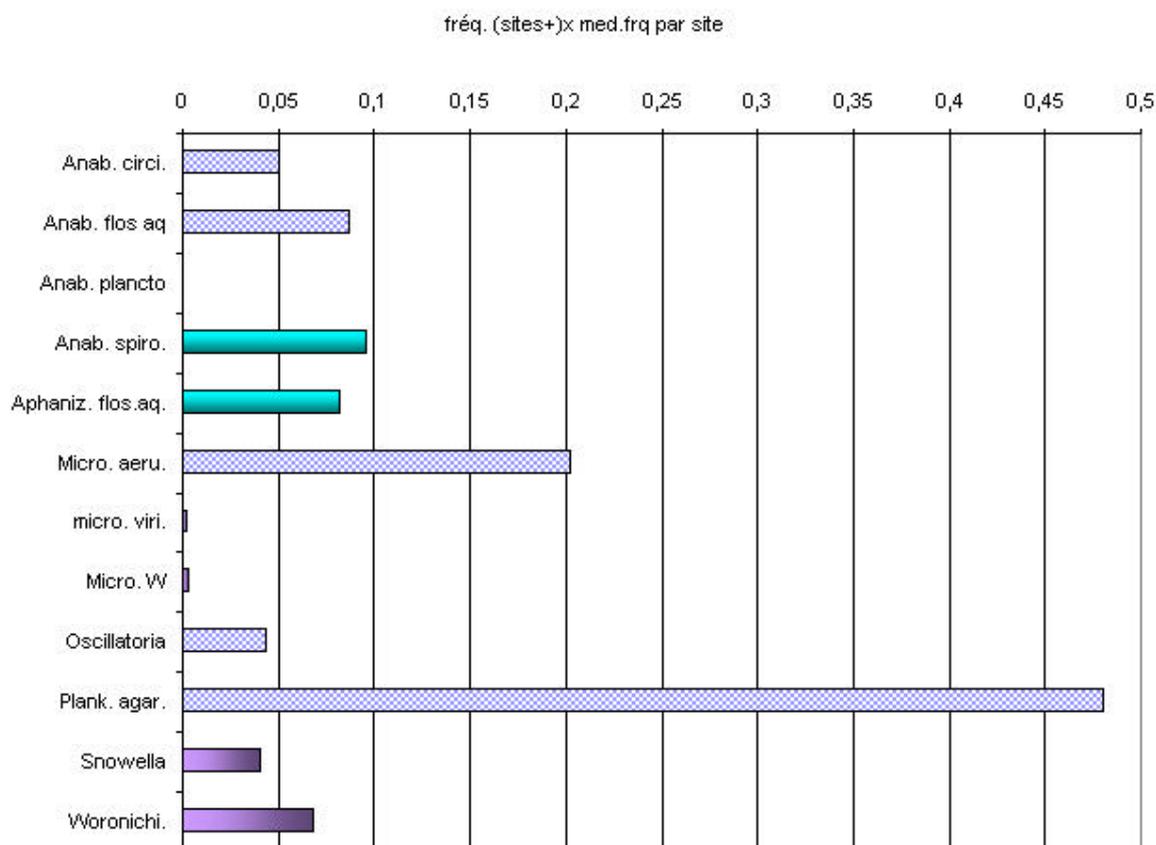


Figure 3.1-6 : Fréquences relatives (produit des fréquences de sites positifs en une espèce par la médiane des fréquences de cette espèce sur les 26 sites) des principales espèces de cyanobactéries sur les 26 sites d'étude entre mai et décembre 2002.

Autres facteurs influençant la présence des toxines

Plusieurs facteurs sont évoqués dans la littérature pour expliquer la variabilité de la production de toxines par les cyanobactéries. Parmi ceux-ci : le rapport entre NH_4 et NO_3 , le rapport entre azote Kjeldhal et Pt, la température, l'insolation.

Peu de sites ont fait l'objet d'analyse d'azote et de phosphore, bien que ces paramètres aient été prévus dans le protocole initial. Ces analyses ne sont disponibles que pour les sites suivis par le laboratoire Bi-Eau, soit 9 jeux de données (sites : St-Laurent de Terregate, Saint-Lô, Daon, Mézangers, Saint-Denis du Maine, Ploërmel, Arnage, Tuffé, Apremont, La Roche sur Yon).

Pour chacun de ces sites, les rapports entre les deux formes d'azote (azote Kjeldhal et nitrates) et le rapport entre nitrates et phosphore total ont été calculés.

Il ressort de cette approche très sommaire que les sites ayant nettement plus d'azote Kjeldhal que de nitrates (rapport nettement supérieur à 1) sont parmi ceux qui présentent les plus faibles teneurs en microcystines équivalentes LR. A l'inverse les deux sites pour lesquels l'azote Kjeldhal est inférieur aux nitrates (rapport inférieur à 1) sont parmi ceux ayant présenté le plus de microcystines équivalentes LR. Cette concordance concerne 7 des 9 sites.

Il est évident que ces conclusions demanderaient à être validées sur de plus nombreuses données. Elles sont cependant intéressantes, puisqu'elles vont dans le sens de certains travaux scientifiques de laboratoire.

L'analyse des valeurs de toxines mesurées en fonction des conditions météorologiques a été effectuée dans le cadre du travail de C. Gaudemer. Seules les principales conclusions sont reprises ici.

La production de microcystine LR (164 observations) est significativement plus élevée lorsque :

- **la température minimale de l'air du jour est supérieure à 11°C ;**
- **les températures minimales de l'air cumulées sur les 6 jours précédant le prélèvement sont supérieures à 70°C ;**
- **lorsque les températures maximales de l'air cumulées sur trois jours avant le prélèvement sont supérieures à 64°C et à 130°C sur six jours ;**
- **lorsque le rayonnement global cumulé sur deux jours avant le prélèvement est supérieur à 2835 joules/cm² et à 4628 joules /cm² sur trois jours ;**

Les mêmes tendances se dégagent lorsque ce sont les valeurs de microcystines équivalentes LR qui sont introduites dans les tests.

Ni les vents (intensité et direction), ni les pluies ne semblent influencer les valeurs de toxines mesurées dans les échantillons prélevés au cours de cette étude.

Ces différents résultats issus de l'étude statistique ont permis de classer les sites en 3 catégories . Ces 3 familles ont fait l'objet d'une description écologique afin de conforter les résultats issus de l'analyse statistique aux caractéristiques environnementales de ces sites. C'est l'objet d'un chapitre suivant.

3.2 DESCRIPTION ECOLOGIQUE DE QUELQUES SITES

Compte tenu de l'objet même de cette étude, il est apparu intéressant de dresser, à titre comparatif, un graphique récapitulatif de tous les sites, en fonction de leurs concentrations en cellules de cyanobactéries. Malgré la grande densité de données, il est possible toutefois d'apercevoir sous cette représentation la forte disparité de comportement selon les stations, au cours d'un même été (Fig 3.2.-1. page 45).

Les sites sélectionnés ci-après se trouvent parmi ce graphique, ce qui permet de positionner rapidement leur statut vis-à-vis d'autres dont le comportement ne sera pas détaillé. Le groupement des stations au sein de chacun des trois types découle du traitement statistique détaillé dans le chapitre précédent (Tabl.3.1.3 page 29)

3.2.1 Sites avec beaucoup de cyanobactéries

Quatre sites ont été retenus dont les peuplements d'algues sont commentés en détail :

- Marcillé Robert (35)
- St Denis du Maine (53)
- Chemillé (49)
- St Laurent de Terregatte (50).

Ce dernier étant le seul qui sert à la production d'eau potable, les trois autres étant utilisés pour la baignade.

3.2.1.1. Etang de Marcillé Robert (35)

Ce site est sans doute l'un des plus productifs puisqu'il montre la plus forte moyenne de chlorophylle *a* de toute l'étude, soit 115.5 µg/L. En effet, les algues y sont toujours abondantes (moyenne de 1.2 millions de cell./ml et jamais moins de 78 400 cell./ml le 20/06/02) même si les Cyanobactéries peuvent être absentes (le 20/06). Cependant celles-ci deviennent largement dominantes à partir du 4 juillet, soit dans plus de 80% des récoltes réalisées durant la période (Fig. 3.2.1-1).

Le pic algal est observé le 12 août, où l'on dénombre 3.3 millions cell./ml, dont 3.2 millions appartiennent aux cyanobactéries. Seuls Nantes (4.5 millions cell./ml), Martigné Ferchaud et le Gast (3.7 millions cell./ml) dépassent cet effectif total.

Toutefois, à Marcillé Robert, les concentrations élevées sont plus fréquentes, puisque le seuil de 2 millions cell./ml est dépassé à quatre reprises (entre le 30/07 et le 27/08). Quant au seuil classique de 100 000 cell. de cyano./ml, il est dépassé neuf fois.

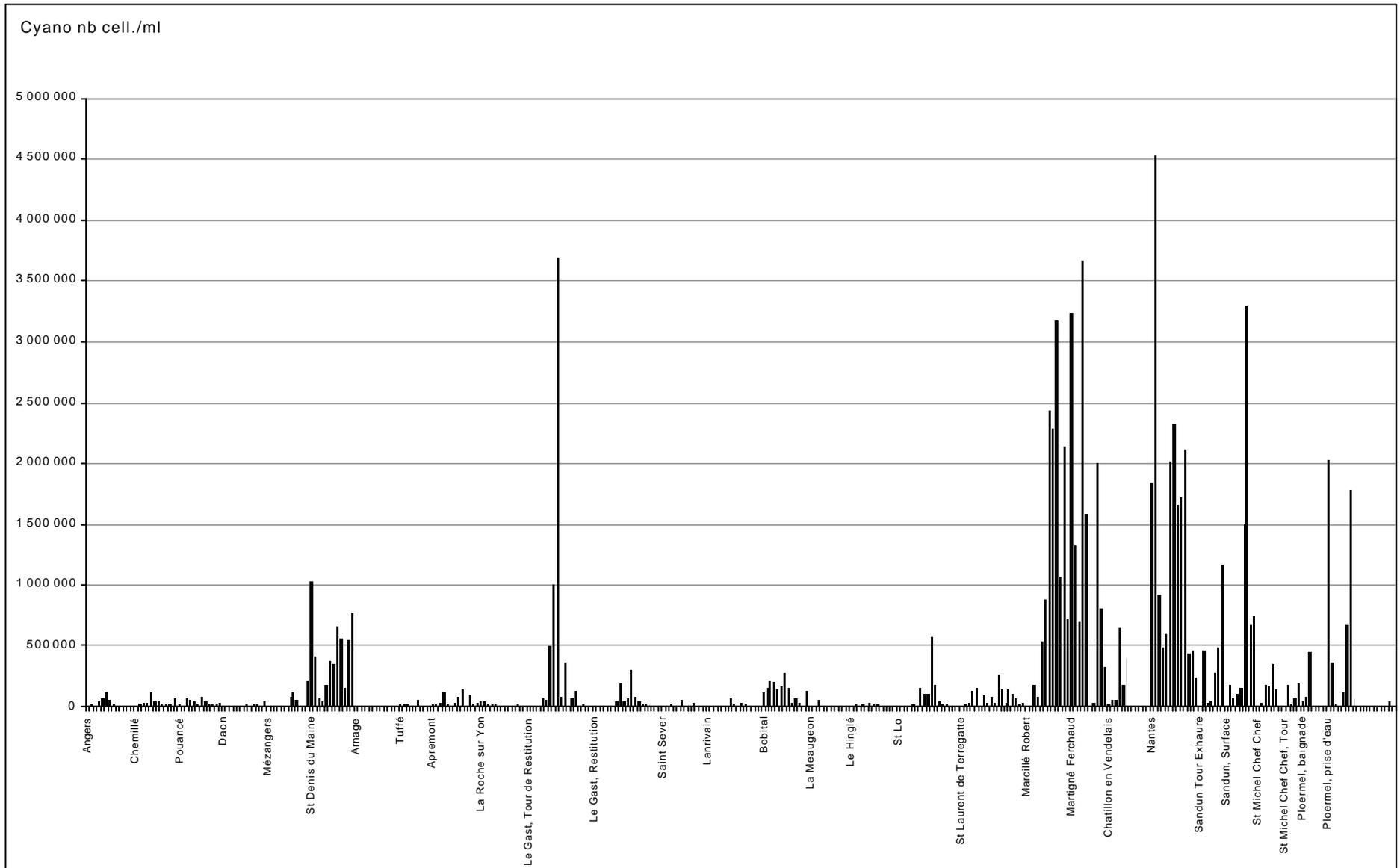


Figure 3.2-1

La très forte suprématie des Cyanobactéries dans cette station est bien illustrée dans la figure 3.2-1. Les algues vertes et le genre *Scenedesmus* en particulier, ne prennent le dessus que le 27 mai (75 000 cell./ml). Par la suite, la Cyanobactérie *Planktothrix agardhii* s'installe durablement, sauf le 23 juillet où elle est absente. A cette date d'autres filamenteuses sont dominantes (392 000 cell./ml) au premier rang desquelles *Anabaena circinalis* très discrète le reste du temps (une autre observation seulement le 4 juillet).

La principale caractéristique de Marcillé Robert est donc la colonisation à la fois durable et massive de *Planktothrix agardhii* : lorsque cette espèce est détectée dans la baignade (le 04/07) elle représente déjà 26% du total cellulaire, et ce pourcentage peut monter à 92% le 27 août.

La microcystine, lorsque l'analyse s'impose, est toujours détectée en équivalent LR (à deux reprises seulement), mais elle ne dépasse guère 3.79 µg/l (le 6 août).

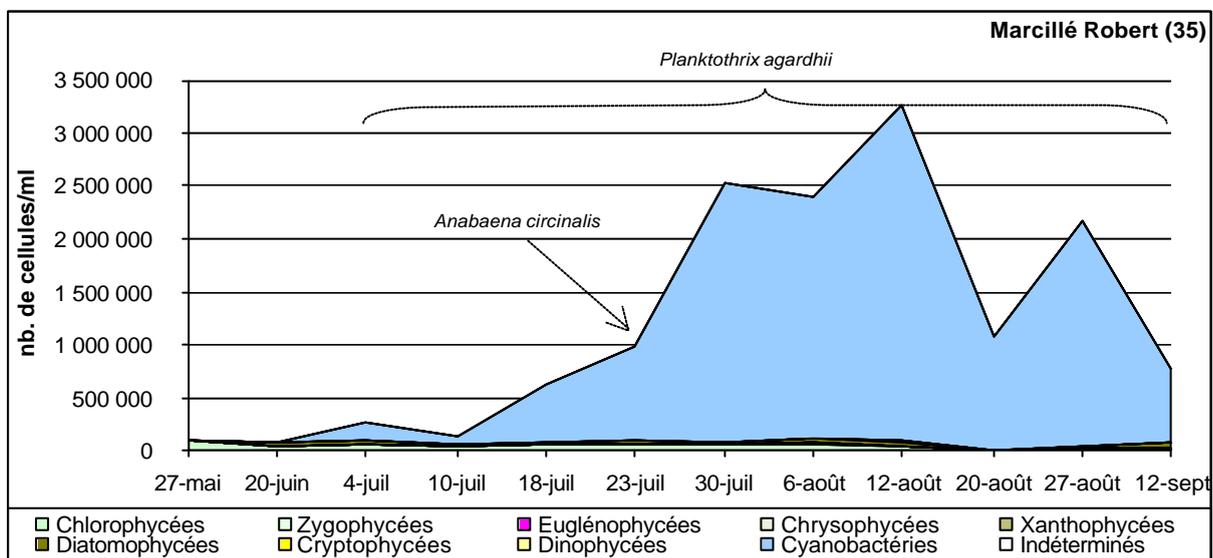


Fig. 3.2.1-1 : Succession algale à l'étang Marcillé Robert pendant la période estivale 2002.

Outre les Cyanobactéries, il semble donc qu'il y a peu de place pour d'autres algues pendant la période estivale. A signaler cependant quelques 10 400 cell./ml de Zygothycées le 6 août (genres présents non mentionnés), ainsi que 34 000 cell./ml de la Diatomophycée filamenteuse *Aulacoseira granulata* le 12 septembre. Cette dernière classe ne représente cependant que 6 % du total.

L'apparition en masse de *Planktothrix* à partir du 10 juillet est liée à la situation géographique du lieu de prélèvement et son accumulation semble favorisée par des vents orientés Nord - Nord Ouest - Nord Est.

3.2.1.2. St Denis du Maine (53)

Le plan d'eau de la Chesnaie à St Denis du Maine a en commun avec le précédent la prépondérance de la Cyanobactérie *Planktothrix agardhii* (Fig. 3.2.1-2 et planche photos page 55), et ce dès la première récolte. Cette espèce occupe le premier rang du peuplement dans toutes les récoltes (douze en tout).

Ainsi, dès le 11 juin, ce site montre ses maximums annuels (total cellulaire = 1.1 million de cell./ml ; total Cyano. = 1 million de cell./ml qui appartiennent toutes à l'espèce citée, soit 97% des cellules algales). Malgré les fluctuations des effectifs, c'est toujours cette population de *Planktothrix* qui domine, ne laissant pas s'imposer d'autres groupes d'algues : les vertes (Chlorophycées) sont encore celles qui réussissent à s'exprimer, avec 37.2% du total (le 08/07) mais sans jamais dépasser 45 000 cell./ml (le 29 /07) avec le genre *Scenedesmus* (*S. quadricauda* et *S. dimorphus* ...) et *Pediastrum* (*P. boryanum* surtout). Il est à remarquer que les Diatomées sont d'une extrême discrétion (maximum 4 500 cell./ml) et *Aulacoseira* est parmi elles le genre le mieux inféodé au milieu.

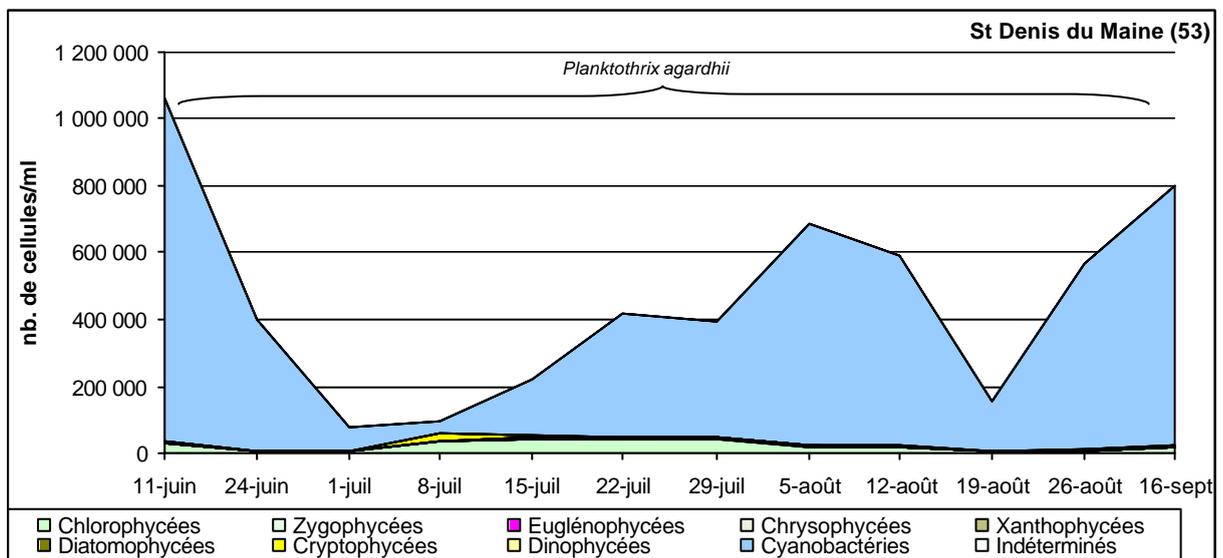


Fig. 3.2.1-2 : Succession algale à Saint Denis du Maine, pendant la période estivale 2002.

Ainsi, la très faible transparence de ce plan d'eau (maximum 45 cm) est sans doute à relier à la colonisation permanente de *Planktothrix* : il doit contribuer fortement à alcaliniser l'eau, puisque c'est à la Chesnaie que l'on observe la moyenne la plus élevée de pH (8.76). Cette espèce peut aussi être en grande partie responsable de la valeur médiane élevée de 2,9 mg/l en azote organique et du maximum de 4,7 mgNTK/l.

Il est à signaler, enfin, que eu égard aux effectifs développés, la chlorophylle *a* n'est pas très importante puisqu'elle ne dépasse jamais 46.5 µg/l (le 26/08).

L'origine des fluctuations du nombre de cellules de *Planktothrix* n'est pas identifiée ; nous notons cependant qu'une pluie de 27 mm le 19 juin a pu diluer le tout premier pic.

3.2.1.3. Chemillé (49)

Toujours riche en algues (jamais moins de 36 000 cell./ml) le maximum annuel dépasse à peine ici 250 000 cell./ml (ce qui est inférieur aux 3.2 millions de cell./ml à Martigné Robert ou encore 1.1 millions de cell./ml à St Denis du Maine). Toutefois, nous assistons dans cet étang de Melay-Coulvée à Chemillé à une succession saisonnière relativement marquée, avec tout d'abord un développement de diatomées centriques (*Cyclotella dubius*) qui entraînent d'ailleurs une forte concentration chlorophyllienne (80.5 µg/l le 03/06 pour un total cellulaire de 127 300 cell./ml dont 82% de diatomées, Fig. 3.2.1-3). Une autre forte valeur de chlorophylle a (75.7 µg/l) correspond d'ailleurs à nouveau à un développement d'une autre diatomée assez compacte, *Aulacoseira muzzanensis*, le 19/08, de morphologie relativement massive.

Dès mi-juin, s'installent les algues vertes (Chlorophycées) de façon importante, avec des Chlorococcales telles que *Scenedesmus magnus*, *Sc. quadricauda*, *Sc. dimorphus*, *Pediastrum simplex* (planche photos page 54), *P. boryanum*... et surtout beaucoup de *Coelastrum microporum*, ces derniers dépassant 60 000 cell./ml dans la seconde quinzaine de juillet. Une forte disponibilité de l'azote (NTK maximum de 2,7 et médiane de 1,75 mg/l) pourrait expliquer cette situation, sachant que ces algues en sont, a priori, assez dépendantes.

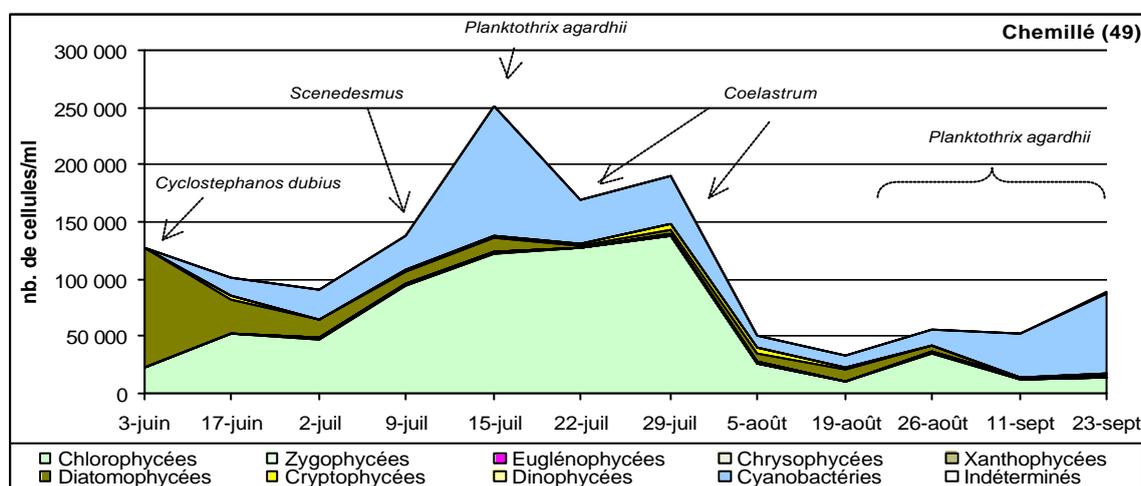


Fig.3.2.1-3 : Succession algale à Chemillé, pendant la période estivale 2002.

C'est aussi à cette période que les Cyanobactéries se manifestent massivement (un seul dépassement du seuil de 100 000 cell. Cyano./ml le 15/07), même si *Planktothrix agardhii* (33% à cette date, soit 84 000 cell./ml) reste largement accompagné d'autres petites Cyanobactéries telles que *Merismopedia* et *Aphanocapsa*. La domination de *Planktothrix* est ici plus intermittente que dans les stations précédentes.

Ce n'est que lors des deux prélèvements de septembre que les Cyanobactéries dépassent 50% du total cellulaire (69.2% et 78.7% respectivement les 11 et 23 septembre) et ceci grâce à *Planktothrix agardhii* qui semble l'espèce la mieux adaptée aux conditions de fin d'été. La présence des autres groupes d'algues révèle sans doute une certaine hétérogénéité du milieu et met ,peut-être, en évidence une compétition organisée autour de la disponibilité des nutriments.

Rappelons que ce niveau de colonisation de *Planktothrix agardhii* n'a jamais entraîné de concentration en microcystine LR supérieure au seuil de détection (0.25 µg/l).

Une succession comparable de groupes phytoplanctoniques comparable (les effectifs y sont bien plus faibles qu'à Chemillé) est observée à Daon (53), baignade située au fil de l'eau de la rivière Mayenne. Curieusement, le phytoplancton de celle-ci est plus proche de celui d'un milieu fermé (plan d'eau), que de celui d'un milieu courant : ce qui montre à quel point le faciès lentique de ce cours d'eau a un impact important sur sa flore.

3.2.1.4. St Laurent de Terregate (50)

La retenue de La Sélune à St Laurent de Terregate est la seule AEP à avoir été sélectionnée dans ce premier groupe de sites fortement colonisés par les Cyanobactéries (Fig. 3.2.1-4).

La particularité de son phytoplancton est l'évolution "en dents de scie" des effectifs, qui passent fréquemment du simple au double (ou au triple, voire plus - facteur 6.8 entre le 19 et le 27 août) en une semaine seulement.

Cette retenue étudiée sur une période assez longue (18 prélèvements jusqu'au 15/10) est un lieu de prédilection pour les Cyanobactéries. Ce groupe occupe toujours le premier rang du peuplement, sauf à deux reprises (04/06 et 22/07 où le bénéfice est donné aux diatomées centriques dont *Aulacoseira*), qui ne développent cependant pas de forts effectifs. Le reste du temps, c'est encore *Planktothrix agardhii* qui s'impose (le 08/07 a lieu le maximum de chlorophylle *a* de 46 µg/l), mais laissant des intermittences à *Aphanizomenon* (150 000 cell./ml le 15/08) et à *Anabaena circinalis* (le 06/08).

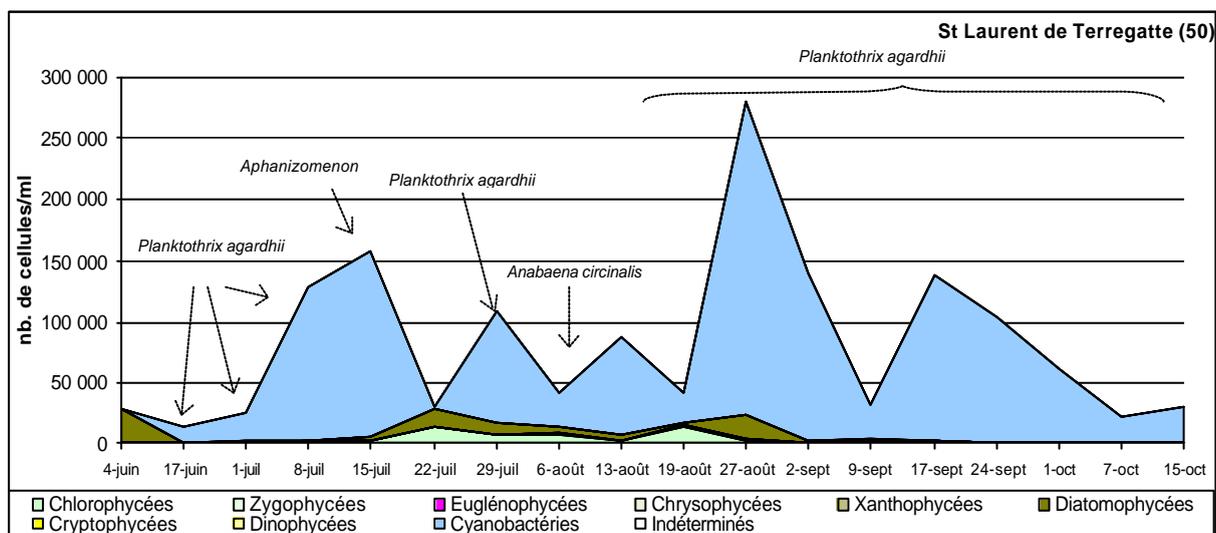


Fig. 3.2.1-4 : Succession algale à la retenue de St. Laurent de Terregate, pendant la période estivale 2002.

Du point de vue de la gestion, il faut signaler que seuls deux prélèvements ont montré une concentration cellulaire en Cyanobactéries inférieure à 2 000 cell./ml (le 04/06 et 22/07). En revanche, un tiers des récoltes (six prélèvements) ont dépassé le seuil de 100 000 cell./ml avec un maximum le 27 août de 256 000 cell. Cyano./ml (toutes des *Planktothrix agardhii*) pour un total de 280 000 cell./ml (soit seulement 9% d'algues autres que cette dernière).

3.2.2 Sites avec une situation intermédiaire

Un seul site a été retenu dans ce type, illustrant les milieux majeurs moins riches en cyanobactéries.

3.2.2.1 Pouancé

La baignade de l'étang Saint Aubin à Pouancé ressemble, à certains égards, à celle de Chemillé (Fig. 3.2.2-1 et Tabl. 3.1.3, P+/D+)

Tandis qu'ici les Diatomophycées sont extrêmement discrètes, les Chlorophycées sont constamment bien représentées (toujours > à 10 000 cell./ml) particulièrement par des espèces telles que *Coelastrum microporum*, *Pediastrum duplex*, *Scenedesmus bicaudatus*, *Sphaerocystis planctonica*; ces Chlorophycées peuvent atteindre, en début de saison, 78.5% du total (03/06). A cette classe s'ajoute celle des Zygochloales (dont *Closterium gracile* – 4 800 cell./ml) de façon ponctuelle. Durant cette première période, les Cyanobactéries sont déjà présentes, mais il s'agit de minuscules colonies plates de *Merismopedia* (planche photos page 54), algue exigeante en lumière mais de faible biomasse.

Ce n'est qu'à partir de juillet qu'apparaissent les *Planktothrix agardhii* (accompagnés jusqu'en début août d'*Aphanizomenon*). Cette espèce culmine le 30/07 (36 000 cell./ml soit moins de la moitié qu'à Chemillé) et demeure dominante tout le reste de la saison.

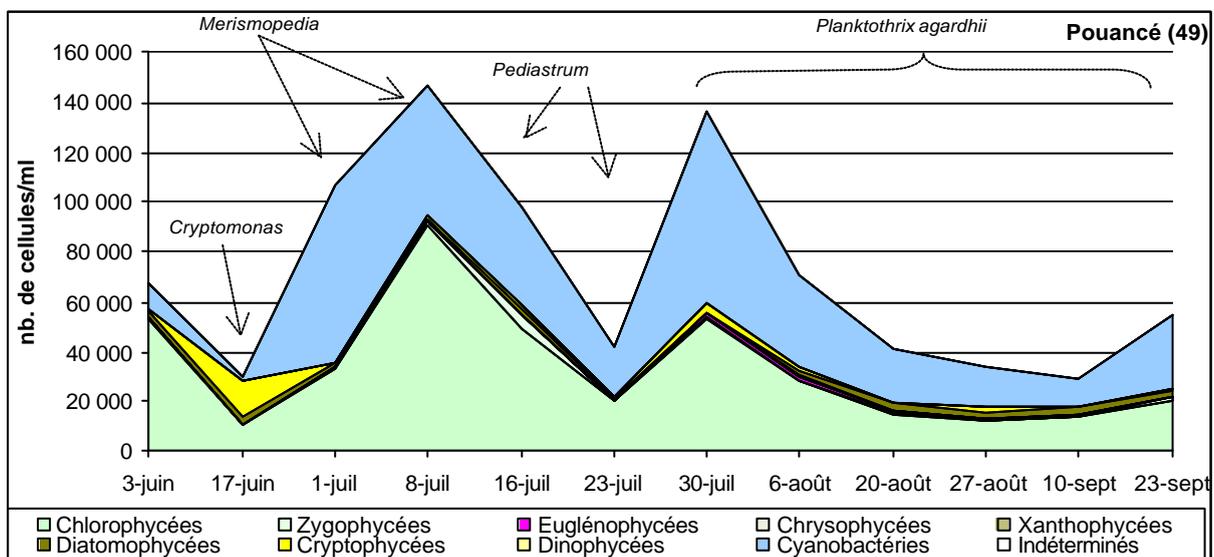


Fig. 3.2.2-1 : Succession algale à Pouancé, pendant la période estivale 2002.

Ce plan d'eau est caractérisé pendant cette période en 2002 par une compétition entre les Chlorophycées et les Cyanobactéries à des niveaux cellulaires inférieurs à 150 000 cellules par millilitre. Après une première période marquée par les algues vertes, prépondérantes en biomasse, l'étang bascule vers une configuration (*Planktothrix agardhii*), habituellement observée dans les eaux eutrophisées peu profondes en été.

3.2.3 Sites avec peu de cyanobactéries

Sous ce groupe se trouvent deux stations considérées comme plutôt pauvres en Cyanobactéries :

- Mézangers (53)
- Arnage (72)

3.2.3.1. Mézangers (53)

L'étang du Gué de Selle produit très peu d'algues (< 2 200 cell./ml) jusqu'au 22 juillet (Fig.3.2.3-1), avec un peuplement varié et relativement équilibré. Les six premiers échantillons montrent un certain équilibre parmi les différents groupes, avec une population de Chrysophycées très marquée en juin (*Ochromonas*), ce qui est une situation habituelle en milieu lacustre peu enrichi de printemps. Notons aussi la présence de la diatomée délicate *Acanthoceras zachariasii* (plus de 500 cell./ml le 15/07) rarement signalée.

La situation change radicalement à partir de la fin juillet, où, en une semaine, le peuplement algal est multiplié par dix, donnant lieu à une domination des formes filamenteuses, qui resteront dominantes jusqu'à la fin de la campagne.

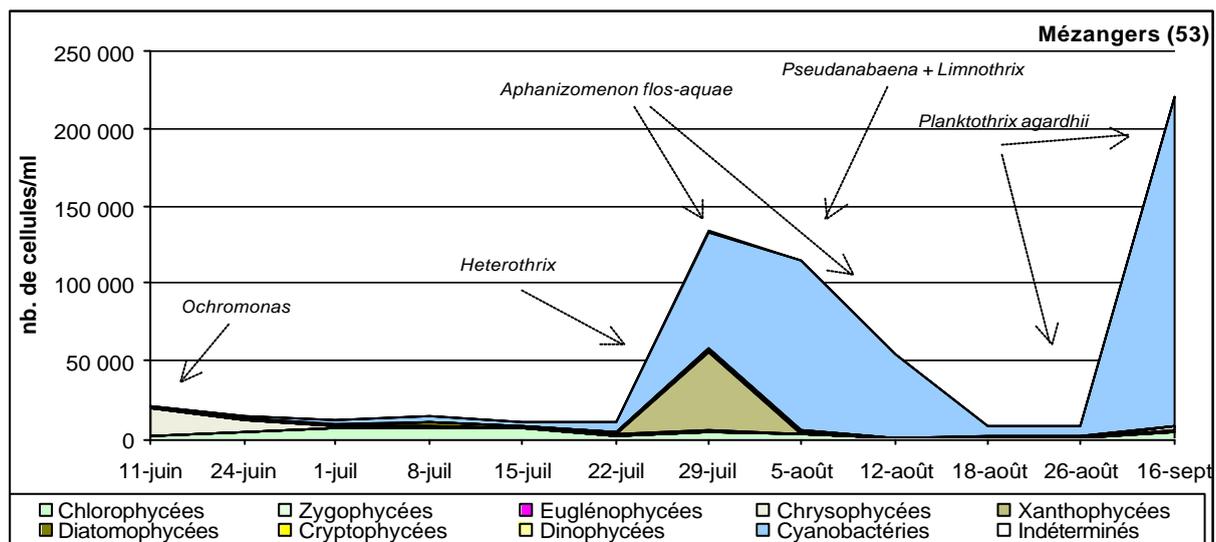


Fig. 3.2.3-1 : Succession algale à Mézangers, pendant la période estivale 2002.

La récolte du 29/07 marque ce changement avec, curieusement, l'apparition de la Xanthophycée *Heterothrix*, composée de quelques cellules pâles en enfilade. Ce genre est considéré comme colonisant habituellement les sols (ou les sédiments), et son émergence soudaine (ainsi que sa disparition) fait penser à un phénomène de ruissellement. Ceci pourrait d'ailleurs expliquer une arrivée de phosphore ayant pu favoriser le démarrage du pic algal, au bénéfice tout d'abord d'*Aphanizomenon flos-aquae* (27% le 29/07), qui reste présent jusqu'en septembre. Toutefois, d'autres Cyanobactéries filamenteuses alternent avec cette population, c'est le cas de *Pseudanabaena* (2 espèces très abondantes (52 500 cell./ml le 05/08, *P. limnetica* et *P. catenata*), mais aussi *Limnothrix planctonica* et, en plus, *Planktothrix agardhii*, dont le maximum (195 000 cell./ml) a lieu lors de la dernière récolte : il est difficile de dire si cette concentration aurait pu encore progresser.

Malgré cette bonne représentation de cyanobactéries (limite 100 000 cell./ml dépassé à deux reprises) jamais les concentrations en microcystines n'ont dépassé les seuils analytiques.

Mézangers se caractérise par des eaux pouvant être très chaudes (jusqu'à 28.2°C), et fortement alcalines, le pH atteignant 9.97.

3.2.3.2. Arnage

Suivi jusqu'à mi-novembre, le plan d'eau de la Gemerie à Arnage est l'une des stations ayant présenté le peuplement estival à la fois le moins concentré et le plus varié (Fig. 3.2.3-2). Pendant tout l'été la biomasse algale demeure très modeste, sans que la concentration cellulaire dépasse 16 000 cell./ml. Le développement phytoplanctonique ne devient significatif qu'ensuite, grâce surtout à une population de *Crucigenia tetrapedia* (planche photos page 54), dont les petites colonies plates dépassent 78 000 cell./ml.

La toute première particularité du phytoplancton d'Arnage est la très petite taille des cellules, couplée à l'assez faible quantité d'algues. Ceci est probablement à relier avec le taux de phosphore dont la moyenne (0.006 mgP/l) est la plus faible de toute l'étude. Cet élément nutritif jugule très probablement le développement algal.

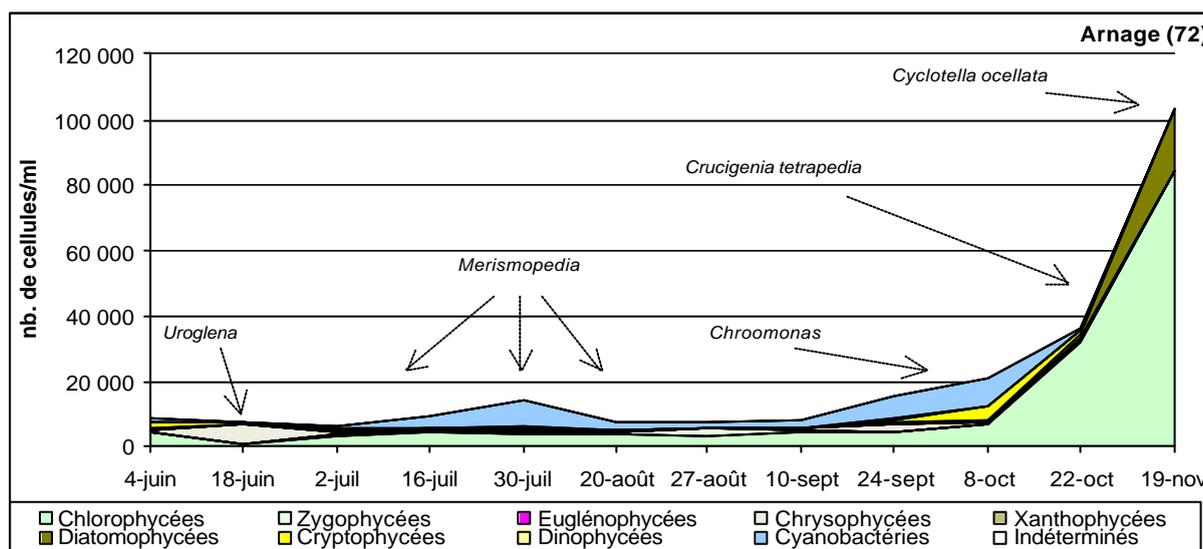


Fig. 3.2.3-2 : Succession algale au plan d'eau de la Gemerie à Arnage, pendant la période estivale 2002.

La succession saisonnière peut se retracer d'après les espèces dominantes des différentes classes, à savoir : *Uroglena*, Chrysophycée très abondantes le 18 juin (souvent les cellules sont disloquées des colonies, peut-être abîmées par le transport car ce sont des organismes fragiles); *Merismopedia*, minuscule forme coloniale qui est de loin la Cyanobactérie la mieux représentée en 2002, puis *Chroomonas*, Cryptophycée, unicellulaire flagellée plutôt lacustre, et *Crucigenia tetrapedia* (Chlorophycée déjà mentionnée). Cette dernière est accompagnée en novembre par la Diatomophycée assez typique de milieux lacustres, *Cyclotella ocellata* (Lange-Bertalot, 1991).

Les principales composantes algales de ce lac indiquent un milieu mésotrophe, légèrement brassé et avec une bonne pénétration de la lumière.

Les faibles concentrations pigmentaires entraînent des taux de chlorophylle *a* qui restent toujours en dessous de 43 µg/l. Comme les cyanobactéries n'ont jamais dépassé 8 500 cell./ml, à aucun moment un dosage de toxines n'a été envisagé.

Un comportement assez proche de celui-ci est observé à Tuffé, un autre plan d'eau de la Sarthe, même si les effectifs moyens y sont un peu plus élevés (ce que les maximas de chlorophylle ne repercutent pas). Ici encore, différents groupes d'algues s'expriment, avec des biomasses non négligeables pour les algues vertes. Lorsque les Cyanobactéries émergent, elles sont de très petite taille et à connotation mésotrophe (*Aphanocapsa* et *Merismopedia*).

3.3 SYNTHÈSE SUR LES ALGUES

Le premier groupe des sites étudiés nous apprend que lorsque le milieu est extrêmement productif, c'est surtout la Cyanobactérie *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriale) qui s'impose. Cette algue est très consommatrice d'azote et de phosphore. Elle s'adapte aux milieux bien mélangés, même s'ils sont turbides (Oliver & Ganf, 2000), c'est une spécialiste des milieux peu lumineux (Scheffer & al., 1997). Ces conditions sont sans doute remplies en permanence à Marcillé Robert et à St. Denis du Maine. Les éléments nutritifs peuvent arriver par l'extérieur (arrivée de cours d'eau, ruissellement...) mais peuvent aussi être endogènes. Dans des milieux peu profonds, destratifiés, soumis aux vents notamment, des «pulses» d'azote et de phosphore peuvent être relargués fréquemment par le sédiment dans la colonne d'eau, suppléant ainsi de façon régulière les besoins de *Planktothrix agardhii* (Mischke & Nixdorf, sous presse) et permettent des productions extrêmement élevées (jusqu'à 4.5 millions de cellules /ml à Nantes, Fig. 3.1-2b). Si *Planktothrix agardhii* s'impose en début de cycle saisonnier, elle crée un effet d'ombrage (self-shading) qu'elle est la seule à pouvoir supporter. Les autres algues du phytoplancton, plus exigeantes en énergie lumineuse, se trouvent alors extrêmement pénalisées.

Cette dominance peut ne pas être permanente, comme le montre le cas de La Sienne (14) où, malgré un pic en août de *Planktothrix*, c'est une Cyanobactérie coloniale qui se développe dans le milieu entre septembre et novembre : il s'agit de *Woronichinia naegeliana* beaucoup moins exigeante en nutriments (épilimnions mésotrophes d'été - automne) préférant des eaux plutôt stratifiées (Reynolds & al., 2002).

Les conditions de mélange pourraient être moins stables à St. Laurent, où *Planktothrix agardhii* alterne avec *Aphanizomenon flos-aquae* et *Anabaena circinalis* (Nostocales), espèces hétérocystées moins exigeantes sur le plan trophique et qui peuvent s'affranchir de l'azote dissous. Il est même possible que lorsque ces Nostocales se lysent, la mise en solution (recyclage) de leurs azote et phosphate puisse à nouveau favoriser *Planktothrix*, marquant ainsi une alternance d'espèces (Mischke & Nixdorf, sous presse).

Quoi qu'il en soit, cet ensemble de cyanobactéries filamenteuses est caractéristique du même type de milieux, peu profonds, riches en azote et phosphore et peu vulnérables au broutage (Reynolds & al., 2002). Toutefois, il convient de signaler que la sélection de formes cylindriques est intéressante, car le filament est une excellente antenne de lumière tout en présentant un bon pouvoir de résistance contre la sédimentation (Padisak & al., sous presse). C'est ainsi que dans des stations moins eutrophisées (Mézangers) nous assistons à l'émergence d'autres cyanobactéries filamenteuses (*Pseudanabaena*, *Limnothrix*), mais dont les besoins nutritifs sont plus réduits.

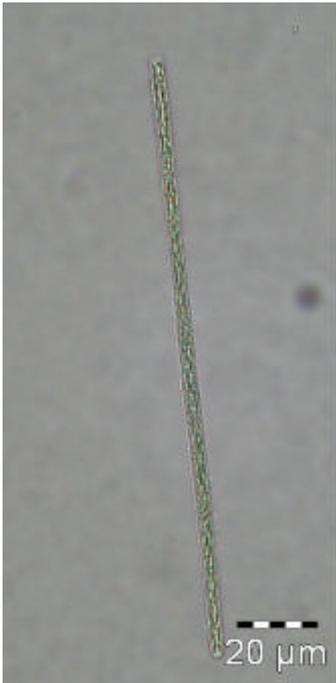
A des stades trophiques variables, la participation d'autres algues peu ou non avoir lieu, sachant que les plus observées au cours de l'étude sont les algues vertes. Il s'agit le plus souvent de Chlorococcales, typiques de milieux peu profonds très enrichis et lumineux. Ne possédant pas de structures leur permettant de se déplacer (flagelles, vacuoles particulières), elles craignent toutefois la stagnation complète, qui les fait sédimenter. Elles bénéficient de la turbulences naturelle du milieu (créée par le vent, les contrastes de températures jour / nuit...) pour se maintenir dans la colonne d'eau.

Cette prépondérance d'algues vertes et de Cyanobactéries est très courante sous nos latitudes en période estivale, et l'exception vient plutôt de certains milieux (Mézangers, Arnage) où d'autres classes s'expriment, telles que les Chrysophycées ou les Xanthophycées.

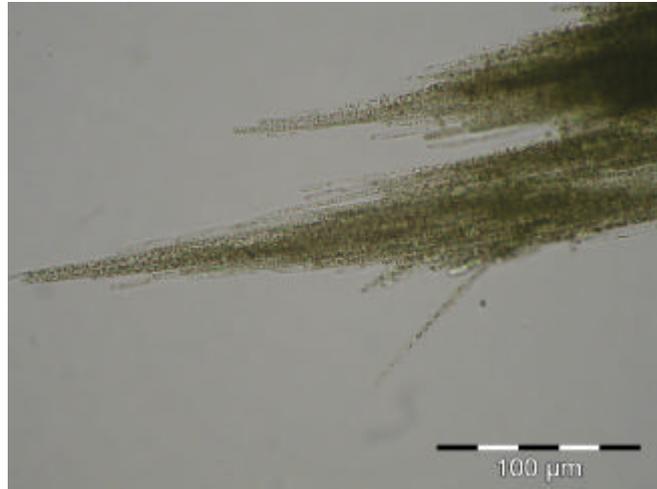
De toutes les stations, Arnage est celle qui a montré une configuration phytoplanctonique qui est assurément l'une des plus équilibrées. En raison des apports nutritifs réduits, la taille des cellules est faible, ce qui favorise l'existence d'un zooplancton herbivore. Celui-ci pourrait brouter régulièrement les populations en place, contribuant ainsi à un remplacement des communautés algales et à une régulation de la biomasse globale.

Quelques algues (cyanobactéries et autres)
rencontrées lors de l'étude

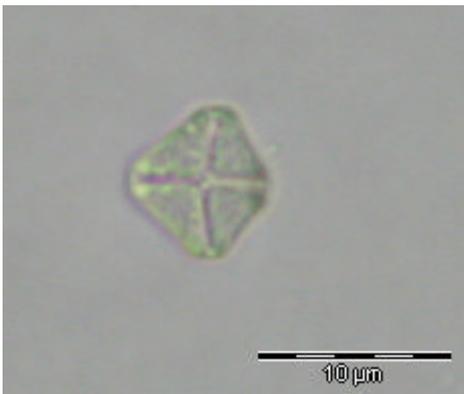
Photos Bi-Eau



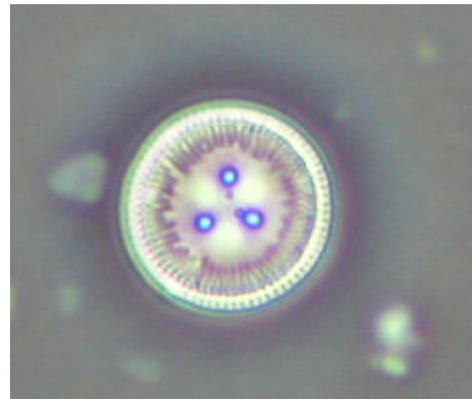
Planktothrix (Cyanobactérie)



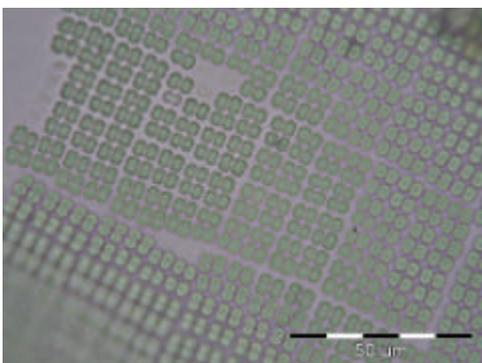
Aphanizomenon (Cyanobactérie)



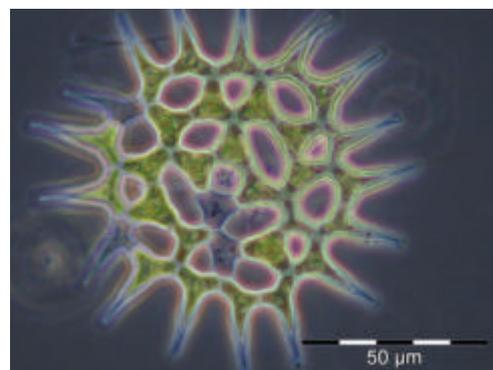
Crucigenia (Chlorophycée)



Cyclotella (Diatomophycée)



Merismopedia (Cyanobactérie)



Pediastrum (Chlorophycée)

4. DISCUSSION

4.1 INTERETS ET LIMITES DU PROTOCOLE

Avant de discuter des principaux résultats issus de ce travail et d'en dégager des perspectives, il est nécessaire de rappeler les raisons des choix initiaux, puis les contraintes rencontrées dans le déroulement du protocole.

4.1.1 Choix des sites

Chaque DDASS a choisi les sites retenus pour son département, selon des critères divers. Des biais ont pu ainsi être introduits, notamment celui consistant à ne choisir que des sites repérés comme « à risques ».

Si le choix a été équilibré entre les plans d'eau servant aux baignades et ceux servant à la production d'eau potable il ne l'a pas été au niveau des populations algales. Il ressort de cette étude que tous les sites sauf un ont été confrontés à des développements de cyanobactéries. Cette situation vient conforter le rapport de la DIREN Bretagne où plus de 92 % des sites (52 prises d'eau sur les 110 potentiels) en 2001 ont montré la présence des cyanobactéries.

4.1.1.1 Fiche signalétique du plan d'eau et de son bassin versant

Chaque site devait faire l'objet d'une caractérisation, renseignée à travers une fiche dite signalétique du plan d'eau et du bassin versant (page 20).

Le manque d'appropriation par les acteurs de terrain, la période de congé et les associations avec des partenaires extérieurs aux services n'ont pas facilité la mise en œuvre de cette fiche signalétique. Le plan d'eau est dépendant de son bassin versant et il nous paraissait important de connaître les exportations de nutriments, composante essentielle quant à la qualité du réservoir. Les DDASS ne disposent pas toujours des données qui étaient nécessaires à la connaissance des bassins versants (pertes d'azote et phosphore par ha) et des plans d'eau (profondeur, temps de renouvellement, morphologie) sauf lorsque des études spécifiques ont été réalisées. C'est le cas notamment si la prise d'eau a fait l'objet d'études préalables dans le cadre de la mise en œuvre de périmètres de protection. Ces données auraient intérêt à être généralisées et intégrées dans une base de données. Elles auraient permis :

- de différencier les plans d'eau alimentés par nappe ou par rivière pour mieux identifier les ressources nutritives et leurs fréquences afin d'estimer les actions envisageables.
- de mesurer l'impact des tributaires (affluents, pré-retenues, étangs) qui peuvent inoculer en algues le plan d'eau principal.

4.1.2. Choix des paramètres

Plusieurs types de paramètres devaient être collectés pour contribuer à l'étude : des données météorologiques, des paramètres de description des eaux (visuels et physico-chimiques) et des mesures des algues présentes au cours de la période d'étude.

4.1.2.1 Conditions de prélèvement

Lors des prélèvements, le préleveur relève sur la *fiche de prélèvement* (page 22) les conditions dans lesquelles le prélèvement a eu lieu (date et heure du prélèvement, pH et transparence de l'eau...).

De plus, des données météorologiques quotidiennes sont relevées par les exploitants des différents sites sur la *fiche suivi* (page 19).

4.1.2.2 Données météorologiques

Certains paramètres identifiés dans la bibliographie comme pouvant contribuer à comprendre les développements algaux, théoriquement introduits dans le protocole initial de l'étude, n'ont finalement pas été très pertinents : en effet, les données relatives au vent et à l'ensoleillement n'ont pu être obtenues à proximité des plans d'eau dans plusieurs départements, compte tenu de la répartition géographique des postes de mesure de Météo-France.

Cela n'a pas permis d'exploiter ces données pleinement sur le plan statistique et un effort de mise en place de stations automatiques d'acquisition de données météorologiques semble nécessaire.

Ce manque est dommageable dans la mesure où l'hétérogénéité de la répartition spatio-temporelle de ces algues bleues implique de prendre en compte la direction et la vitesse du vent, de façon à situer les prélèvements vis à vis de ces données climatiques afin de pouvoir estimer si la biomasse algale mesurée était issue d'une zone de réelle production ou d'une zone d'accumulation.

4.1.2.3 Observations de l'eau

Elles se limitaient à la couleur de l'eau et à son aspect, et plus particulièrement au repérage de ces formations à la surface de l'eau qu'on appelle écume (« scums » chez les anglo-saxons).

Ces informations n'ont pas pu être obtenues de manière satisfaisante par tous les acteurs sur le terrain. De ce fait, l'exploitation statistique ultérieure des quelques données collectées n'a pas été possible.

4.1.2.4 Azote et phosphore

Les paramètres azote (Kjeldhal et nitrates) et phosphore total n'ont été analysés que sur quelques plans d'eau et rendent de ce fait les interprétations difficiles.

Malgré la programmation de ces paramètres dans le protocole initial, leur analyse a parfois été annulée pour des raisons financières.

La bibliographie démontre depuis longtemps que le phosphore dans les eaux est souvent le facteur limitant pour les algues et que l'azote ne l'est pas pour certaines espèces fixatrices d'azote sous forme gazeuse. L'idéal pour étudier l'impact des ces deux éléments aurait été d'échantillonner dans la colonne d'eau (notamment près de la thermocline dans les plans d'eau assez profonds) et sur une période plus longue (6 mois).

4.1.2.5 Chlorophylle

La chlorophylle a est un composé organique qui évolue dans la cellule en fonction du milieu, c'est un indicateur de biomasse algale global, non discriminant entre les différents groupes d'algues. Il répond à la charge nutritive, c'est pourquoi il est utilisé pour classer les plans d'eau en fonction de leur niveau trophique.

Les données de ce paramètre sont accessibles pour tous les échantillons. C'est un paramètre facile à mesurer, peu onéreux. Il est intégré de longue date par l'OCDE (1982), figure dans les recommandations OMS concernant les cyanobactéries (1999) et a été repris par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France dans son avis transmis par la circulaire du 4 juin 2003 relative aux zones de baignades et loisirs nautiques.

4.1.2.6 Dénombrement

Le dénombrement des algues a fait l'objet d'une inter-calibration entre les deux laboratoires du fait de l'utilisation de deux techniques, l'une par microscopie inverse et cuve à sédimentation et l'autre par microscopie directe et cellules à numération de type Nageotte.

L'étude statistique, limitée par le faible nombre de comptages en double, indique toutefois un coefficient de concordance suffisant pour ne pas différencier les résultats entre les deux entités. Les comptages ont été réalisés sur tous les échantillons, à l'exception des écumes.

4.1.2.7 Microcystines

Les deux techniques utilisées par le laboratoire de l'Université de Rennes I diffèrent par leur seuil de détection et leur expression. Le test ELISA a été utilisé pour l'eau potable sur la fraction soluble avec des résultats exprimés en équivalent de microcystine LR, et l'HPLC et pour les eaux brutes sur la fraction particulaire dont les résultats sont exprimés en microcystine LR et en équivalent microcystine LR par addition de tous les pics.

L'interprétation des résultats a été difficile sur le plan statistique notamment par l'absence de recherche de toxine sur quelques échantillons pourtant supérieurs à 100 000 cellules par mL.

Données disponibles par site et par variable

id	chloro	micro LR	micro eq, LR	azote	phosphore	nitrates	temps depot	frequentation	temp eau	temp air	pH	transparence	o2
141	100,00%	68,42%	68,42%	0,00%	0,00%	0,00%	94,74%	/	78,95%	84,21%	84,21%	94,74%	94,74%
221	92,31%	76,92%	76,92%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	/	100,00%	53,85%	100,00%	53,85%	46,15%
222	92,31%	61,54%	61,54%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	/	100,00%	53,85%	100,00%	53,85%	53,85%
223	100,00%	27,27%	27,27%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	/	100,00%	54,55%	100,00%	18,18%	18,18%
224	93,33%	46,67%	46,67%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	/	100,00%	66,67%	100,00%	60,00%	80,00%
351	100,00%	33,33%	33,33%	0,00%	0,00%	0,00%	83,33%	83,33%	91,67%	91,67%	91,67%	83,33%	8,33%
352	100,00%	83,33%	83,33%	0,00%	0,00%	0,00%	75,00%	75,00%	83,33%	83,33%	91,67%	83,33%	8,33%
353	100,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%	70,00%	70,00%	80,00%	80,00%	90,00%	70,00%	10,00%
441	100,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%	28,57%	/	57,14%	57,14%	42,86%	0,00%	28,57%
442	100,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%	38,46%	69,23%	84,62%	84,62%	53,85%	69,23%	53,85%
443	100,00%	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	0,00%	60,00%	/	60,00%	0,00%	0,00%	60,00%	0,00%
491	92,31%	23,08%	23,08%	15,38%	15,38%	7,69%	92,31%	92,31%	92,31%	92,31%	61,54%	92,31%	0,00%
492	100,00%	50,00%	50,00%	25,00%	25,00%	8,33%	83,33%	83,33%	83,33%	83,33%	50,00%	83,33%	0,00%
493	100,00%	66,67%	66,67%	8,33%	8,33%	0,00%	91,67%	91,67%	83,33%	91,67%	50,00%	91,67%	0,00%
501	100,00%	83,33%	83,33%	83,33%	83,33%	77,78%	94,44%	/	94,44%	94,44%	94,44%	88,89%	50,00%
502	100,00%	58,82%	58,82%	88,24%	94,12%	88,24%	100,00%	/	100,00%	100,00%	94,12%	82,35%	41,18%
531	100,00%	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	83,33%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
532	100,00%	25,00%	25,00%	100,00%	100,00%	83,33%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
533	100,00%	83,33%	83,33%	100,00%	100,00%	83,33%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
721	100,00%	0,00%	0,00%	91,67%	91,67%	75,00%	100,00%	100,00%	91,67%	50,00%	75,00%	75,00%	75,00%
722	100,00%	11,11%	11,11%	100,00%	100,00%	77,78%	100,00%	100,00%	66,67%	55,56%	66,67%	66,67%	66,67%

Tableau 4.1.1 : récapitulatif des données en % recueillies lors de cette étude, au regard de ce qui était prévu initialement.

Quelques plans d'eau ont été traités par un algicide. Il aurait été intéressant pour ces derniers d'effectuer un suivi intégrant les fractions solubles et particulaires de l'eau avant et après l'application du produit.

Les valeurs de microcystine trouvées dans cette étude sont dans le même ordre de grandeur que celles figurant dans le rapport DIREN Bretagne(Luc Brient) en 2001 : évaluation des efflorescences à cyanobactéries dans les cours d'eau et plans d'eau bretons.

4.1.3 Ecart entre le protocole initial et les données collectées

Le tableau précédent 4.1.1 indique le taux de collecte observé pour chaque type de données mentionnées dans le protocole initial. Il montre que, si de très gros efforts ont été consentis par l'ensemble des partenaires impliqués dans la réalisation de l'étude, le taux global d'exhaustivité est de 75 % pour l'ensemble des informations souhaitées.

4.2 DISCUSSION DES RESULTATS

4.2.1 Echantillonnage

4.2.1.1. La fréquence

La fréquence d'échantillonnage a été définie sur la base d'un pas de temps de 15 jours et devenait hebdomadaire au niveau 2 proposé par Chorus & Bartram (1999). Lorsque l'échantillon approchait le niveau 2 (100 000 cell./ml – Fig. 4.2-1) un autre prélèvement était réalisé dans les 3 jours (si possible), afin de confirmer ou non la possibilité de restriction des activités. Malgré la disponibilité que ce dispositif exige, il visait à contrecarrer les aléas de l'échantillonnage lors d'un premier dépassement de seuil critique.

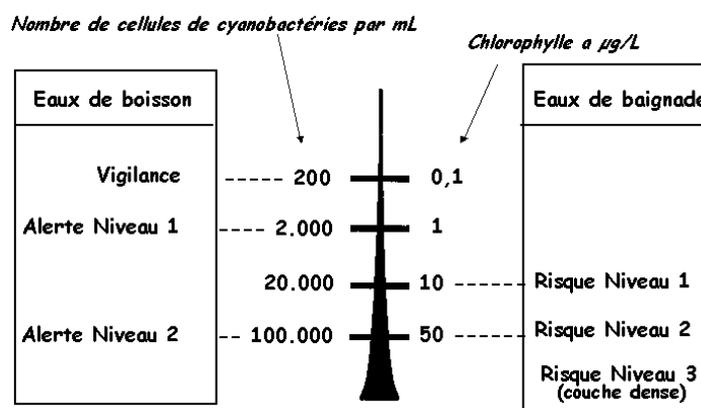


Fig 4.2-1 : Arbre décisionnel publié au nom de l'OMS (1999) par I. Chorus et J. Bartram

Les résultats des analyses ont été transmis par courriel à chaque DDASS dans un délai (après réception des échantillons), de 48 h pour les analyses algales et de 5 jours pour les recherches de

microcystine. Les prélèvements étaient faits les lundi et mardi, les résultats étaient transmis le jeudi au plus tard, ce qui laissait 24 h pour une intervention des services des DDASS. Dans certains cas de proximité avec le laboratoire de l'Université de Rennes, ces délais ont pu être raccourcis.

4.2.1.2 Les modalités de prélèvements

Dans les baignades, deux techniques d'échantillonnage ont été utilisées : homogénéisation préalable ou tube de 1 mètre (voir chapitre « méthodes»). Signalons cependant qu'aucune de ces techniques ne révèle le risque maximal de toxicité, particulièrement lorsque des écumes s'accumulent en bordure.

Hétérogénéité spatiale

Le Lac au Duc à Ploërmel (56) illustre la difficulté du choix d'un point d'échantillonnage, car les cyanobactéries se répartissent souvent de façon très hétérogène. Les deux points représentés dans les figures 4.2-2 et 4.2-3 sont distants de plus de 500 m, l'un dans la zone de baignade et l'autre vers le centre du lac à proximité de la prise d'eau. L'écart des concentrations cellulaires observé entre ces deux stations, pour la même période, oblige à s'interroger sur la représentativité d'un échantillon et son impossible extrapolation à l'ensemble du lac.

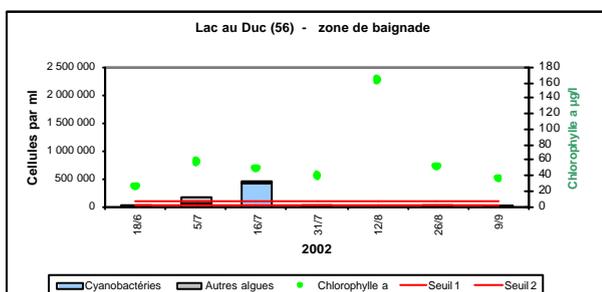


Figure 4.2-2. Evolution des algues à la prise d'eau

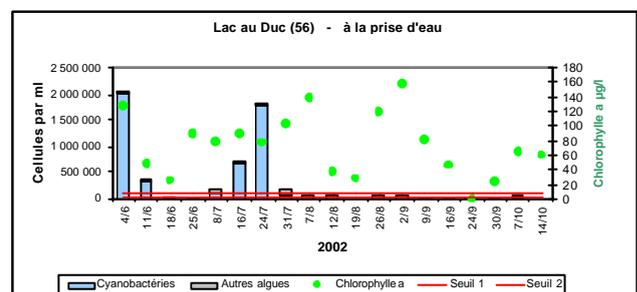


Figure 4.2-3. Evolution des algues dans la zone de baignade

Dans les plans d'eau servant à la production d'eau potable, la procédure de prélèvement était conforme au contrôle sanitaire, c'est-à-dire au point le plus proche de la filière de traitement (robinet usine). Ce point représente l'eau qui rentre dans l'usine et il est utilisé pour tous les prélèvements de contrôle sanitaire et de surveillance par l'exploitant. Cependant, il n'a pas forcément la même composition algale que le reste du plan d'eau, car la zone de pompage se trouve bien souvent en profondeur et en bordure. Au cours de cette étude, aucune comparaison n'a été testée entre les résultats d'un prélèvement au robinet « usine » et d'autres prélèvements faits dans des points variés (surface, fond, bordure, milieu lac...).

La mise en œuvre de cette comparaison nécessitait des moyens particuliers difficilement mobilisables dans le cadre de l'étude.

4.2.2 DENOMBREMENT

Le dénombrement des algues a été le seul critère décisionnel utilisé en 2002 (propositions pour l'OMS, 1999 - Fig. 4.2-1) dans la gestion du risque, sans prendre en considération l'autre paramètre suggéré qu'est la chlorophylle *a*. Dans le cadre de cette étude, le travail statistique de comparaison entre la biomasse cyanobactérienne et cet indicateur pigmentaire a indiqué un coefficient de corrélation aux alentours de 0,5. Cette corrélation est moyenne d'un point de vue statistique mais peut être considérée comme satisfaisante pour une étude de terrain. La présence importante d'autres classes d'algues sans présence de cyanobactéries explique certains résultats où la concentration de chlorophylle est forte.

Le comptage des cyanobactéries est parfois controversé (long, imprécis, compliqué...) notamment lorsqu'une forte hétérogénéité du milieu est constatée (photo 1). Les dénombrements détaillés ont cependant, dans cette étude, permis de caractériser les sites et cette technique apparaît comme complémentaire à celle des dosages des pigments. Les deux méthodes abordent, de façon partielle, le degré de développement des Cyanobactéries : la chlorophylle s'axant davantage sur la biomasse algale présente (d'autres groupes d'algues inclus), tandis que le dénombrement permet de spécifier la part réelle des Cyanobactéries ainsi que leur composition (au moins générique), ce qui apporte une information d'ordre écologique indéniable.

Selon la bibliographie (dont Chorus & Bartram, 1999), le meilleur moyen d'approcher la biomasse réelle des Cyanobactéries seules, est de mesurer le biovolume des espèces rencontrées, ce qui donne un accès direct à leur « poids frais » en intégrant à la fois le nombre de cellules et leurs dimensions. Cette technique est cependant un exercice long et assez difficile, réalisé généralement par des équipes de recherche.



photo 1 : Disque de Secchi dans l'Erdre (44)



photo 2: Accumulation de cyanobactéries sur les berges – photos luc brient

4.2.3 Analyses des toxines

Il ressort de cette étude que seulement 5 plans d'eau sur les 26 n'ont pas produit de microcystines et que la situation de déséquilibre de nature écologique dans le grand Ouest de la France est une réalité. Cela confirme l'étude de la DIREN Bretagne montrant 73 % des sites contaminés sur les 52 plans d'eau examinés. Ces pourcentages cadrent avec d'autres études internationales situant les taux entre 50 et 70 % de sites à cyanobactéries. Le même constat est fait avec les valeurs de microcystine.

4.3 PRINCIPAUX ENSEIGNEMENTS DE CETTE ETUDE

Trois axes doivent être dégagés pour analyser les résultats obtenus dans le cadre de cette étude et réfléchir aux perspectives sur lesquelles elle débouche :

- les informations de nature scientifique relatives à l'écologie des plans d'eau,
- les informations de nature scientifique relatives aux risques sanitaires,
- les informations applicables à la gestion des plans d'eau pour limiter les risques sanitaires.

C'est pourquoi, la discussion des résultats obtenus dans cette étude portera d'abord sur les indicateurs de conditions pouvant favoriser les proliférations de cyanobactéries, puis sur les indicateurs de conditions propres à favoriser la présence de microcystine dans les eaux.

4.3.1 Au regard des proliférations de cyanobactéries

4.3.1.1 Diversité des sites

Les 26 sites inclus dans cette étude ont eu des comportements différents au regard de leur productivité algale durant la période allant de mai à décembre 2002, permettant de dégager un certain nombre de pistes de réflexion intéressantes.

Globalement, les résultats montrent que plus la biomasse algale totale est élevée durant cette période, plus les teneurs en cyanobactéries le sont. Cette conclusion est en partie imputable à deux aspects de l'étude : d'une part le choix des stations n'a pas été anodin, car les sites sélectionnés étaient connus comme ayant un niveau trophique élevé (4.1.1 page 59) et d'autre part parce que l'été est, pour la grande majorité des espèces, la période la plus propice au développement des cyanobactéries.

4.3.1.2 Caractéristiques des plans d'eau

Parmi les facteurs intrinsèques liés aux plans d'eau ayant pu être renseignés lors de l'étude, les composantes « volume » et « âge » ressortent comme pouvant influencer le risque de voir des cyanobactéries se développer en quantité importante : plus le volume du plan d'eau est important et l'âge depuis la première mise en eau faible, moins les proliférations de cyanobactéries semblent devoir être redoutées ; à l'inverse, plus le volume du plan d'eau est faible et son âge élevé, plus il semble pouvoir être le siège de ces proliférations.

Ces composantes sont probablement intégratives d'autres paramètres qui n'ont pu être testés dans cette étude, car insuffisamment renseignés, comme la hauteur de l'eau (favorable ou pas à une stratification), le renouvellement des eaux en période estivale, l'envasement, ...

Dans le cadre de cette étude, il faut rappeler que la méthode d'échantillonnage utilisée dans la plupart des sites à usage d'eau potable (volume important) a été au niveau du pompage, lequel se situe en général à quelques mètres sous la surface, ce qui draine probablement un peuplement algal moins concentré que celui du premier mètre, zone utilisée systématiquement dans les baignades.

4.3.1.3 Observation de l'eau

La notion de couleur, de formation d'efflorescence ou d'écume n'a pas été l'élément déterminant dans la gestion de risque, selon certaines DDASS impliquées. Le respect de ces critères aurait conduit à ne pas agir, alors que le nombre de cyanobactéries était supérieur à plus de 100 000 cellules par mL : l'observation visuelle semble donc sous-estimer la concentration en cyanobactéries.

Etant donné le critère subjectif de ces notions de couleur ou d'aspect, une information orientée (plaquette par exemple) sur la « sensibilisation écologique » du milieu naturel pourrait être utile pour les gestionnaires de plan d'eau. Les formations adressées aux animateurs d'activités nautiques ou de baignades pourraient aussi intégrer ces notions d'environnement via les services de Jeunesse et Sports par exemple.

4.3.1.4 Teneurs en chlorophylle a et en nutriments

Les teneurs en chlorophylle a associées aux proliférations de cyanobactéries sont supérieures à celles prédites dans les recommandations faites pour l'OMS (Chorus & Bartram, 1999). Il faut rappeler que la relation classique « 20 000 cell. Cyanobactéries/mL = 10µg chlorophylle a /L » est une valeur indicative, calculée à partir de relations moyennes obtenues le plus souvent dans des cultures monospécifiques en laboratoire. Dans le milieu naturel le phytoplancton est rarement constitué d'une seule espèce, et parmi les échantillons de cette étude, un bon nombre montraient un cortège constitué aussi d'autres classes, qui contribuent, de façon indéniable, à la concentration chlorophyllienne.

Cet écart sensible entre les 2 approches constitue une donnée intéressante qui mérite d'être prise en compte dans le cadre d'une surveillance rapprochée des sites.

En ce qui concerne le phosphore, les valeurs observées sur les plans d'eau ayant fait l'objet d'analyses, sont globalement élevées. De ce fait, et bien qu'une association se dégage des ACM entre cette teneur en phosphore total et les valeurs fortes de cyanobactéries, aucun modèle statistiquement significatif ne peut être dégagé.

4.3.1.5 Influence des conditions météorologiques

Parmi les paramètres analysés, seules les températures quotidiennes de l'air et l'insolation sont corrélées avec l'abondance des cyanobactéries : ainsi, la relation est significative avec la somme des températures minimales au cours des 3 à 5 jours précédant le prélèvement ; elle l'est également avec la somme des températures maximales au cours des 5 à 10 jours précédant le prélèvement ; elle l'est encore avec la somme des rayonnements globaux journaliers cumulés au cours des 2 à 10 jours précédant le prélèvement. En ordre d'importance, c'est le rayonnement qui explique le mieux la variabilité des concentrations en cyanobactéries.

4.3.2 au regard des productions de microcystines

4.3.2.1 Lien avec les cyanobactéries

La relation pouvant exister entre les proliférations de cyanobactéries et les teneurs en microcystine est particulièrement importante à étudier.

Dans les conditions de réalisation de cette étude, il apparaît que :

- **Les plus fortes teneurs en cyanobactéries sont bien associées aux plus grandes concentrations et fréquences de microcystines.**
- **En revanche, des teneurs moyennes en cyanobactéries peuvent être ou non associées à la présence des microcystines.**
- **Quand les cyanobactéries sont en faible quantité, les microcystines sont très rarement présentes.**

La relation entre ces deux paramètres est complexe. Plusieurs hypothèses sont actuellement testées dans le monde entier, par des équipes de recherche. Elles visent à répondre à des questions telles que : les mécanismes induisant la production de toxines par les cellules ; les raisons de la dégradation cellulaire (mort programmée, parasitisme par les virus, broutage, stress...) ; le vecteur de migration des toxines vers le milieu ; les facteurs conditionnant la rémanence de la microcystine dans l'eau (caractéristiques physico-chimiques, dégradation bactérienne...), etc...

De ce fait, un échantillon pourrait contenir des cellules de cyanobactéries dégradées et donc non identifiables, non comptées sous forme de matière en suspension, mais contenir de la microcystine (Travaux de Luc Brient sur Châtillon en Vendelais (35) en 2001 où, pendant cinq semaines, il y a eu forte présence de microcystines sans qu'aucune cellule de cyanobactérie ne soit observable au microscope).

Le traitement statistique a aussi mis en relief un comportement antagoniste entre les dinophycées et les cyanobactéries (dans notre étude il s'agit très souvent de *Planktothrix*). Ainsi, lorsque des dinophycées contribuent significativement à un peuplement, celui-ci présente en général peu de cyanobactéries : les premières sont très performantes dans des milieux stratifiés, même s'il y a une ségrégation (spatiale et/ou temporelle) importante de nutriments (Reynolds & al., 2002), tandis que les dernières (et *Planktothrix* en particulier) peuvent mieux supporter des conditions de mélange et d'homogénéisation des ressources.

Le tableau 4-3-1 page 67 indique la présence des genres majoritaires et de microcystine. Ces genres sont : Micro - *Microcystis* ; Limno - *Limnothrix*, Plank - *Planktothrix*, Apha - *Aphanizomenon*, Coelo - *Coelomoron*, Ana - *Anabaena*, Aphano - *Aphanocapsa*, Oscil - *Oscillatoria*.

Si l'on se réfère à la dominance des cyanobactéries et à la bibliographie, deux enseignements peuvent être exploités : celui de la non détection de microcystine LR chez l'espèce *Planktothrix agardhii* et la présence de microcystine avec *Aphanizomenon flos aquae* sur l'étang de Martigné Ferchaud (35) alors que cette espèce n'est pas répertoriée comme étant une productrice de microcystine dans la littérature mais plutôt de neurotoxine. Dans ce plan d'eau servant aux activités récréatives, cette espèce est détectée à partir du premier prélèvement, soit le 4 juillet avec plus de 3 millions de cellules par ml et pendant plus de 4 semaines avec une faible présence de *Microcystis aeruginosa* (20 000 cellules /ml).

Cet exemple montre que l'on peut être en présence d'une accumulation d'une espèce (*Aphanizomenon flos-aquae*) non productrice de microcystine, mais avec un résultat analytique positif, dû à une autre espèce très minoritaire. On peut envisager que l'espèce minoritaire (en l'occurrence *Microcystis aeruginosa*), est celle qui apporte la toxine dans ce plan d'eau. Ce cas de figure n'est pas le premier enregistré sur les suivis des plans d'eau de l'Ouest de France.

Cela indique que la gestion du risque ne peut pas être évaluée seulement vis à vis de l'espèce de Cyanobactérie dominante mais sur la composition globale des genres (voire des espèces).

Tableau 4.3.1 Mise en évidence des genres en relation avec les microcystines.

			Nbre d'échant. > 100 000 Cell Cyano/ ml		Nbre d'échant. > 50 µg/l Chlorophylle a	Microcystine		Genres incriminées	
Commune	Lieu	Usage	Dépt.	> 100 000	> 50	Nbre de positifs	Valeur maxi µg/l	Par la MYC LR	Par les Autres microcystines
Nantes *	La Jonelière Erdre	Act. nautique	44	13	10	13	51.02	Micro, Ana	Plankto, Limno, Coelo
St Denis du Maine	Plan d'eau de la Chesnaie	Baignade	53	10	0	8	2.87	Ana	Plankto
Bobital	Bobital	AEP	22	9	0	5	3.28	Micro, Limno,	Plankto,
Martigné Ferchaud *	Etang	Baignade	35	9	12	9	20.15	Apha,	Plankto, Micro
Ploërmel	Lac au Duc	AEP	56	9	15	6	12.58	Coelo, Apha, Limno, Micro,	Coelo, Apha, Limno, Micro,
Marcillé Robert *	Etang	Baignade	35	9	4	10	3.57	Aphan, Aphanoc, Ana,	Aphan, Aphanoc, Ana,
Saint Lo	Semilly	AEP	50	6	0	5	13.51	Micro, Ana,	Micro, Ana,
Guérande	Etang de Sandun	AEP	44	6	6	5	2.36	-	Aphanoc, Coelo
St Michel Chef/Chef	Etang des Gatineaux	AEP	44	4	1	4	2.12	Apha, Micro, Aphanoc	Apha, Micro, Aphanoc
St Laurent de Terregatte	Sélune	AEP	50	4	8	3	3.22	-	Plank,
Châtillon en Vendelais *	Etang	Baignade	35	3	10	1	8.48	Micro, Oscil,	Micro, Oscil,
Le Gast	Retenue du Gast	AEP	14	2	4	7	2.72	-	Aph, Ana, Woron
Apremont	Barrage d'Apremont	AEP	85	2	0	3	0.1	-	Plank,
Pouancé *	Etang St Aubin	Baignade	49	0	3	5	10.0	Ana, Micro,	Apha, Plank
Chemillé *	Melay Coulvée	Baignade	49	1	5	4	2.22	-	Plank, Aphanoc,
Mézangers	Etang du Gué de Selle	Baignade	53	2	0	2	1.25	-	Apha,
Angers *	Lac de Maine	Baignade	49	1	0	1	1.48	-	Ana, Apha,
Ploërmel	Lac au Duc	Baignade	56	1	3	2	3.72	Aphanoc,	Coelo, Aphanoc Limno,
La Roche sur Yon	Retenue de Moulin Papon	AEP	85	0	0	3	0.1	-	Plank
Le Hinglé	Le Hinglé	AEP	22	0	0	4	0.94	Ana, Coelo, Micro	Ana, Micro
Lanrivain	Kerné Uhel	AEP	22	0	0	3	1.05	Micro, Ana,	Micro, Ana, Plank
Tuffé	Plan d'eau	Baignade	72	0	0	0	0	-	-
Saint Sever	La Sienne	AEP	14	0	0	0	0	-	-
Daon	(rivière la Mayenne)	Baignade	53	0	3	1	0.28	-	Plank,
Méauillon	St Barthélémy	AEP	22	0	0	2	0.37	Limno	Limno
Arnage	Plan d'eau de la Gémerie	Baignade	72	0	0	0	0	-	-

* limitation des activités nautiques durant la période d'étude.

4.3.2.2 Teneur en chlorophylle a et en nutriments

Si les teneurs des eaux en chlorophylle a semblent bien corrélées aux teneurs en cyanobactéries, en revanche, elles ne paraissent pas pouvoir prédire l'importance des concentrations en toxines, sauf dans les cas extrêmes (données extraites des premiers essais d'analyse par régression logistique de Melle Gaudemer).

En ce qui concerne la qualité des eaux, le seul paramètre marquant mentionné d'ailleurs dans la littérature, qui paraisse avoir eu du poids dans les valeurs de toxines mesurées est le rapport entre l'azote Kjeldhal et les nitrates.

4.3.2.3 Influence des conditions météorologiques

Les conditions météorologiques influent également sur le niveau de toxines produites, mais de manière différente. Ainsi, la production de microcystines (LR ou équivalent LR) est significativement plus élevée lorsque :

- la température minimale de l'air du jour du prélèvement est supérieure à 11°C,
- la somme des températures minimales quotidiennes de l'air sur les 6 jours précédant le prélèvement est supérieure à 70°C,
- la somme des températures maximales sur au moins 3 jours précédant le prélèvement est supérieure à 64°C t à 130°C sur 6 jours,
- la somme des rayonnements globaux quotidiens sur 2 jours précédant le prélèvement est supérieure à 2835 joules/cm² et à 4628 joules/cm² sur 3 jours.

Ni les vents mesurés dans les stations météorologiques les moins éloignées des sites, ni les pluies, ne semblent influencer les valeurs de toxines mesurées dans les échantillons prélevés au cours de cette étude.

5. PERSPECTIVES

5.1. CADRE DE LA REFLEXION PROSPECTIVE

Au-delà de ses contraintes et limites fortes, cette étude permet cependant de pointer un certain nombre d'hypothèses novatrices, pouvant avoir des implications différentes selon le niveau sur lequel se place la réflexion.

Une base de données, en nombre, relativement standardisée, sur 26 lieux différents répartis dans 10 départements de la zone Ouest de la France, tout au long d'une période de production algale, constitue en elle-même une richesse importante.

Les quelques tendances se dégageant de l'analyse de ces données ouvrent des perspectives intéressantes en matière de gestion des risques sanitaires liés aux usages récréatifs des eaux ou à l'AEP.

Toutefois, il est clair que les hypothèses soulevées dans ce travail sont loin d'être validées. Le protocole n'a pas été défini pour en élaborer, mais pour dépister d'éventuels paramètres prédictifs de risques.

Les perspectives présentées ci-après ont pour but de proposer un programme de surveillance des sites.

Dans la mesure où certaines hypothèses méritent d'être validées, des études complémentaires nécessaires sont proposées dans ce sens.

5.1.1 Proposition d'un protocole de suivi sanitaire des sites

5.1.1.1 Meilleure connaissance écologique des sites

Il est essentiel pour le gestionnaire, de connaître le milieu dont il a la charge et de pouvoir anticiper sur les développements qu'il aura à subir. En effet, il est rare que la composition globale du phytoplancton d'un plan d'eau change radicalement d'une année sur l'autre (sauf si changement environnemental majeur), car ces organismes intègrent les différentes composantes du milieu. Ainsi, les successions se mettent en place avec une certaine périodicité et elles sont relativement récurrentes. La définition des différentes classes d'algues et leur période de dominance (algues vertes, cyanobactéries, diatomées, par exemple) peut aider le gestionnaire à se situer relativement à la période la plus risquée. Il serait aussi intéressant qu'il ait connaissance des concentrations maximales possibles (lorsque les conditions du milieu sont très favorables), ce qui définirait les limites du milieu (par exemple : « la concentration en Cyanobactéries n'a jamais été aussi élevée qu'en 2002 » ou « elle demeure constante depuis 2001 » ou « elle continue de monter depuis 2000 », etc.).

Une bonne connaissance du milieu permet, au cas par cas, de pondérer (et de mieux juger) les proliférations algales dont il est le siège (« dans ce site, c'est toujours *Planktothrix* qui prolifère », « dans celui-ci c'est *Anabaena* qui domine en juin- juillet puis *Aphanizomenon* en août-septembre », « dans cet autre, *Cylindrospermopsis* a fait un pic, il n'avait jamais été aperçu auparavant »...).

Sans information préalable, il est difficile de prédire le développement des cyanobactéries sinon avec beaucoup d'incertitudes. Pour l'acquérir, deux types de protocole pourraient être envisagés, selon le type de milieu, que l'on peut schématiquement regrouper en deux catégories.

- **pour les plans d'eau d'une profondeur supérieure à 3 m** et de grande taille, il serait important :
 - de chercher à connaître les flux annuels entrants de nutriments ;
 - de doser des nutriments, comme les différentes formes d'azote et de phosphore (dans la colonne d'eau et dans les sédiments) ;
 - de rechercher des paramètres liés aux algues : chlorophylle, numération et identification des algues (dans deux points fixes dans la zone pélagique, par exemple, durant la période printemps-été) ;
 - de réaliser des profils verticaux à l'aide de sondes multiparamètres (T°, O₂, pH, Conductivité) pour définir les début et fin de la période de stratification ;
 - d'identifier en surface les zones d'accumulation algale « chroniques » (sous les vents dominants) ;
 - de vérifier la variation spatiale des algues dans le sens amont-aval (si alimentation par cours d'eau) . L'utilisation d'une sonde à fluorescence spécifique aux phycocyanines pourrait être utile à cette prospection.

- **pour les plans d'eau de quelques hectares et de profondeur inférieure à 3 m** (supposés nettement plus homogènes), il serait intéressant et surtout si le plan d'eau étudié est alimenté par une nappe de sorte qu'il ne subit aucun apport de nutriments pendant la période favorable aux cyanobactéries :
 - d'étudier les différentes formes d'azote et de phosphore
 - de mesurer les T° de l'air et de l'eau
 - de prendre régulièrement des échantillons d'algues afin de suivre la dynamique des cyanobactéries

5.1.1.2 Proposition d'un protocole de suivi

Le protocole proposé ici tient compte des hypothèses produites dans ce travail et les intègre dans une surveillance modifiée des risques sanitaires. Il peut d'ores et déjà être testé en terme de faisabilité, alors même que les hypothèses qui lui servent de base ne seront pas encore validées.

Là encore, les prélèvements devront être situés à proximité des points d'usage. Il pourrait être proposé de suivre le schéma suivant :

- exploration visuelle quotidienne des points d'usage et de leurs environs par les exploitants ou intervenants du site ;
- suivi quotidien également aux points d'usage de la température de l'air et du rayonnement global. A partir des seuils établis par l'étude, analyse des concentrations en chlorophylle *a* ;
- en fonction des teneurs en chlorophylle *a*, dénombrement des cyanobactéries et mise en réserve d'un aliquot pour détermination des teneurs en microcystines ;
- analyse des toxines à partir de seuils préétablis en cyanobactéries : le seuil est fixé à 100 000 cellules/ml pour les sites à usage d'activités nautiques et 20 000 cellules/ml pour les usages d'eau potable.

La première étape comporte une caractérisation du risque de présence de cyanobactéries et toxines dans l'eau en fonction des résultats acquis dans cette étude (page 72). Les deux schémas suivants (pages 73 et 74) distinguent les plans d'eau à usage d'eau potable de ceux à usage de baignades et de loisirs nautiques.

Pour les premiers, le niveau de performance de la station est prise en compte.

Pour les usines à risques, le seuil de concentration en chlorophylle *a* pour déclencher les comptages a été abaissé à 30 µg/l au lieu des 40 µg/l résultant de l'étude statistique.

Pour les seconds, le seuil de chlorophylle *a* est proposé à 30 µg/l dans un souci de ne pas trop s'écarter des valeurs recommandées par l'organisation mondiale de la santé et de garder une sécurité dans la mesure où le contact est direct entre le baigneur et l'eau.

Ces propositions constituent des contraintes lourdes de mise en œuvre (fréquence des prélèvements, coût analytique...). Elles pourraient être mises en œuvre de façon plus sommaire dès lors qu'un historique du site permettrait de bien identifier le risque et notamment celui de la présence de toxines.

Caractérisation du risque de présence de cyanobactéries et de toxines dans l'eau

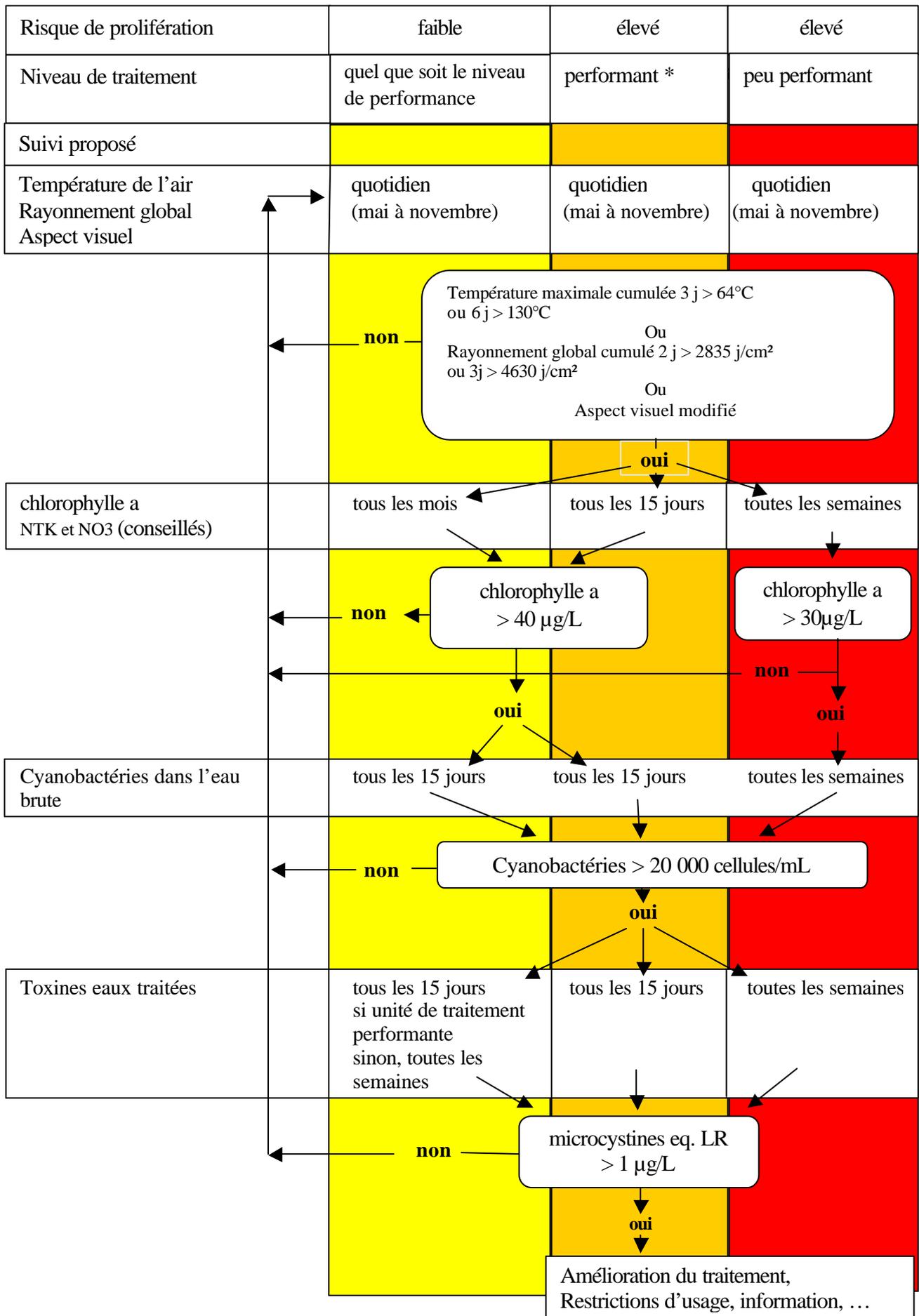
- alimentation par des eaux superficielles
- nutriments abondants
- rivière en eau stagnante en période estivale
- plan d'eau < 100 ha ou volume < 1 800 000 m³
- développement important des cyanobactéries les années antérieures
- volume de sédiments élevé
- âge du plan d'eau élevé (> 30 ans)
- profondeur < 3 m
- eau turbide (faible transparence)

Risque élevé

- alimentation en eau de nappe
- peu de nutriments
- rivière en eau courante
- plan d'eau > 100 ha ou volume > 1 800 000 m³
- faible développement de cyanobactéries les années antérieures
- peu de sédiments
- plan d'eau récent (< 30 ans)
- profondeur > à 3 m
- eau limpide

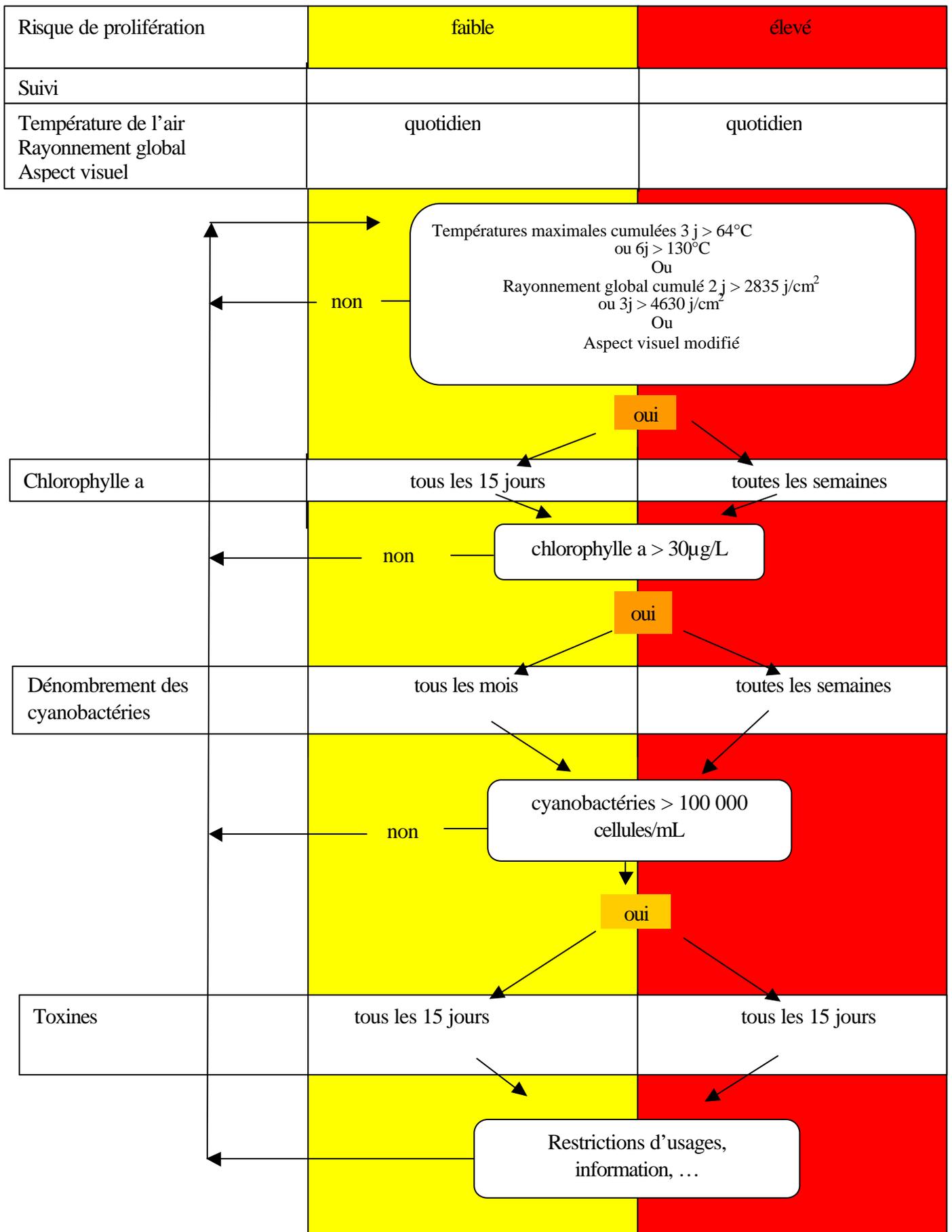
Risque faible

Eléments pour une proposition d'un suivi des sites à usage d'eau potable et non soumis à l'utilisation d'un algicide



* : les critères de définition de la performance des unités de traitement par rapport aux toxines seront déduits notamment des travaux de l'AFSSA (à paraître)

Eléments pour une proposition d'un suivi visant à réduire le risque lié aux cyanobactéries et toxines d'algues des eaux à usage de baignades et de loisirs nautiques.



5.1.2 Proposition d'études scientifiques visant à consolider les résultats

Ce type d'étude aurait pour objectif principal de permettre la validation d'une manière scientifique rigoureuse de certaines conclusions de l'étude réalisée dans le Grand Ouest. Ce travail serait préférentiellement attribuable à des appels d'offre de recherche.

Pour ce faire, le protocole suivant pourrait être mis en œuvre :

- choisir des plans d'eau plus contrastés quant à leur abondance en algues, moins nombreux, plus nettement diversifiés pour leur mode d'alimentation et de renouvellement d'eau, bien connus (âge, volume, envasement, ...) ;
- sur ces plans d'eau, déterminer les conditions de prélèvement les plus adaptées (localisation, profondeur) ;
- puis, prévoir au moins sur 2 saisons, un suivi hebdomadaire des teneurs des eaux, au point d'usage en : chlorophylle a, NTK, NO₃, Pt, PO₄, (ce paramètre ne serait retenu que si les seuils sont assez bas, de l'ordre de 10 µgP-PO₄/L).
- en ce qui concerne les recherches algales, retenir le principe d'une approche dite « semi-quantitative »: il s'agirait de rechercher les genres de cyanobactéries présents dans l'échantillon et d'assortir la lecture des lames d'une appréciation (fort, moyen, faible) sur la quantité relative de ces genres ;
- analyser les teneurs en microcystines, dès que l'approche semi-quantitative aurait indiqué la présence d'une espèce sécrétrice (ce qui suppose de mettre systématiquement en réserve une fraction de l'échantillon d'eau pour analyse ultérieure) ;
- mesurer les températures de l'eau de manière standardisées pour pouvoir les mettre en relation avec les températures de l'air mesurées par Météo-France ;
- reprendre les analyses des données ainsi collectées, en cherchant à confirmer les tendances décrites ici.

Les résultats attendus, seraient, aux points d'usage, la confirmation de la valeur prédictive des paramètres issus de cette étude sur la probabilité de présence de microcystine LR à des valeurs supérieures à 0,25µg/L.

6. CONCLUSIONS

L'ensemble des résultats recueillis a permis de conforter les connaissances bibliographiques sur les cyanobactéries et de mettre en avant certains points :

- des cyanobactéries ont été identifiées sur tous les sites ;
- la présence des cyanobactéries est stochastique ;
- toute la période d'étude, c'est-à-dire de mi mai à novembre, a montré de fortes colonisations des cyanobactéries ;
- les genres les plus fréquemment rencontrés sont par ordre décroissant : *Planktothrix*, *Anabaena*, *Microcystis* et *Aphanizomenon* ;
- parmi les sites très fortement colonisés, l'espèce dominante est presque toujours *Planktothrix agardhii*, laquelle d'un point de vue écologique a la réputation d'être inféodée à des milieux très eutrophisés ;
- un seul plan d'eau sur les 26 étudiés s'est maintenu tout au long de l'étude au dessous du seuil de 20 000 cellules de cyanobactéries (plan d'eau de la Gemerie à Arnage - 72) ;
- 69 % des plans d'eau ont été au moins 1 fois au dessus du seuil de 100 000 cellules de cyanobactéries par ml ;
- 2 plans d'eau (Dept. 72) n'ont jamais présenté de microcystine pendant la campagne ;
- sur un total de 214 analyses, plus de 53 % des échantillons présentent des teneurs en microcystines supérieures à 0.25 µg/L ;
- parmi ces 53 % de résultats positifs, 54 % ont présenté des concentrations en microcystines supérieures à 1µ/L et seulement 1 % supérieure à 25µg/L.
- si une relation existe entre les très fortes abondances de cyanobactéries et la présence de microcystine, ou à l'inverse entre les très faibles abondances en cyanobactéries et l'absence de microcystine, la relation est beaucoup plus complexe dans la zone des concentrations en cyanobactéries intermédiaire ;
- sur 13 des plans d'eau servant à la production d'eau potable 12 d'entre eux ont été exposés à la production de microcystine ;
- aucune trace de microcystine n'a été détectée dans les eaux traitées (détection limite de 0,16 et de 0,05 µg/L).

Au-delà de ces résultats, l'étude a permis de mettre en évidence un certain nombre d'informations intéressantes pour améliorer le suivi des sites et tenter de définir un contrôle permettant de suivre au mieux les évolutions qui se produisent.

Parmi les aspects importants à intégrer dans le suivi figurent notamment :

- le volume et l'âge du plan d'eau ;
- les conditions météo : température maximale et rayonnement. Ces facteurs auront une incidence tant sur le peuplement algal à risque que sur les concentrations en toxines ;
- la corrélation qui existe entre les concentrations en chlorophylle et le nombre de cellules de cyanobactéries : si cette corrélation n'est pas nouvelle en soi, il est important de noter que les niveaux de ces corrélations tels qu'ils ressortent de cette étude, diffèrent sensiblement de ceux proposés par l'OMS ;
- les concentrations en nutriments étant précisé que l'étude a confirmé que le phosphore, dans la mesure où il favorise le développement des algues et ce, pour des faibles concentrations, ne permettait pas bien souvent de constituer un paramètre décisionnel.

De tous ces constats, il ressort qu'il est important de pouvoir s'appuyer sur une bonne connaissance des milieux et de disposer d'informations rapprochées quant à l'évolution des caractéristiques du milieu et de son environnement (météo notamment).

L'étude conclut sur des propositions de suivi. Ces propositions ont été arrêtées dans le souci de permettre un suivi rapproché des sites, tout en restant réaliste. Dans la mesure où il n'est pas concevable de réaliser des comptages et des mesures de concentrations en toxines avec un pas de temps trop court, il est proposé d'effectuer une approche indirecte de ces paramètres à partir d'un suivi de facteurs plus simples et moins onéreux.

Il conviendra toutefois, avant de les valider, de compléter ces hypothèses par des études complémentaires ou rétrospectives là où les données sont disponibles. Leur extrapolation à d'autres régions de France mérite également d'être examinée.

En tout état de cause, cette étude confirme les recommandations du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique dans son avis du 6 mai 2003, lequel demandait la réalisation d'études sur les contaminations des eaux de loisirs nautiques et estimait nécessaire la mise en œuvre d'une surveillance renforcée des sites, basée sur des observations visuelles et des mesures spécifiques.

Les résultats des approches statistiques effectuées lors de cette étude peuvent contribuer à définir le contenu de cette surveillance renforcée des sites dès lors que ceux-ci sont, de par leur historique, confrontés à un risque de développement d'algues.



Bibliographie

Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France du 6 mai 2003 relatif aux recommandations pour la gestion des situations de contamination d'eau de baignades et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries.

Brient L., Raoult C., Le Rouzic B., Vezie C. et Bertru G. (2001). Conditions d'utilisation du CuSO_4 pour limiter les proliférations de cyanobactéries et réduire ses effets sur l'environnement. *Technique Sciences Méthodes*, n° 9.

Carmichael WW (1992) A Review: Cyanobacteria secondary metabolites - The cyanotoxins. *J Appl Bacteriol* 72:445-459.

Chorus I. and Bartram J. (eds) (1999). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. WHO. E & FN Spon, London, 416 pp.

Chorus I., Falconer, I.R., Salas H.J., Bartram J. (2000) Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. *Journal of toxicology and Environmental Health, part B, Vol. 3*, p. 323-327

Chorus I. (ed) (2001). Cyanotoxins. Occurrence, causes, consequences.. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 336 pp.

Falconer I.R., (1999) An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water, *Environmental Toxicology*, vol 14, p 5-12

Falconer IR (1998) Algal toxins and human health. In Hrubec J (ed) *The handbook of environmental chemistry, Vol. 5, Part C, Quality and treatment of drinking water*. Springer-Verlag, Berlin, pp 53-82.

Falconer IR (1991) tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ Toxicol Water Qual* 6:177-184

Falconer IR (1991) Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ Toxicol Water Qual* 6:177-184.

Codd GA, Bell SG (1985) Eutrophication and toxic cyanobacteria in freshwaters. *Wat Pollut Control* 84:225-232.

Lange-Bertalot, H. (1991). *Baccillariophyceae 3.Teil, Centrales, Fragilariales, Eunotiales*. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 576 pp.

Mackintosh C, Beattie KA, Klumpp S, Cohen P, Codd G (1990) Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Lett* 264:187-192.

Mischke U. & Nixdorf B. (sous presse) – Equilibrium phase conditions in shallow lakes : how Cyanoprokariota species establish a steady state phase in late summer. *Hydrobiologia*.

Oliver R. & Ganf G. (2000). Freshwater blooms : 149-194. In : Whitton & Potts (eds), *The ecology of Cyanobacteria*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Padisak J., Soroczki-Pinter E. & Rezner Z. (sous presse) – Sinking properties of some phytoplankton shapes and relation of form resistance to morphological diversity of phytoplankton – an experimental study. *Hydrobiologia*.

Ressom R, Soong FS, Fitzgerald J, Turczynowickz L, Saadi OE, Roder D, Maynard T, Falconer I R (1994) Animal health. In: Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae), National Health and Medical Research Council. The Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia, pp 39-43.

Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L. & Melo S. 2002 – Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton research*, 24-5 – 417 :428.

Sarazin G., Quiblier-Llobéras C.; Bertru G.; Brient L.,Vezie C., Bernard C., Couté A., Hennion M.C., Robillot C., Tandeau de Marsac N. (2002) Première évaluation du risque toxique lié aux cyanobactéries d'eau douce en France : le programme « EFFLOCYA ». *Revue des Sciences de l'Eau* ; 315-325

Scheffer M. (1998). *Ecology of shallow lakes* Kluwer. Academic Publishers, Dordrecht, 357 pp.

Scheffer M., Rinaldi S., Gragnani A., Mur L.R. & Van Nes E.H. (1997) – On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology*, 78 : 272-282.

Sivonen K, Jones G (1999) Cyanobacterial toxins. In: Chorus I and Bartram J (eds), *Toxic cyanobacteria in water. Guide to their public health consequences, monitoring and management*. WHO. E & FN Spon, London, pp 41-111.

Vezie C, Brient L, Sivonen K, Bertru G, Lefeuvre JC, Salkinoja-Salonen M (1998) Variation of microcystin content of cyanobacterial blooms and isolated strains in Lake Grand-Lieu (France). *Microb Ecol* 35:126-135.

Vezie C, Brient L, Sivonen K, Bertru G, Lefeuvre JC, Salkinoja-Salonen M (1997) Occurrence of microcystin-containing cyanobacterial blooms in freshwaters of Brittany (France). *Arch Hydrobiol* 139:401-413.

Revue Technique Sciences Méthodes, n° 9, septembre 2001. Dossier sur les cyanobactéries. Pages 41 à 95.