

# Surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels par les diatomées dulçaquicoles



**SURVEILLANCE DES IMPACTS ENVIRONNEMENTAUX  
D'EFFLUENTS AQUEUX DE SITES INDUSTRIELS  
PAR LES DIATOMEES DULÇAQUICOLES**

**RAPPORT FINAL**

avril 2010

**A. BOUCHEZ, U. DORIGO, F. RIMET - INRA THONON**



Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

**Avertissement :**

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :  
**RECORD**, Surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels par les diatomées dulçaquicoles, 2010, 175 p, n°07-1016/1A.
  
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)  
[www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)

© RECORD, 2010



# **PARTIE I**

**CAPACITES DE BIO-INDICATION DES DIATOMEES  
POUR DIFFERENTES POLLUTIONS  
DE TYPE INDUSTRIEL EN RIVIERE :**

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **RESUME**

Les rivières sont sujettes à des perturbations physiques et chimiques qui sont à l'origine d'une dégradation croissante de la qualité de l'eau. Cette qualité peut être suivie par analyse de paramètres physiques et chimiques qui caractérisent l'origine de perturbation et renseignent sur la nature des polluants, ou alors par une analyse biologique qui permet d'identifier ces mêmes perturbations par leurs effets sur les communautés animales et végétales en place. Parmi les différents composants biologiques présents dans l'eau, les diatomées constituent d'excellents bio-indicateurs de la qualité de l'eau grâce à leur omniprésence dans les milieux aquatiques, leur diversité, leur rôle fonctionnel et leur sensibilité envers une multitude de polluants. Les diatomées sont sensibles aux polluants industriels qui contribuent à dégrader la qualité de l'eau en rivière. Les principaux polluants industriels sont les matières en suspension, liées en particulier aux matières organiques, les métaux lourds et des polluants organiques persistants parmi lesquels on trouve les hydrocarbures, les acides et les bases qui modifient le pH de l'eau.

L'objectif de l'étude est de réaliser un état des connaissances bibliographiques, en vue de fournir des informations pertinentes sur les capacités des diatomées pour la bio-indication de pollutions industrielles en rivière.

## **MOTS CLES**

Pollutions industrielles, rivière, bio-indication, diatomées

## **SUMMARY**

Rivers are subject to physical and chemical perturbations leading to an increasing degradation of the water quality. Water quality can be followed either by measuring physical and chemical parameters which characterise the origin of perturbation and the nature of pollutants, or through biological analyses which allow to identify these perturbations through their effects on animal and vegetable communities. Among the biological composants present within water, diatoms constitute excellent bio-indicators of water quality, due to their ubiquity in water, their diversity, their function role and their sensitivity with regard to a multitude of pollutants. Diatoms are sensitive to industrial pollutants which contribute to degrade the water quality in rivers. The principal industrial pollutants are suspended particulate matter, mainly linked to organic matter, hydrocarbons, heavy metals and persistent organic pollutants, among them, acids and bases modifying the water pH. The aim of the study is to realise a state of the knowledge in literature to give pertinent information about the ability of diatoms as bio-indicators of industrial pollutions in rivers.

## **KEY WORDS**

Industrial pollutions, river, bio-indication, diatoms

## **SOMMAIRE**

<b>PREAMBULE</b>	<b>9</b>
<b>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>11</b>
INTRODUCTION	11
I. LA POLLUTION DES MILIEUX AQUATIQUES	11
I.1. Définition et généralités	11
I.2. Aperçu historique sur les pollutions anciennes et nouvelles	12
I.3. Les types de pollutions	12
I.4. Les principaux types de polluants et leurs origines	13
II. LES SUIVIS DE LA QUALITÉ DE L'EAU	14
II.1. Le suivi physico-chimique de la qualité de l'eau	14
II.2. Le suivi biologique de la qualité de l'eau	14
II.3. La Directive Cadre Européenne sur l'Eau 2000/60/EC	16
II.4. De l'inventaire biologique au calcul d'indices biologiques	17
II.5. Les indices biologiques actuellement normalisées en France pour la qualité de l'eau en rivière	17
II.6. Comparaison des indices IBD, IBMR, IBGN et IPS	18
III. LES DIATOMÉES	19
III.1. Généralités sur les diatomées	19
III.2. Organisation cellulaire	20
III.3. Le squelette des diatomées	22
III.4. La reproduction chez les diatomées	23
III.5. Ecologie des diatomées	23
IV. LES DIATOMÉES BENTHIQUES POUR LE SUIVI DE LA QUALITÉ DE L'EAU	30
IV.1. Avantages des diatomées benthiques pour le suivi de la qualité de l'eau en rivière	30
IV.2. Inconvénients des diatomées benthiques pour le suivi de la qualité de l'eau en rivière	31
IV.3. Échantillonnage de diatomées benthiques en rivière	32
IV.3.1. La sélection du site d'échantillonnage	32
IV.3.2. Période d'échantillonnage	32
IV.3.3. Choix du substrat	32
IV.3. 4. Préparation des lames au laboratoire	34
IV.3. 5. Identification et comptage des diatomées	34
IV.3. 6. Transformation des données diatomiques obtenues par comptage microscopique	34
IV.3. 6. 1. Métriques d'intégrité biotique	35
IV. 3. 6. 3. Indices diatomiques	38
V. LES TYPES DE POLLUTIONS ÉTUDIÉES DANS LE CADRE DU PROJET	50
V.1. Les métaux lourds	50
V.1. 1. Généralités	50
V.1. 2. La toxicité des métaux lourds	50
V.2.1. Le changement du pH	62
V.2.2. Changement de la salinité/la conductivité	65
V.3. Les micropolluants (cas des HAP)	70
V.3.1. Des généralités	70
V.3.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)	70
VI.1. Présence de formes tératologiques	76
VI.2. Changements la richesse spécifique et de biodiversité	78
VI.3. Réduction de la taille moyenne des diatomées	78
VI.4. Présence de diatomées de petite taille	79
VI.5. Changement de la composition diatomique (ex. dominance de certaines espèces)	79
VI.6. Formes de vie	80
VII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	81
IX. Liste bibliographique	84

<b>1. PRÉAMBULE</b>	<b>114</b>
<b>2. MATÉRIEL ET MÉTHODES</b>	<b>116</b>
2. 1. Outils de bio-indication basés sur les diatomées	116
2. 2. Méthode d'échantillonnage et traitement au laboratoire	116
2. 3. Calcul des métriques	117
2.3.1. L'IPS et IBD	118
2.3.2. Diversité diatomique	118
2.3.3. Les classes de salinité de Van Dam et al. (1994)	119
2.3.4. Les formes tératologiques	119
2.3.5. Abondance de différents traits biologiques	120
2.3.6. Abondance de taxons colonisateurs	122
2.3.7. Classes de taille	123
<b>3. EXEMPLE D'APPLICATION N°1 : POLLUTION PAR UN MONOMÈRE. ETUDE EN MÉSOCOSMES.</b>	<b>124</b>
3.1. Objectifs de cette étude	124
3.2. Introduction	124
3.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude	124
3.3.1. Plan expérimental	124
3.3.2. Analyses statistiques	125
3.4. Résultats	127
3.4.1. Analyse globale de l'effet de la pollution	127
3.4.2. Test de nouvelles métriques	130
3.4.2.1. Formes de vie	130
3.4.2.3. Diversité diatomique	131
3.4.2.4. Formes tératologiques	131
3.5. Conclusions de cette étude	131
<b>4. EXEMPLE D'APPLICATION N°2 : LA POLLUTION PAR LES SOUDIÈRES. ETUDE IN SITU À L'ÉCHELLE D'UN SITE INDUSTRIEL</b>	<b>133</b>
4.1. Objectifs de cette étude	133
4.2. Introduction	133
4.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude	134
4.3.1. Le site d'étude	134
4.3.2. Présentation des stations étudiées	135
4.4. Résultats	136
4.4.1. Indice de Polluosensibilité Spécifique IPS	136
4.4.2. Diversité taxonomique	137
4.4.3. Classes de salinité	138
4.4.4. Formes tératologiques	141
4.4.5. Traits biologiques	142
4.4.6. Abondance des taxons colonisateurs/ubiquistes	143
4.5. Conclusions de cette étude	144
<b>5. EXEMPLE D'APPLICATION N°3 : LA POLLUTION PAR LES MICROPOLLUANTS : ÉTUDE IN SITU À L'ÉCHELLE RÉGIONALE DES RIVIÈRES DU BASSIN RHIN-MEUSE</b>	<b>145</b>
5.1. Objectifs de cette étude	145
5.2. Introduction	145
5.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude	146
5.3.1. Base de données diatomées	146
5.3.2. Base de données physico-chimique	147
5.3.3. Les indices du SEQ testés	147



5.3.4. Analyses statistiques	148
5.3.4.1. Analyses discriminantes	148
5.3.4.2. Box Plot	149
5.3.4.3. Comparaisons multiples de moyenne	149
5.4. Résultats	149
5.4.1. Analyses discriminantes	149
5.4.2. Box-plots et comparaisons multiples	153
5.4.2.1 Indice PEST (Pesticides sur eau brute)	153
5.4.2.2. Indice HAP sédiment	161
5.4.2.3. Indice MPOR (micropolluants organiques sur eau brute)	164
5.4.2.4. Indice MPMI (micropolluants minéraux sur eau brute)	165
5.4.2.5. Indices PHOS (Matières phosphorées) et MOOX (Matières organiques et oxydables)	167
5.5. Conclusions de cette étude	168
<b>6. CONCLUSION FINALE</b>	<b>170</b>
<b>7. BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>172</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>175</b>

## PREAMBULE

Dans le cadre de son programme 2007, R.E.C.O.R.D. a confié à l'Institut National pour la Recherche Agronomique (INRA) de Thonon les Bains le projet n°3-12, intitulé « Surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels par les diatomées dulçaquicoles ».

Ce projet vise à évaluer le potentiel d'indices biotiques basés sur les diatomées dans le but d'obtenir un diagnostic concernant l'état écologique de milieux aquatiques soumis à des rejets d'effluents aqueux de sites industriels.

En effet, les pollutions d'origine industrielle qui peuvent contribuer à dégrader la qualité de l'eau sont généralement liées à l'énergie consommée (hydrocarbures), aux matériaux transformés (minerais) ou encore aux procédés de fabrication utilisés (solvants et autres produits toxiques). Aujourd'hui le diagnostic de la qualité de l'eau peut se faire de différentes façons : soit par analyse directe de différents paramètres physico-chimiques tels que le pH, la température, les toxiques présents dans l'eau, soit par analyse biologique. Dans un contexte où la protection des milieux aquatiques devient l'une des priorités de l'Union Européenne, les gestionnaires des eaux ont besoin d'outils pour évaluer l'état des milieux. La bio-indication est aujourd'hui considérée comme une voie privilégiée, en complément à l'analyse physico-chimique de l'eau. Aujourd'hui, les méthodes de bio-indication appliquées à des niveaux d'organisation biologique allant de la molécule à la communauté, permettent d'appréhender la qualité globale des milieux en réponse à toute une gamme d'impacts : contamination toxique, modifications physiques de l'habitat, variation du régime hydraulique, eutrophisation, changement climatique, etc. Véritables "baromètres vivants" de la qualité des milieux, les indicateurs biologiques sont devenus des outils incontournables pour gérer et suivre l'état des écosystèmes. Le bon état écologique d'un cours d'eau correspond dans l'esprit de la DCE à un écart léger par rapport à l'état de référence, c'est-à-dire en l'absence de perturbation anthropogénique. Les diatomées, mais aussi les invertébrés benthiques, les poissons ou les macrophytes, sont considérés comme autant d'êtres vivants indicateurs de cet état en rivière. Les diatomées sont des algues unicellulaires, microscopiques et caractérisées par un squelette externe siliceux dont la forme et l'ornementation sont caractéristiques de chaque espèce. Leur grande biodiversité, leur sensibilité envers une multitude de polluants, leur cycle de vie rapide et leur immobilité font qu'elles sont considérées comme d'excellents bio-indicateurs de la qualité de l'eau (Round 1991). Un certain nombre de méthodes ont été développées afin d'utiliser ce groupe comme bio-indicateur de la qualité de l'eau. Ainsi, des nombreux pays en Europe ont développé des indices basés sur la distribution des diatomées et leurs préférences écologiques, relatives au niveau saprobique ou trophique (Sladeczek 1986, Lange-Bertalot 1979, Watanabe 1982-1990, Schiefele et Schreiner 1991, Kelly et Whitton 1995), au pH (Renberg and Helberg 1982, Hakansson 1993), à la salinité (Ziemann 1991) ou à un niveau de qualité globale, incluant divers paramètres tels que les matières organiques, les substances nutritives et la physicochimie (Coste in Cemagref, 1982, Dell'Uomo 1996, Lenoir et Coste, 1996). Ces indices

diatomiques évaluent la perturbation anthropique en utilisant les abondances relatives des espèces identifiées, pondérées par leurs caractéristiques spécifiques de sensibilité à différents indicateurs d'eutrophisation. Pour d'autres impacts anthropiques, notamment les pollutions à toxiques, tels que les métaux, les micropolluants etc, les indicateurs actuellement utilisés sont peu performants. C'est dans ce contexte que R.E.C.O.R.D. a engagé cette étude.

**L'objectif global de cette étude** est de réaliser un état des connaissances sur la pertinence des diatomées pour la surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels.

**Les objectifs spécifiques de l'étude bibliographique** sont :

1. de réaliser une recherche, la plus exhaustive possible, des informations disponibles concernant les capacités de bio-indication des diatomées pour différentes pollutions de type industriel ;
2. de collecter les informations sur les caractéristiques et les métriques permettant d'optimiser leurs capacités indicatrices ;
3. de réaliser une synthèse claire et complète sur les possibilités de développer des indicateurs de restauration basés sur les diatomées.

En vue de ces objectifs, nous avons synthétisé les informations sur les indices diatomiques existants, considéré l'écologie et la sensibilité/tolérance des diatomées dans différents contextes de pollution pour évaluer les impacts toxiques potentiels ou pour suivre la restauration de l'écosystème (approches expérimentales, études *in situ*). Nous avons retenu les pistes indiciaires les plus prometteuses afin de les évaluer sur le terrain au cours de la deuxième phase du projet. Nous avons également relevé certaines populations/espèces particulières dont le comportement écologique a semblé intéressant. Des métriques différentes qui semblent offrir des perspectives intéressantes en terme de bio-indication par rapport aux pollutions toxiques ont été retenues comme par exemple des caractéristiques morphologiques ou fonctionnelles. En conclusion, les avantages, inconvénients et limites des différentes métriques ou indices seront présentés tant sur un plan pratique que technique.

## INTRODUCTION

**Les ressources en eau de qualité** apparaissent capitales à bien des égards : alimentation en eau potable, abreuvement, irrigation, usage industriel, baignade, pêche, nautisme, énergie... A l'inverse, divers contaminants (métaux, substances organiques, pesticides,..) se retrouvant dans les milieux aquatiques par le biais de rejets industriels ou urbains, ou du ruissellement agricole, ou encore de diverses perturbations comme l'artificialisation du milieu ou la modification du débit ont un impact direct ou indirect sur les usages de ces ressources et sur les organismes présents. Toute perturbation peut provoquer une modification, voir une perte de la biodiversité (remplacement des espèces sensibles par des espèces plus tolérantes, extinction d'espèces,..) pouvant être à l'origine d'un changement du fonctionnement au sein du milieu aquatique.

La première partie de cette synthèse bibliographique sera consacrée à la dégradation de la qualité de l'eau, la deuxième concernera les suivis de la qualité de l'eau (suivi classique contre suivi biologique), la troisième la biologie et l'écologie des diatomées, la quatrième l'utilisation des diatomées comme bio-indicateurs pour le suivi de la qualité de l'eau en rivière et la cinquième les pollutions toxiques et leurs effets sur les diatomées.

## I. LA POLLUTION DES MILIEUX AQUATIQUES

---

### I.1. Définition et généralités

La **pollution** est un changement non désiré des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques de l'air, de l'eau et des terres et qui est nuisible pour les êtres vivants. Le comité d'étude des pollution environnementales (The Environmental Pollution Panel of the U.S. President's Science Advisory Committee) définit la pollution environnementale comme une altération défavorable de l'environnement, attribuable en grande partie ou complètement à l'action de l'homme, à travers des effets directes ou indirectes dus à des changements de la gestion d'énergie, du niveau de radiations, de la composition physique et chimique et de l'abondance des organismes.

Pour une même substance, son caractère polluant sera plus ou moins élevé en fonction des quantités déversées dans le milieu et de la capacité de ce milieu à l'éliminer naturellement. Les pollutions d'origine humaine, dites aussi anthropiques, ont de nombreuses formes en pouvant être locales, régionales, globales, ponctuelles, accidentelles, diffuses, chroniques, génétiques, volontaires,

involontaires, etc... Les contaminants sont véhiculés par la pluie, le sol ou l'atmosphère et contaminent ainsi les milieux aquatiques. La pollution consécutive aux activités humaines est d'origine industrielle, domestique, urbaine ou agricole.

## **I.2. Aperçu historique sur les pollutions anciennes et nouvelles**

Les cours d'eau ont été de tout temps le réceptacle des eaux usées et des déchets en tout genre. Les pollutions les plus anciennes sont les urbaines, c'est-à-dire celles dues aux matières fécales et organiques. Une augmentation de la concentration saline des eaux continentales est apparue en raison du lessivage des déchets miniers, suivie à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle par un début de pollution métallique liée au développement industriel. L'augmentation des rejets urbains, ménagers, agricole et industriels s'est accompagnée à la croissance démographique, l'urbanisation croissante, l'industrialisation et l'intensification de l'agriculture conduisant à accroître les taux de pollution des milieux aquatiques. De nouveaux types de pollution sont apparus telles que les pollutions radioactives et thermiques, les nutriments (engrais), et les micropolluants émergents (les pesticides, les substances pharmaceutiques, les phtalates, les retardateurs de flamme bromés, les dioxines, ...).

Alors que les pays industrialisés commencent à prendre des mesures afin de limiter la pollution des milieux aquatiques par l'assainissement des eaux usées, par le traitement des effluents industriels ou encore par l'interdiction de certains pesticides, les pays en voie de développement n'ont pas les moyens techniques et financiers pour remédier à la pollution des milieux aquatiques qui est souvent dramatique.

## **I.3. Les types de pollutions**

**La pollution urbaine et domestique :** Les zones urbaines génèrent des eaux usées qui sont généralement acheminées vers des stations d'épuration. Des pics de pollution nocifs peuvent survenir lors de fortes pluies avec un risque de saturation du système d'assainissement. Les rejets d'eaux usées apportent avec eux des quantités de matières en suspension et de microorganismes générant de la turbidité et surtout, une grande consommation d'oxygène. A cela s'ajoute, une contamination bactérienne causée par les microorganismes d'origine fécale, potentiellement pathogènes.

**La pollution agricole :** L'agriculture constitue la première cause de pollution diffuse des ressources en eau. Lorsque l'on considère les pollutions d'origine agricole, il faut englober à la fois celles qui ont trait aux cultures et à l'élevage. Les activités agricoles sont, en particulier, largement impliquées dans les apports d'azote et, surtout, de ses dérivés, nitrates et nitrites, que l'on trouve en forte concentration dans les engrais, mais aussi dans les lisiers et purins d'élevage. Nitrates et pesticides sont majoritairement à l'origine de la pollution agricole. A cela s'ajoutent les pesticides qui sont utilisés pour le traitement des cultures et qui sont plus ou moins toxiques et plus ou moins rémanents dans les écosystèmes aquatiques.

**La pollution industrielle :** Si la pollution domestique des ressources est relativement constante, les rejets industriels sont, au contraire, caractérisés par leur très grande diversité, suivant l'utilisation qui est faite de l'eau au cours du procédé industriel. Selon l'activité industrielle, on va donc retrouver des pollutions diverses :

- des matières organiques et des graisses (abattoirs, industries agro-alimentaires...)
- des hydrocarbures (industries pétrolières, transports)
- des métaux (traitements de surface, métallurgie),
- des acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries...),
- des eaux chaudes (circuits de refroidissement des centrales thermiques),
- des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs)...

Les pollutions industrielles dans les eaux ont beaucoup diminué, résultat d'un effort d'équipement (stations d'épuration) pour traiter les rejets avant leur évacuation dans les eaux, d'une volonté de changer d'image, d'une réglementation stricte qui rend obligatoire des traitements de l'eau, en taxant les rejets et en interdisant des activités trop polluantes. La pollution industrielle est moins directe qu'autrefois et arrive dans les eaux de surface souvent par contamination de l'atmosphère, puis par la retombée de pluies contaminées. Si quelques polluants se dissolvent dans l'eau, beaucoup d'autres (plomb, mercure, HAP, PCB...) sont adsorbés par les particules en suspension qui sont soit transportées soit déposées au fond de la rivière (sédiments) et sont remises en suspension au moment des plus forts débits.

#### **I.4. Les principaux types de polluants et leurs origines**

- Les matières organiques fermentescibles (**MOF**) constituent, de loin, la première cause de pollution des ressources en eaux. Ces matières organiques (déjections animales et humaines, graisses, etc.) sont notamment issues des effluents domestiques, mais également des rejets industriels (industries agro-alimentaires, en particulier) appauvrissant les milieux aquatiques en oxygène.
- Les **éléments minéraux nutritifs** (nitrates et phosphates), proviennent pour l'essentiel de l'agriculture et des effluents domestiques. Ils posent des problèmes, tant au niveau de la dégradation de l'environnement (eutrophisation...), que des complications qu'ils engendrent lors de la production de l'eau potable.
- Les **métaux lourds** (mercure, cuivre, cadmium, etc.) constituent un problème préoccupant lorsqu'ils sont impliqués dans la pollution des ressources en eau. Leur toxicité et leur pouvoir de bio-magnification et bio-accumulation peuvent être fort dommageable.
- La pollution des eaux par les **composés organiques de synthèse** (par exemple les produits phytosanitaires) s'est accrue au cours des dernières décennies, notamment sous l'effet du développement de l'activité agricole. Comme pour les métaux, ces substances peuvent s'accumuler au fil de la chaîne alimentaire.

- Les **hydrocarbures** peuvent également contaminer les ressources en eau et proviennent de rejets industriels, rejets des garages et stations-service, ruissellement des chaussées, effluents domestiques....

Pour plus de détails, on pourra se reporter au rapport de l'INERIS sur les substances dangereuses pour le milieu aquatique dans les rejets industriels et urbains (2008).

## **II. LES SUIVIS DE LA QUALITE DE L'EAU**

---

La qualité de l'eau est l'aptitude de l'eau, déterminée par ses caractéristiques physiques, chimiques, biotiques ou organoleptiques, à servir à un usage défini ou à permettre le fonctionnement d'un milieu aquatique donné.

### **II.1. Le suivi physico-chimique de la qualité de l'eau**

Différentes méthodes ont été développées dans le passé pour évaluer la qualité des eaux de surface des rivières et les perturbations que leurs écosystèmes aquatiques subissent. De ces méthodes, la plus utilisée reste l'analyse physico-chimique, mais aussi l'analyse bactériologique d'échantillons d'eau prélevés de façon ponctuelle au niveau de différentes stations d'échantillonnage d'un cours d'eau. L'avantage de cette pratique est que l'on mesure directement les polluants, ce qui permet, en partie, d'en retracer les sources. Cependant, cette méthode comporte plusieurs inconvénients :

- Elle peut mener à la conclusion erronée qu'il n'y a pas de problèmes lorsqu'il n'y a pas de dépassement des critères pour les substances mesurées (limite de détection trop élevée ou polluants non mesurés) alors que l'équilibre du milieu aquatique peut être sérieusement affecté.
- Lors d'apports de polluants massifs mais de courte durée, il est improbable de les détecter en échantillonnant l'eau une ou deux fois par mois.
- Les écosystèmes peuvent être affectés par d'autres facteurs que les polluants, tels qu'une modification physique du cours d'eau.

De plus les coûts de ce genre d'analyses sont relativement élevés considérant qu'il faut faire plusieurs campagnes d'échantillonnage (un minimum de 5 campagnes par an) afin d'obtenir un portrait saisonnier de la qualité de l'eau.

### **II.2. Le suivi biologique de la qualité de l'eau**

Une autre méthode d'évaluation de l'état de santé des rivières est utilisé par les organismes responsables de la gestion de l'eau de la plupart des pays industrialisés, dont la France : Le bio-monitoring (ou suivi biologique) des écosystèmes aquatiques à l'aide de bio-indicateurs (voir paragraphe suivant). En fait, les organismes aquatiques sont en constante interaction physique,

chimique et biologique avec leur écosystème. Ils sont capables d'intégrer les évolutions environnementales sur le court terme aussi bien que sur le long terme, mais également les effets antagonistes ou synergiques des différents types de contaminants, impossibles à mettre en évidence par des mesures physico-chimiques (Whitton et al. 1991). Les pratiques de bio-indication se sont développées pour évaluer la qualité de l'eau et des milieux aquatiques de façon plus intégrée dans le temps (Rott 1991).

### ***Qu'est-ce que le suivi biologique (bio-monitoring) ?***

Le suivi biologique (bio-monitoring) des écosystèmes est défini comme la surveillance d'un écosystème en utilisant la réponse des organismes vivants (appelés eux les « bio-indicateurs ») pour déterminer si cet environnement est favorable à la survie des organismes. Les programmes de bio-monitoring sont donc généralement utilisés pour mesurer la réponse et la restauration des communautés aquatiques suite à des perturbations anthropiques, protéger la biodiversité et améliorer la compréhension des relations entre les composantes physiques, chimiques et biologiques d'un écosystème. Les organismes bio-indicateurs utilisés dans la plupart des programmes de bio-monitoring de rivière sont les diatomées et les macroinvertébrés, mais aussi les macrophytes et les poissons.

### ***Qu'est-ce qu'un bio-indicateur ?***

Un **indicateur biologique**, ou **bio-indicateur**, "est un organisme ou ensemble d'organismes qui - par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques - permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées" (Blandin, 1986). Un bio-indicateur approprié doit idéalement présenter les caractéristiques suivantes : abondance dans le milieu et cosmopolite, localisation en début de chaîne alimentaire car plus sensible aux variations environnementales (Cazaubon 1991 ; Rott 1991), cycle de vie simple et court afin de révéler les changements ponctuels ainsi que les modifications sur le long-terme (Hellowell 1978), facilités d'identification morphologique jusqu'au niveau de l'espèce (John 1998), protocoles d'échantillonnage sur le terrain simplifiés.

### ***Quel bio-indicateur choisir ?***

Il y a des bio-indicateurs plus ou moins pertinents et précis. Les espèces **sténoèces** sont des organismes spécialisés, à faible capacité d'adaptation, dont les réactions sont souvent en relation directe avec des facteurs écologiques. Les espèces sténoèces sont de ce fait de bons bio-indicateurs, ce qui les oppose aux espèces **eurycées**. Selon leur position dans la chaîne alimentaire, leur mode de reproduction, leurs exigences quant à l'habitat, les différents bio-indicateurs, tels que les poissons, les invertébrés, les plantes ou les algues, présentent des sensibilités et des temps de réaction différents (de quelques jours à quelques mois) aux diverses perturbations. Ceci confère aux suivis biologiques un net avantage par rapport aux suivis physico-chimiques qui n'intègrent pas des pollutions passées.



Il peut être nécessaire de suivre la qualité des milieux aquatiques au moyen de plusieurs indicateurs biologiques présentant chacun une signification propre, mais également un domaine d'application, un coût et une pertinence particulière.

Le temps de réaction à une pollution dépend du niveau d'organisation cellulaire : les unicellulaires (par exemple les bactéries, les protozoaires, les algues unicellulaires comme les diatomées) sont immédiatement exposés aux pollutions du fait que le milieu environnant touche tout l'organisme (cellule), contrairement aux organismes plus évolués, pluricellulaires (par exemple les invertébrés, les poissons). Les unicellulaires réagissent ainsi plus vite aux changements de l'environnement que les organismes pluricellulaires. La connaissance de la durée de génération est importante dans les méthodes de bio-indication qui mettent en évidence les pollutions surtout par les changements d'espèces. C'est ainsi que les communautés de diatomées, par exemple, dont la durée de génération va de un à quelques jours (Werner 1977), peuvent réagir en deux semaines à des changements drastiques du milieu en modifiant leur composition spécifique (Hürlimann 1993).

Les critères principaux qui guident le choix de l'indicateur sont la facilité d'application et la fiabilité en accord avec les données physico-chimiques.

**En conclusion**, l'analyse physico-chimique de l'eau et des sédiments et l'analyse de la qualité biologique d'un milieu aquatique sont deux approches complémentaires, chacun pouvant apporter des informations intéressantes. Alors que la démarche physico-chimique caractérise l'origine de perturbations et renseigne sur la nature des polluants, la démarche biologique permet quant à elle d'identifier ces mêmes perturbations par leurs effets sur les communautés animales et végétales en place (*La qualité biologique des cours d'eau en France, Edition 2000, RNDE*).

### **II.3. La Directive Cadre Européenne sur l'Eau 2000/60/EC**

L'objectif de la Directive Cadre européenne sur l'Eau (DCE), adoptée en octobre 2000, est d'atteindre d'ici 2015 le bon état écologique de tous les milieux aquatiques naturels. Ce document oriente la gestion des milieux aquatiques en Europe pour les prochaines décennies et marque le passage d'une politique de gestion de l'eau liée aux usages, tels que la pêche, l'irrigation des cultures ou la production d'électricité, à une politique centrée sur le vivant en vue de la non-dégradation des écosystèmes et de la réhabilitation de ceux qui sont dégradés. Par ailleurs, l'Union européenne ne fait donc plus seulement référence à des données d'ordre physico-chimique comme la concentration de telle ou telle molécule mais bien au fonctionnement de l'écosystème dans son ensemble. La DCE conseille d'utiliser des méthodes utilisant des éléments biologiques pour suivre l'état écologique et chimique des eaux de surface. Les bio-indicateurs tels que les macroinvertébrés, les diatomées et les poissons sont utilisés et des indices déjà existants ou nouvellement développés basés sur ces éléments biologiques sont calculés afin de déterminer la qualité de l'eau. Ces indices ne révèlent que l'état de santé du milieu aquatique à un moment donné. Pour pouvoir qualifier cet état de santé de bon ou mauvais, il est nécessaire de définir un état de référence. Cela a impliqué la recherche des peuplements aquatiques dans des milieux non ou très peu impactés par l'Homme. Ces conditions biologiques de référence sont établies soit en échantillonnant des sites non-contaminés, soit si des

sites non-contaminés sont introuvables, en développant des modèles statistiques. Il est nécessaire de connaître l'état de référence afin de mesurer l'écart entre les conditions existantes et les conditions de référence du même site.

#### **II.4. De l'inventaire biologique au calcul d'indices biologiques**

Une fois le bio-indicateur choisi et l'inventaire biologique établi pour le suivi d'une rivière, il s'agit de trouver le moyen d'exprimer ces résultats. Même si la transition de l'inventaire vers les indices représente une perte d'information (car la notion d'espèce disparaît), l'utilisation d'indices est mieux comprise par les pouvoirs publics et le grand public, qu'une simple liste d'espèces. Ces indices doivent aider le gestionnaire dans le choix des options d'aménagement. Il faut donc trouver le juste compromis entre simplicité et précision.

En Europe, la quantification de l'état du milieu se fait généralement sous forme d'indices allant de 0 à 20 (la valeur 20 représentant l'état non pollué). Ces indices décrivent une qualité selon cinq classes de couleur allant de la couleur bleue (bonne qualité) à la couleur rouge (mauvaise qualité). La DCE demande d'évaluer la qualité biologique au moyen d'un Rapport de Qualité Ecologique (EQR), variant de 0 à 1. Cet EQR est le simple calcul de la distance entre la communauté de référence et la communauté du site étudié.

#### **II.5. Les indices biologiques actuellement normalisés en France pour la qualité de l'eau en rivière**

Les indices applicables en rivières actuellement normalisés en France sont au nombre de cinq et concernent les diatomées, les macrophytes, les macroinvertébrés, les poissons et les oligochètes. Nous donnerons ici un aperçu rapide des divers indices biologiques normalisés.

- L'Indice Biologique Diatomées (IBD) pour les diatomées en rivière

Pour l'IBD (Lenoir and Coste 1996), l'échantillon est prélevé sur du substrat dur en rivière. L'identification des espèces de diatomées se fait par microscopie optique à l'aide de la flore « Süßwasserflora von Mitteleuropa – Bacillariophyceae » de KRAMMER & LANGE-BERTALOT (Eds), et du Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomées (J. Prygiel and M. Coste., 2000). L'IBD (dans sa version de 2007) utilise 1488 taxons (incluant les synonymes anciens et les formes tératologiques) et dresse le profil de probabilité de présence de chacun de ces taxons.

Cet indice évalue la qualité de l'eau davantage que celle de l'habitat et est sensible à de nombreuses formes de pollution (NFT 90-354, AFNOR 2007).

- Indice Biologique Global Normalisé (IBGN) pour les macroinvertébrés en rivière

Les macroinvertébrés benthiques sont échantillonnés, triés et identifiés au niveau taxonomique prescrit (généralement la famille). La note résulte de la confrontation dans un tableau à double entrée de la richesse taxonomique de la faune et de la valeur indicatrice des groupes récoltés. Noté de 0 à 20, l'indice traduit la qualité de l'habitat et celle de l'eau (AFNOR 2004).

Actuellement en France, l'IBGN est progressivement abandonné au profit d'une nouvelle méthode (Usseglio-Polatera, Wasson et al. 2007) pour mieux répondre aux exigences de la DCE.

- Indice Biologique Macrophytes en Rivière (IBMR) pour les végétaux macroscopiques en rivière

Cet indice biocénotique est basé sur un inventaire de macrophytes réalisé selon un protocole normalisé. 208 taxons sont considérés (les macrophytes sont déterminés au niveau spécifique, les algues coloniales et Characées sont déterminées au niveau du genre).

Le % de recouvrement et un coefficient de sténoécie (poids indicateur) des taxons sont intégrés dans le calcul de la note, qui varie de 0 à 20. L'indice fournit une bio-indication de l'état écologique global, avec un poids particulier donné au niveau trophique et aux pollutions organiques graves.

La norme AFNOR NF T90-395 prévoit un protocole qui est cohérent avec le standard européen AFNOR NF EN 14184.

- L'Indice Oligochètes de Bio-indication des Sédiments en eau courante (IOBS) pour les oligochètes en rivière

Cet indice prévoit le prélèvement de sédiment, un tamisage à 0,5 mm, un montage sur lame de 100 individus et l'identification à l'espèce, au microscope. IOBS = 10 x rapport du nombre de taxons sur le % du groupe dominant de Tubificidae (Tubificidae avec soies capillaires ou Tubificidae sans soies capillaires) dans l'effectif total. Interprétation au moyen de l'indice IOBS variant de > 6 (très bon) à < 1 (mauvais) ; % de Tubificidae sans soies capillaires (une valeur élevée indique la présence de micropolluants) ; densité des oligochètes : élevée indicatrice de richesse du sédiment en matières organiques, très faible indicatrice de forte toxicité ; modulation par le % de recouvrement de la station par des sédiments fins susceptibles de renfermer des quantités importantes de toxiques relargables (norme NF T90-390, AFNOR 2002).

- L'Indice Poissons Rivière (IPR) pour les poissons en rivière

L'IPR mesure l'écart entre la composition du peuplement sur une station donnée, observée à partir d'un échantillonnage par pêche électrique, et la composition du peuplement théorique probable servant de référence. Plus l'écart (l'indice) est grand, plus le cours d'eau est dégradé. Sept métriques (nombre d'espèces rhéophiles, nombre d'espèces lithophiles, densité d'individus tolérants, densité d'individus invertébrivores, densité d'individus omnivores, nombre total d'espèces, densité totale) servent au calcul de l'indice et à son interprétation (norme NF T90-344, AFNOR 2004).

## II.6. Comparaison des indices IBD, IBMR, IBGN et IPS

Selon les organismes étudiés et la méthode utilisée, le type de perturbation détecté est différent :

	<b>Diatomées</b> (IBD)	<b>Macroinvertébrés</b> (IBGN)	<b>Macrophytes</b> (IBMR)	<b>Oligochètes</b> (IOBS)	<b>Poissons</b> (IPR)
<b>Sensibilité à la diversité morphologique et à la qualité de l'habitat aquatique</b>	Faible (nécessite seulement la présence d'un substrat dur non envasé)	Forte car forte variabilité des populations en fonction des faciès d'écoulements et des microhabitats	Faible excepté certaines conditions extrêmes (envasement fond, artificialisation berges ...)	Non sensible à la diversité morphologique car prélevé uniquement sur un type de substrat (sédiment)	Forte car dépendant d'habitats de reproduction, de caches et de la continuité entre ces milieux
<b>Sensibilité à la qualité de l'eau</b>	Forte (essentiellement matières organiques, nutriments et salinité)	Forte (essentiellement matières organiques)	Essentiellement trophie (nutriments)	Essentiellement micropolluants et matière organique dans les sédiments	Moyenne
<b>Temps de recolonisation après pollution accidentelle de l'eau (en absence d'apports rapide par l'amont ou des affluents)</b>	Quelques mois	De quelques mois à quelques années (libellules, grands Plécoptères ...)	Quelques mois à un an	Non connu	Long (un an à une dizaine d'années)
<b>Temps d'analyse</b>	2 - 3h	1 jours	2 jours	1 à 2 jours	½ à 1 jour (plusieurs personnes sur le terrain)

### III. LES DIATOMÉES

#### III.1. Généralités sur les diatomées

Les diatomées sont des algues unicellulaires, microscopiques et photosynthétiques présentes dans la plupart des écosystèmes aquatiques. Elles sont appelées également Bacillariophycées et appartiennent à l'embranchement des Chromophytes. Les classifications des diatomées sont nombreuses et ont fait l'objet de révisions successives (Hustedt 1930 ; Germain 1981 ; Krammer and Lange-Bertalot 1986-1991). La classification de Krammer et Lange-Bertalot (Krammer and Lange-Bertalot 1986) distingue deux ordres de diatomées : les **Centrales**, ou Centriques, à symétrie axiale (rassemblent les espèces rondes et cylindriques) et portant des ornements radiales ou concentriques, et les **Pennales**, ou Pennées, à symétrie bilatérale (regroupent les autres).

Leur taille peut varier énormément. Il y a des espèces de petite taille, qui ont un diamètre d'au moins 3 µm comme certaines espèces de *Stephanodiscus* ou *Cyclotella* et des espèces à grande taille, qui ont un diamètre maximal de 2 mm comme *Ethmodiscus* (Snoeijs, Busse et al. 2002).

Les diatomées constituent 25% de la biomasse totale sur Terre (Werner 1977) ; il est estimé qu'elles contribuent à raison de  $1,4 \times 10^{14}$  kg de matière sèche par an. Elle contribuent également au moins à 23% de la production primaire mondiale (Melillo, McGuire et al. 1993, Treguer, 1995 #127). La classe des diatomées comprend de très nombreuses espèces et leur nombre exact reste inconnu. Aujourd'hui, plus de 10.000 espèces de diatomées sont connues (Norton, Melkonian et al. 1996; Poulin and Williams 1998). Des estimations supposent un nombre d'espèces supérieur d'un facteur 10 à 1000 (Mann and Droop 1996) : 200.000 pour Guillard et Kilham (1977), 10 millions de diatomées pour Poulin et Williams (1998). En plus des diatomées contemporaines, les diatomées fossiles et subfossiles sont d'une grande importance. Les diatomées subfossiles comprennent les valves et les restes de valves de cellules planctoniques ou benthiques mortes qui subsistent dans les sédiments lacustres ou marins. On exploite les diatomées fossiles dans de nombreux gisements du monde entier sous le nom de tripoli ou diatomite. Les diatomées les plus anciennes datent de quelque 200 millions d'années (et seraient apparues à cette époque). Comme les valves de diatomées résistent très longtemps aux stress mécanique et chimique, les diatomées mortes, subfossiles et fossiles, peuvent encore être reconnues aujourd'hui et déterminées au niveau de l'espèce pour des études de paléolimnologie (Ruggiu, Luglié et al. 1998).

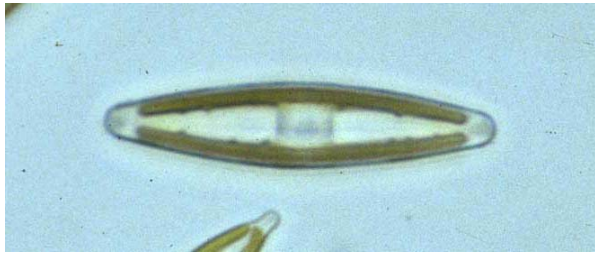
### III.2. Organisation cellulaire

L'organisation cellulaire des diatomées est celle des eucaryotes dont elles font partie. Elles sont unicellulaires et non flagellées.

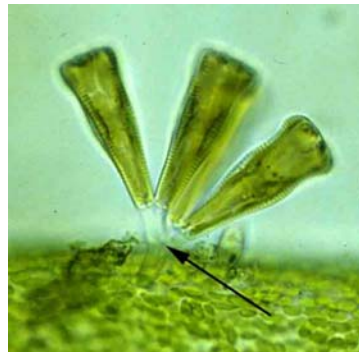
Les cellules contiennent des plastes qui renferment des pigments (chl *a*, chl *c*, β-carotène, et d'autres xanthophylles : diatoxanthine, diadinoxanthine, fucoxanthine..). La couleur verte des chlorophylles est masquée par une quantité importante de pigments caroténoïdes (xanthophylles) qui confèrent à la diatomée sa typique couleur jaune-brun.

Les substances de réserve sont le polysaccharide chrysolaminarine et des graisses stockées sous forme de gouttelettes. La reproduction est surtout asexuée par division mitotique de la cellule et seulement occasionnellement sexuée, par exemple lorsque la taille minimale de l'espèce est atteinte.

Les diatomées se trouvent soit sous forme de cellules isolées soit sous forme de colonies aux formes très variables : en chaînette, en ruban ou en étoile (Image 1 a – f).



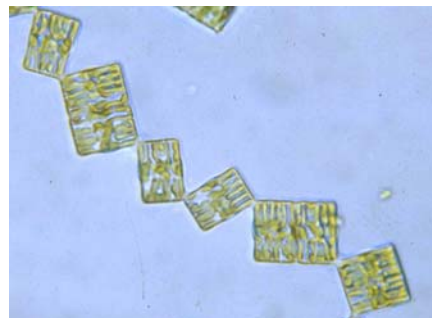
**Image 1a :** *Navicula lanceolata*. Solitaire, mobile



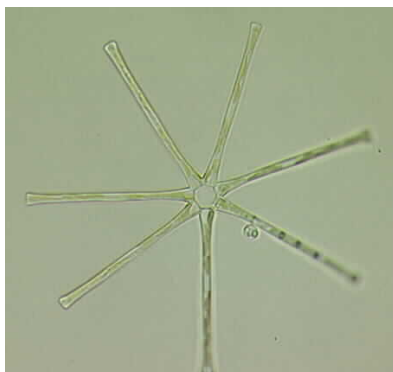
**Image 1b :** *Gomphonema truncatum*, var. *capitatum*, des cellules regroupées, attachées par un pédoncule (flèche).



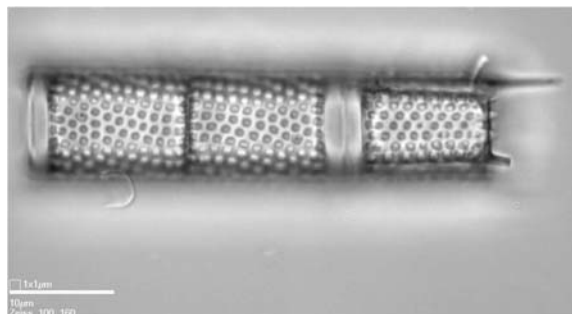
**Image 1c :** *Ulnaria* sp., colonie de cellules regroupées en rosette.



**Image 1d :** *Tabellaria flocculosa*, colonie rubané.



**Image 1e :** *Asterionella formosa*, espèce planctonique, coloniale en forme d'étoile.



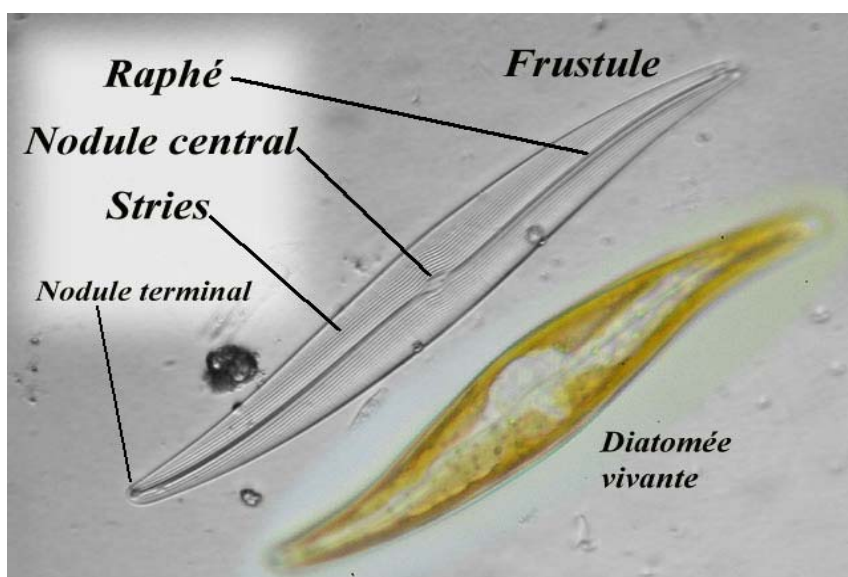
**Image 1f :** *Aulacoseira granulosa*, colonie filamenteuse planctonique.

vie (coloniale, benthique, mobile, etc...) peuvent avoir des conséquences importantes pour la survie et la croissance d'une espèce de diatomée (Passy 2007a; Passy 2007b).

### III.3. Le squelette des diatomées

Leur originalité (ainsi que leur beauté) réside dans le fait que la cellule de la diatomée possède une enveloppe externe, transparente et rigide, souvent délicatement ornementée. Cette enveloppe ou **frustule** est constituée de silice faiblement cristallisée, semblable à du verre. Fondamentalement, le frustule se présente comme une boîte : il se compose de deux parties, le couvercle et le fond, s'emboîtant l'une dans l'autre. Un coffrage constitué de matière organique empêche la dissolution de la silice dans l'environnement aquatique (Vrieling, Sun et al. 2007). On distingue la vue du couvercle ou valve de la vue de "coté" ou les deux valves s'emboîtent, la première est dite vue valvaire et l'autre la vue connective. Chez de nombreuses diatomées ayant un plan de symétrie (les diatomées Pennées), la valve est parcourue, souvent en son milieu, par une fente étroite plus ou moins longue, le raphé, qui met la cellule en contact avec le milieu extérieur, il joue un rôle important dans la locomotion de ce type de diatomées (Image 2). Le raphé est interrompu en son milieu par un épaissement siliceux, le nodule central et se termine aux deux extrémités par des nodules terminaux. Certaines diatomées n'ont qu'un raphé atrophié on parlera alors de **pseudoraphé** de même que l'absence de raphé chez d'autres les classera dans les **araphidées**. Chez de nombreuses diatomées, les valves portent des ornements d'une extrême finesse, les stries, quand elles seront plus grosses on parlera de côtes. Ces lignes observées au microscope électronique font apparaître leur structure faite de minuscules perforations de l'ordre du quart de micron. Pour étudier les diatomées, les classer et les identifier, on débarrasse les frustules de leur contenu cellulaire afin d'avoir accès aux caractéristiques morphologiques du frustule en vue valvaire (de face), en vue connective (de profil) et sur l'ornementation des valves (stries, pores, ponctuations, etc.) au travers

desquels se font les échanges entre le protoplasme de la cellule et le milieu extérieur.



**Image 2.** Gyrosigma avant et après traitement.

De <http://www.microscopies.com/DOSSIERS/Magazine/Articles/D-VOISIN-Diatomees/Diatomee.htm>

Les diatomées produisent des substances extracellulaires polymériques, qui peuvent s'organiser en tubes, pédoncules, fibrilles ou former une enveloppe adhésive autour du frustule (Hoagland, Rosowski et al. 1993). Ces substances sont excrétées par la cellule au niveau des perforations réparties sur toute la surface du frustule (Round, Crawford et al. 1990). Elles sont considérées comme étant en grande partie responsables du succès biologique des diatomées, jouant un rôle dans leur mobilité, leur adhésion au substrat, dans la formation de colonies et contre la dessiccation (Hoagland, Rosowski et al. 1993).

#### III.4. La reproduction chez les diatomées

Deux types de reproduction sont possibles chez les diatomées, la multiplication végétative et la reproduction sexuée.

**La multiplication végétative** se fait par division cellulaire. Le protoplasme s'accroît, exerçant de la pression sur la paroi cellulaire écartant les deux valves. Une mitose s'en suit. Chaque cellule fille conserve une valve de la cellule mère et en fabrique une nouvelle, plus petite que la première. Au fil des générations, on observera ainsi, des individus ayant la même taille que la cellule mère, et d'autres individus qui ont subi une réduction progressive de leur taille. Quand les frustules atteignent la dimension minimale compatible avec la vie, la **reproduction sexuée** intervient. Les modalités de cette reproduction varient chez les Centriques et les Pennées.

#### III.5. Ecologie des diatomées

Leur faible besoin en lumière et en humidité pour se développer les prédispose à occuper des milieux aussi différents que l'eau, l'air (aérosols) et le sol (sols humides, paroi de cavernes...).

En ce qui concerne le milieu aquatique, les diatomées colonisent les eaux douces, les eaux saumâtres et même les eaux salées. On distingue sur la base de l'habitat, les diatomées benthiques ou planctoniques. Les **planctoniques** vivent dans la colonne d'eau et sont majoritairement les formes centriques isolées ou associées en chaînes (image 3b). Parmi les quelques formes pennées des planctoniques se trouvent des colonies rubanées ou étoilées (voir image 1e.). Les diatomées planctoniques sont souvent absentes dans la partie supérieure des cours d'eau et deviennent prédominantes dans les parties moyenne et inférieure des rivières lentes et dans les canaux. Dans les eaux courantes les planctoniques sont peu abondantes et sont représentées par peu de genres et d'espèces.

Les diatomées **benthiques** vivent sur des substrats et sont typiquement les *pennées* qui possèdent des mécanismes d'adhésion au substrat. Selon le type de substrat colonisé on distingue :

- l'épipélon et l'endopélon vivant à la surface et dans le sédiment
- l'épipsammon vivant à la surface des grains de sable
- l'épilithon qui désigne les espèces vivant sur les substrats durs et inertes (pierre, blocs, galets)
- l'épiphyton vivant à la surface des végétaux aquatique
- le périphyton est l'ensemble des organismes se développant en contact avec un support quelconque immergé

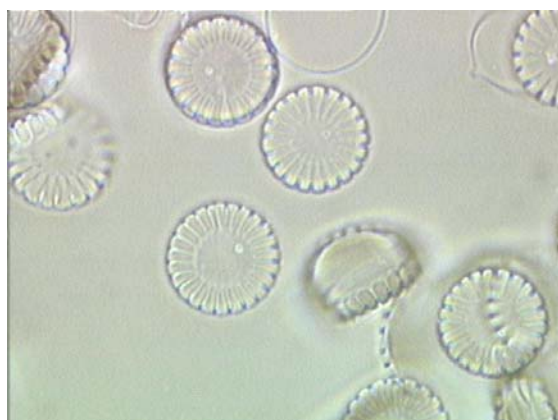


### Structure des communautés périphytiques :

Les communautés périphytiques se développent sur les substrats par accumulation progressive de strates d'algues possédant des « formes de croissance » différentes (Round 1981 ; Roemer, Hoagland et al. 1984 ; Hoagland, Rosowski et al. 1993 ; Mueller 1999). La colonisation d'un substrat vierge débute par la formation d'une matrice de matières organiques et de bactéries. Les petites diatomées **adhérentes** accolées étroitement au substrat par toute leur surface valvaire, sont les premières cellules à se fixer sur le substrat (Biggs 1996 ; Johnson, Tuchman et al. 1997). Des espèces **érigées**, rattachées au substrat par leur partie apicale ou par un très court pédoncule forment également la couche algale basale du biofilm. Ensuite, s'installent des espèces moins fortement rattachées au substrat, par l'intermédiaire de sécrétions mucilagineuses organisées en longs tubes ou pédoncules. Lorsque les conditions du milieu sont favorables, une troisième strate d'algues apparaît sur le substrat, constituée d'espèces **filamenteuses**. La communauté a atteint une architecture très épaisse et est qualifiée de mature. Les communautés périphytiques renferment également des diatomées mobiles, capables de se déplacer à travers les couches supérieures du biofilm grâce aux substances polysaccharidiques qu'elles secrètent (Stevenson 1996 ; Johnson, Tuchman et al. 1997), et des espèces planctoniques, piégées dans la matrice du biofilm. Au fur et à mesure que la structure se complexifie, l'épaisseur s'accroît. La matrice organique, sécrétée par les algues et les bactéries, s'épaissit également, et modifie les interactions physico-chimiques entre le milieu aquatique environnant et le périphyton. Ainsi, elle protège les cellules sous-jacentes des effets érosifs du courant, mais les expose à une limitation des ressources en nutriments et en lumière (Stevenson, Peterson et al. 1991). Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse selon laquelle cette matrice réduirait la toxicité des métaux (Lock, Wallace et al. 1984 ; Ivorra, Brehmer et al. 2000).

### Mode de vie :

Les cellules sont solitaires ou fixées à l'aide de stipes mucilagineux (*Gomphonema*) ou bien vivent dans des tubes muqueux (*Cymbella*). Elles peuvent aussi former des colonies rubanées (*Fragilaria*), étoilés (*Asterionella*) ou filamenteuses (*Melosira*).



**Image 3a.** Diatomée isolées planctoniques : *Cyclotella meneghiniana*



**Image 3b.** Diatomée en chaîne : *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*



**Image 3c et d.** Diatomée benthique indicatrice de milieux pollués : *Nitzschia palea* (à gauche, vivante, à droite, frustule traité)

De nombreuses diatomées sont mobiles à des échelles millimétriques, cependant la structure des communautés est principalement conditionnée par le « stock » d'espèces déjà en place. Elle dépend également de facteurs externes (facteurs physiques et chimiques, pression de prédation, parasitisme, pollution) et d'interactions entre espèces (compétition, excrétion de composés organiques autotoxiques, hétérotoxiques ou stimulants) (Townsend 1989). Différents facteurs physiques et chimiques conditionnent la vie et le développement des diatomées en milieu aquatique :

### Les facteurs physiques

**La vitesse de courant** est un facteur qui conditionne le métabolisme des diatomées, comme la respiration et l'assimilation de substances dissoutes. Les eaux rapides sont normalement très bien oxygénées. Certains auteurs (ex. Denys 1991) définissent des préférences écologiques des espèces de diatomées par rapport à la vitesse (rhéobionte, rhéophile, limnophile, indifférent). Les espèces *rhéobiontes* colonisent exclusivement les eaux courantes, les *rhéophiles* ont une préférence pour les eaux courantes, mais se trouvent aussi dans les eaux stagnantes ; les espèces *limnophiles* ont une préférence pour les eaux stagnantes ou lentes, alors que les diatomées *limnobiontes* vivent exclusivement dans les eaux calmes. Enfin, des espèces indifférentes à la vitesse de courant existent également.

La vitesse de courant influence la distribution des organismes dans un écosystème lotique (Stevenson 1996). La vitesse du courant influe aussi sur la biomasse (Biggs 1996), les formes de vie (Biggs, Goring et al. 1998), les interactions entre algues et brouteurs (Poff and Baker 1997) et la sensibilité envers le cuivre (Sabater, Navarro et al. 2002). La vitesse de courant peut stimuler le processus de photosynthèse (Pfeifer and McDiffett 1975), l'assimilation de nutriments (Lock and John 1979) et la respiration d'algues benthiques (Whitford and Schumacher 1961). L'eau courante cause une diminution de la couche qui se trouve autour de la cellule et renouvelle ainsi les gaz dissous et augmente l'approvisionnement en nutriments (Stevenson and Glover 1993).

**La température** est un des facteurs qui est difficile à mettre en corrélation directe avec le développement de diatomées. En effet, un changement de température affecte une variété de facteurs chimique et biologiques (oxygénation, solubilité, métabolisme,..) qui affectent eux aussi le développement algal. Les diatomées montrent en général, une préférence pour les eaux fraîches printanières et automnales. Les diatomées *sténothermes* tolèrent de petites variations de températures (ca. 10°C), les *eurythermes* supportent très bien des grandes variations, les *oligothermes* vivent seulement à basse température (< 15°C), les *mésothermes* entre 15 et 30°C, et enfin les *euthermes* (*polythermes*) vivent à des températures supérieures à 30°C. Divers auteurs ont montré que les diatomées sont sensibles à la température de l'eau (Pienitz, Smol et al. 1995 ; Wunsam, Schmidt et al. 1995; Weckstroem, Korhola et al. 1997 ; Bloom, Moser et al. 2003; Schmidt, Kamenik et al. 2004 ) et à la température de l'air (Patrick 1971; Lotter, Birks et al. 1997; Bigler, Grahn et al. 2003).

On peut citer le cas de certains taxons caractéristiques de milieux chauds, qui se développent dans les rivières françaises, par exemple à l'aval de centrales nucléaires, ou lors d'épisodes estivaux particulièrement chauds :

- *Diadesmis confervaceae* se retrouve dans des eaux proches de 35°C (Coste and Ector 2000)
- *Achnanthes thermalis* est normalement limité aux sources hydrothermales d'Auvergne (Coste and Ector 2000), mais peut également se retrouver dans des eaux chaudes ou à l'aval de rejets particuliers comme les exhaures de mines (Rimet, Heudre et al. 2007)
- *Nitzschia dissipatoides*, *Gomphonema oahuensis*, *Luticola mitigata*, *Luticola peguana*, sont également des taxons tropicaux que l'on peut retrouver dans des stations thermales ou occasionnellement dans d'autres milieux caractérisés par des eaux chaudes de façon plus ponctuelle.

La température influence le taux de processus métaboliques (respiration, photosynthèse) et la croissance algale est directement liée à ces deux paramètres. En influençant la disponibilité des nutriments, le pH, la salinité, La température influence également indirectement (Kilham, Theriot et al. 1996 ; Weckstroem, Korhola et al. 1997 ; Weckstrom, Korhola et al. 1997; Anderson 2000 ).

**L'intensité de la lumière** joue un rôle important pour tous les organismes photosynthétiques en général et donc aussi pour les diatomées. Les diatomées, comparées aux autres groupes algaux, ont

un faible besoin en lumière, ce qui leur confère un grand pouvoir de colonisation (eau, air, sol). L'intensité de lumière a un effet structurant sur les communautés microalgales, sur le contenu en pigments photosynthétiques (Kawecka 1986), sur leur biomasse et productivité (Rosemond, Mulholland et al. 2000). Enfin, la lumière a une influence sur la toxicité de polluants (Guasch and Sabater 1998).

### Les facteurs chimiques

**Le pH** est un facteur de grande importance. Il agit sur la solubilité de différentes substances et sur la disponibilité de carbone. Hustedt a été probablement le premier à reconnaître l'influence du pH pour les diatomées et a établi un système de classification des diatomées selon leur préférence quant au pH (Hustedt 1939). Il distingue 5 catégories :

- Acidobiontes : vivent à  $\text{pH} < 7$  avec un optimum de croissance à  $\text{pH} < 5,5$
- Acidophiles : vivent à un pH autour de 7, avec un optimum à  $\text{pH} < 7$
- Indifférentes : équidistribution à pH acide et pH basique
- Alcaliphiles : vivent à pH autour de 7 avec un optimum à  $\text{pH} > 7$
- Alcalibiontes : vivent à des valeurs de  $\text{pH} > 7$

Une autre classification est celle de Van Dam et al. (1994) qui se sont inspirés de Hustedt (1938-1939). Plusieurs classes sont distinguées : les espèces *alcalibiontes* (nécessitent un pH basique), les *alcaliphiles* (préfèrent les  $\text{pH} > 7$ ), les *neutrophiles* (développement optimale à  $\text{pH} = 7$ ), les *acidophiles* (préfèrent  $\text{pH} < 7$ ) et les *acidobiontes* (nécessitent un  $\text{pH} < 7$ , pH optimale à 5), les indifférents (pas d'optimum).

Des indices semi-quantitatifs concernant la relation entre composition diatomique et pH ont été développés par Nygaard (Nygaard 1956) et Merilainen (Merilainen 1967). Ces indices utilisent les catégories proposées par Hustedt et l'abondance relative des taxons présents dans deux ou plusieurs de ces catégories. En 1982 Renberg et Hellberg (Renberg and Helberg 1982) ont développé un nouvel indice, l'indice B, en utilisant les abondances relatives et les catégories de pH établies par Hustedt (Hustedt 1939). Puis, en 1984 l'application de la technique de régression linéaire multiple a permis de relier la présence de diatomées dans les catégories de Hustedt au pH du milieu (Charles 1985).

Quelques années plus tard, Holmes (Holmes 1986) a proposé deux équations qui permettent de donner un pronostique du pH à partir d'abondances relatives de diatomées dans chacune des catégories de Hustedt (Hustedt 1939) :

a) La première équation peut être obtenue en utilisant le pH du milieu comme variable dépendante et le log Index B comme variable explicative.

Le pH attribué suite à l'analyse de diatomées =  $7,11 - 0,40 \log \text{indice B}$

Avec indice B = (% indifférents + (5X % acidophiles) + (40X % acidobiontes)) / (% indifférents + (3,5X % alcaliphiles) + (108X % alcalibiontes))

b) La deuxième équation utilise les mêmes données mais en appliquant la technique de régression linéaire multiple :

Le pH attribué suite à l'analyse de diatomées = 7,18 – 0,0097% ACP + 0,0070% ALP + 0,020% ALB

Avec ACP : acidophiles, ALP : alcaliphiles, ALB : alcalibiontes

Dans le cas d'écosystèmes très acides (avec un pH < 4.5) et en présence seulement de diatomées acidobiontes et acidophiles l'indice B a l'inconvénient de ne plus fonctionner (ter Braak and van Dam 1989). Ainsi, ter Braak et van Dam (ter Braak and van Dam 1989) ont proposé deux nouvelles méthodes. La première fait une estimation du pH en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance (angl. : maximum likelihood). La deuxième est appelée la méthode des moyennes pondérées (angl. : weighted averaging) : les espèces ayant un optimum de pH proche du pH d'un milieu aquatique donné vont être les espèces les plus abondantes dans ce milieu. L'évolution dans le temps du pH du milieu peut donc être estimé de façon assez fiable en faisant une moyenne pondérée de l'optimum de pH des espèces présentes qui lui est estimé à partir du pH contemporain. Des espèces avec un faible spectre de tolérance sont des bons indicateurs de pH et cette méthode permet de leur donner un poids plus important. A contrario, des espèces avec une tolérance de pH large sont des mauvais indicateurs, auront un poids moins fort, et enfin des espèces indifférentes auront la valeur zéro.

D'autres méthodes existent, telle que la méthode des moyennes pondérées « plus least squares » (angl. Wa-PLS) (ter Braak and Juggins 1993 ; ter Braak, Juggins et al. 1993).

Grâce à leur persistance de leur squelette dans l'environnement et leur préférence pour un pH donné, les diatomées ont été utilisées avec succès dans des études de paléolimnologie pour reconstruire le pH dans les lacs (Renberg and Helberg 1982; Gasse and Tekaia 1983 ; Hakansson 1992).

La **salinité** affecte également la vie des diatomées. La capacité d'adaptation des diatomées aux variations de la concentration saline en chlorures (NaCl, MgCl<sub>2</sub>) est parfois élevée grâce à leur pouvoir d'osmorégulation (diatomées euryhalines) ou au contraire très limitée (diatomées sténohalines). Divers auteurs ont proposé un « système de salinité » ou « système de halobie » pour les diatomées. (Kolbe, 1972 ; Hustedt, 1956 ; Van Dam, 1994). A partir de ces systèmes, une classification à 7 niveaux est proposée (Dell'Uomo 2004) :

- les diatomées halophobes : ce sont les diatomées d'eau douce qui ne tolèrent pas les chlorures si ces dernières dépassent le seuil de 20 mg/L (ex. *Achnanthes flexella*, *Diatoma hyemalis*, *Neidium alpinum*)
- les diatomées oligohalobes exigeantes : tolèrent seulement une petite quantité en chlorure, de 20 à 50 mg/L (ex. *Achnanthes minutissima*, *Amphora inariensis*, *Fragilaria capucina*)
- les diatomées oligohalobes tolérantes : elles ont un développement optimal autour de 50 à 200 mg/L (ex. *Cocconeis pediculus*, *Cocconeis placentula*, *Gomphonema parvulum*)

- les diatomées halophiles : ce sont des organismes pour lesquels une concentration modérée en sels chlorures est stimulante. La salinité est comprise entre 200 et 500 mg/L (ex. *Caloneis amphisbaen*, *Entomoneis paludosa*, *Cyclotella meneghiniana*). Leur présence est symptomatique d'une pollution minérale modérée d'origine anthropique et parfois naturel (nature de la roche)
- les diatomées β-mesohalobes : ce sont les formes d'eau oligosaumâtre, avec une salinité comprise entre 0,5 et 5 g/L (ex. *Bacillaria paradoxa*, *Navicula halophila*, *Nitzschia lorenziana*). Ces espèces (et d'autres) indiquent une forte pollution minérale.
- Les diatomées α-mesohalobes : formes d'eau saumâtre avec une salinité comprise entre 5 et 20 (-30) g/L
- Les diatomées euhalobes : formes typiquement marines, salinité entre 30 et 40 g/L
- Les diatomées polyhalobes (ou hyperhalobes) : elles tolèrent des valeurs de salinité supérieures à 40 g/L

Les cinq premiers niveaux de cette classification sont caractéristiques de diatomées que l'on peut rencontrer en eau douce. La reconstruction de la salinité des lacs est ainsi possible à partir de la flore de diatomées (Fritz, Juggins et al. 1991).

Les diatomées diffèrent également quant à leur pouvoir de tolérance envers **les charges organiques**. Ainsi, les espèces *polysaprobies* supportent la décomposition des matières organiques et une oxygénation très faible, voire nulle, alors que les espèces *oligosaprobies* ne tolèrent que des eaux pauvres en matières organiques. Les matières organiques sont les principes nutritifs (par exemple les aminoacides), des importants médiateurs chimiques (les vitamines) ou des facteurs d'action antibiotique produits par exemple par les bactéries, les cyanobactéries, les dinophycées ou les champignons.

Certaines espèces de diatomées sont mixotrophes et absorbent des composés organiques (azote organique par exemple) dissous (Cerón Garcí, Fernández Sevilla et al. 2000). Cela a amené certains auteurs tels Van Dam et al (van Dam, Mertens et al. 1994) à classifier les espèces de diatomées selon leurs capacités d'autotrophie ou d'hétérotrophie (facultative ou obligatoire) par rapport à l'azote organique.

**Les nutriments**, tels que l'azote et surtout le phosphore, facteur le plus fréquemment limitant en eau douce, interviennent dans la définition du statut trophique des milieux lotiques et lenticques. Sur la base des teneurs en phosphore totale on distingue ainsi des espèces *hypotrophes* (ultraoligotrophes), *oligotrophes*, *mesotrophes*, *eutrophes*, *hypertrophes*). De façon générale, l'azote, le phosphore, le carbone inorganique et la silice sont des nutriments indispensables aux diatomées.

*Compléter avec référence de (Patrick, 1977; Kelly, 2003)*

La silice est un nutriment majeur limitant la croissance des diatomées (Martin-Jézéquel, Hildebrand et al. 2000). C'est donc un facteur de contrôle de productivité primaire. Les diatomées ont besoin de la silice pour la construction de leur frustule. Le frustule est composé de silice amorphe hydratée ( $\text{Si}_n\text{O}_{2n}$ ).

$(\text{OH})_{nx}$ , avec  $x \leq 4$ ), auquel viennent s'associer de l'aluminium, du magnésium, du fer et du titane. Cette composante inorganique est enveloppée par une composante organique constituée par des aminoacides, des sucres et des sécrétions extracellulaires. La silice est assimilée sous forme soluble ( $\text{Si}(\text{OH})_4$ ). Le besoin en silice varie d'une espèce à l'autre mais également au sein d'une même espèce, selon son stade de développement. Certaines espèces faiblement silicifiées requièrent des concentrations en silice plus faibles par rapport aux espèces fortement silicifiées.

Certaines espèces exigent une concentration en **oxygène dissout** forte pour la respiration, d'autres plus faibles. *Achnanthes flexella* et *Diatoma hyemalis* exigent une oxygénation très forte (100% de saturation), alors que *Craticula accomoda* et *Nitzschia umbonata* réussissent à vivre à des concentrations très faibles d'oxygène (10% de saturation). Van Dam et al. (van Dam, Mertens et al. 1994) classifient d'ailleurs un nombre important espèces selon leur préférendum par rapport à l'oxygénation.

## IV. LES DIATOMEES BENTHIQUES POUR LE SUIVI DE LA QUALITE DE L'EAU

---

Les communautés périphytiques (algues et bactéries) constituent un compartiment privilégié pour la surveillance à long terme des cours d'eau, en raison des leurs exigences spécifiques, des tolérances variables à des gammes de paramètres de qualité des eaux différentes (Stevenson and Pan 1999). Les diatomées représentent une partie majoritaire du volume du périphyton dans la plupart des écosystèmes aquatiques et présentent de nombreuses avantages pour la bio-indication (John 2000 ; John 2000).

### IV.1. Avantages des diatomées benthiques pour le suivi de la qualité de l'eau en rivière

L'investigation des diatomées benthiques est recommandée par la DCE. Les diatomées sont considérées comme des organismes clef pour le suivi de la qualité de l'eau des rivières et ont été utilisées en tant que tel pendant plus d'une décennie dans plusieurs pays d'Europe (Autriche, Suisse, Allemagne, Belgique, France, Pologne, Finlande, Luxembourg, Angleterre, Espagne, Portugal et Italie) (Acs, Szabo et al. 2004). Omniprésentes dans nos rivières, elles intéressent le gestionnaire des systèmes aquatiques en tant qu'indicateurs de la qualité des eaux : acidité, salinité, niveau et nature des pollutions. Les diatomées réagissent rapidement à des perturbations du milieu aquatique. Il existe plus de 7 000 espèces de diatomées dans les eaux douces ou saumâtres. Leurs associations et leur diversité dans un relevé reflètent les conditions environnementales. Elles apportent des informations complémentaires parfois plus fiables que les analyses chimiques, trop instantanées.

Le choix d'utiliser pour le suivi biologique d'une rivière les diatomées est justifié par les points suivants :

- elles sont présentes toute l'année dans tous les cours d'eau (cosmopolites) (Acs, Szabo et al. 2004).
- elles sont complètement immergées dans l'eau (donc exposées de façon complète aux variations environnementales) immobiles). Cependant, certaines diatomées sont aérophiles et peuvent ainsi vivre à l'interface air-eau.
- elles ont une mobilité restreinte ce qui permet d'obtenir à la différences des analyses physico-chimiques, une mesure intégrée dans le temps des variations de la qualité du milieu dans lequel elles se développent
- elles sont bien connues d'un point de vue systématique et écologique
- leur richesse est particulièrement élevée
- les diatomées permettent une intégration rapide des variations des conditions de milieu (étant à la base des réseaux trophiques dans la chaîne alimentaire, ces organismes à cycle de vie très court, allant de quelques heures à quelques jours selon les espèces et les caractéristiques du milieu (Eppely 1977 ; Baars 1983 ; Stevenson and Pan 1999) peuvent réagir directement aux polluants et plus rapidement que les macro-invertébrés au cycle de vie plus complexe.
- elles ont un temps de résilience court (2-4 semaines). Une communauté détruite ou endommagée a une capacité élevée de se reconstituer une fois la perturbation enlevée
- les échantillons peuvent être conservés (Acs, Szabo et al. 2004)
- ces algues sont physiquement et chimiquement résistantes grâce à leur squelette en silicium
- étant des producteurs primaires, les algues sont plus directement affectées par les facteurs physiques et chimiques de l'eau (Barbour *et al.*, 1999).
- l'échantillonnage est facile (en partie à cause de leur taille microscopique), peu coûteux, requiert peu de gens, et minimise les impacts sur la faune en place (Barbour *et al.*, 1999)
- les communautés d'algues sont sensibles aux polluants organiques et minéraux (Eulin *et al.*, 1993) qui n'affecteront pas d'autres organismes ou qui affecteront d'autres organismes, mais seulement à des concentrations élevées (Barbour *et al.*, 1999).

Contrairement aux mesures physico-chimiques, l'utilisation des bio-indicateurs peut diminuer la variabilité temporelle des données en fournissant une information représentative sur une plus longue période de temps (Berryman, 1990), quelques semaines concernant les diatomées.

#### **IV.2. Inconvénients des diatomées benthiques pour le suivi de la qualité de l'eau en rivière**

Leur identification demande des bonnes connaissances en taxonomie (Acs, Szabo et al. 2004) et se tenir au courant continuellement car la classification des diatomées est en évolution permanente : plus de 400 nouveaux taxons sont décrits chaque année. A cela se rajoute le problème de comment différencier les diatomées mortes des vivantes étant donné la persistance du squelette diatomique après la mort de la cellule. Ainsi le risque de compter des diatomées pas reliées aux conditions actuelles d'un site existe. Lors d'un comptage de diatomées, il est impossible de parler en quantités absolues en diatomées dans un site. Une large proportion en diatomées présentes dans un



échantillon peut y être amené par le courant naturel amont aval. Toutefois, les risques sont minimisés par le prélèvement en zone lotique : les frustules morts sont emportés par le courant et ne se retrouvent pas dans le biofilm.

### **IV.3. Echantillonnage de diatomées benthiques en rivière**

Ce chapitre fait part des recommandations données par Kelly et al. (Kelly, Cazaubon et al. 1998) pour l'échantillonnage en routine de diatomées pour la détermination de la qualité de l'eau en Europe. **Ces recommandations ont été ensuite retranscrites en normes européennes et nationales (AFNOR 2003 ; AFNOR 2004 ; AFNOR 2007).**

Dans la majorité des cas (en particulier dans les sites caractérisés par des vitesses de courant élevées), les pierres sont les substrats les plus abondants, les méthodes d'échantillonnage sont relativement simples et les préférences écologiques des espèces les plus communes sont connues. Cependant, en particulier en plaine, d'autres substrats (par exemple des macrophytes immergées, le sédiment) sont également importants et peuvent être échantillonnés en cas d'absence de pierres.

#### **IV.3.1. La sélection du site d'échantillonnage**

L'IBD est applicable aux stations situées sur les cours d'eau naturels ou artificialisés à l'exception des zones naturellement salées. Il est également nécessaire que les supports nécessaires aux prélèvements soient présents, et aient été suffisamment immergés et soient accessibles.

Si le site a été préalablement défini, les prélèvements seront réalisés à l'endroit défini, sauf si les conditions de prélèvement (représentativité, accessibilité...) conduisent le responsable des prélèvements à choisir un autre site (à condition que le client n'ait pas interdit cette possibilité).

Dans la mesure du possible les zones présentant un courant d'eau (zones de radier par exemple) sont préférées aux zones lenticules de dépôts. En milieu lentique (ex. canaux), les prélèvements doivent se faire sur des supports verticaux préférentiellement pour éviter les phénomènes de sédimentation.

#### **IV.3.2. Période d'échantillonnage**

Pour le suivi de la qualité de l'eau (par exemple dans le cadre de réseaux de suivis institutionnels), au moins un échantillon par site et par an est requis. Cet échantillon doit être pris soit en période d'étiage soit quand l'on s'attend à la concentration maximale de la pollution. Par ailleurs, il est nécessaire d'attendre au moins 4 semaines après un orage.

#### **IV.3.3. Choix du substrat**

Les diatomées **épilithiques** (qui poussent sur des rochers et d'autres substrats durs) sont la communauté échantillonnée préférée pour les suivis de la qualité de l'eau en Europe et cela pour un certain nombre de raisons :

- Ces substrats sont souvent disponibles dans les rivières et pendant toute l'année
- Les échantillons sont simples à collecter
- Les performances des indices diatomiques pour ce genre de substrat sont bien connues

De préférence, ce sont les cailloux et les galets qui sont échantillonnés, même si l'épiliton se développe également sur des blocs et sur des substrats durs artificiels. Comme substrats artificiels les lames en verre (Cattaneo and Amireault 1992) peuvent être utilisées ; maintenant on utilise le plus souvent des surfaces tels que des carreaux (faïences) non vernis. Le design de substrat artificiel doit être tel qu'il n'attire pas l'attention de passants et qu'il n'interfère pas avec les usagers légitimes de la rivière (par exemple les pêcheurs). Le temps de colonisation doit être strictement le même afin de pouvoir comparer plusieurs sites entre eux.

Des directives différentes sont requises selon si les cailloux sont recouverts d'algues filamenteuses ou pas. En absence d'algues filamenteuses :

- L'objectif est d'utiliser des cailloux qui sont stables en conditions normales hydrologiques. Des cailloux (ou à la limite des galets) sont généralement utilisés, moins les rochers pour des raisons de manœuvrabilité. La plupart des directives recommandent de collecter au moins 5 cailloux (ou 10 galets) dans la même zone d'échantillonnage.
- La surface supérieure des cailloux est échantillonnée
- La plupart des échantillonneurs prennent des brosses à dents dures plutôt qu'un couteau ou une lame à rasoir. Les poils des brosses à dents pénètrent mieux dans les irrégularités des cailloux que les lames et endommagent moins les frustules. Cependant il n'est pas possible d'enlever toutes les diatomées avec une brosse à dent. Les lames sont plus efficaces sur des surfaces lisses et sont plus faciles à laver.

En présence d'algues filamenteuses (>75% recouvrement) :

La technique décrite ci-dessus est légèrement modifiée en présence d'algues filamenteuses. La technique consiste à trouver des cailloux faiblement recouverts d'algues filamenteuses, puis de les enlever à main, le caillou est ensuite rincé dans la rivière (une note doit être faite). Une deuxième possibilité est d'échantillonner les diatomées qui se trouvent autour des algues filamenteuses s'il n'est pas possible de trouver de supports naturels durs.

Les diatomées **épiphytiques** qui poussent sur des macrophytes et des macroalgues ont été échantillonnées dans un certain nombre d'études. Il est cependant difficile de donner des recommandations précises pour l'échantillonnage de cette population en raison de la grande diversité morphologique des macrophytes et des macroalgues (Torrise et al 2006). Dans le cadre de la norme sur l'IBD, elles peuvent être prélevées seulement si l'on ne trouve pas de supports durs naturels, ni de supports durs non naturels. L'échantillonnage peut se faire par expression ou grattage de tige de macrophytes.

Les diatomées épipsammiques vivent dans le sédiment et ont été utilisées dans certaines études (Round and Bukhtiyarova 1996). Il n'est pas possible, à l'heure actuelle, de donner des recommandations pour le suivi de la qualité de l'eau en routine. Dans le cadre de la norme sur l'IBD, elles ne doivent pas être prélevées car mauvaises indicatrices de la qualité de l'eau.

#### **IV.3. 4. Préparation des lames au laboratoire**

Avant la préparation des lames, un examen rapide de l'échantillon est fait au laboratoire et d'éventuelles anomalies sont notées (présence d'un grand nombre de frustules vides). Si l'échantillon est analysé dans les heures qui suivent l'échantillonnage et si toutes les mesures sont prises afin de minimiser les divisions cellulaires (stockage de l'échantillon dans un endroit frais et sombre) alors l'ajout d'un conservateur n'est pas nécessaire. Pour un stockage sur du court terme, l'échantillon peut être soit congelé ou additionné de Lugol. Pour des stockages sur du long terme, on choisira comme conservateur soit du formol soit de l'alcool.

Le but de cette étape est de produire une lame permanente sur laquelle des comptage de diatomées statistiquement valables pourront être faits.

- Une portion de l'échantillon d'origine doit être conservée au moins jusqu'à ce que la lame soit contrôlée sous le microscope
- Plusieurs méthodes existent afin de nettoyer les frustules. L'utilisation du peroxyde d'hydrogène est conseillée. Cependant des mélanges contenant des acides forts sont également utilisés avec succès.
- Dans des rivières à fond calcaire, un traitement à l'acide dilué s'impose afin d'éviter la formation de sels calcaire insolubles.
- Plusieurs passages soit de centrifugation soit de sédimentation sont requis afin d'enlever toutes traces d'agents oxydants et acides
- Cette suspension nettoyée doit être conservée dans le cas où d'autres lames sont requises
- Pour la préparation de lames permanentes, une goutte de la suspension doit être séchée sur une lamelle propre (épaisseur 0) soit à température ambiante soit à  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  sur une plaque chaude.
- Une résine avec un indice de réfraction  $> 1,6$  est utilisée en collant la lamelle avec l'échantillon sur une lame de verre. La résine est chauffée pour en faire une lame permanente.
- La densité des diatomées présentes sur la lame doit être telle que les espèces dominantes peuvent être facilement identifiées et comptées.
- Des copies de lames permanentes doivent être stockées et correctement identifiées

#### **IV.3. 5. Identification et comptage des diatomées**

L'identification se fait par observation de la lame en microscopie optique (immersion, 100x). Au moins 400 frustules de diatomées par échantillons sont identifiées. Les diatomées peuvent être identifiées selon les sources suivantes : Cemagref/Agences de l'eau (1999). Ces outils sont essentiellement destinés aux débutants et ne sauraient par conséquent se substituer à une flore détaillée dont l'usage reste recommandé. Les flores de référence pour la flore diatomique européenne sont : Krammer and Lange-Bertalot (1986-1991) ; Krammer (2000) ; Lange-Bertalot (2001) et Krammer (2002).

#### **IV.3. 6. Transformation des données diatomiques obtenues par comptage microscopique**

Les données diatomiques peuvent être tout simplement transformées en abondance relative de chaque espèce présente. Ces données peuvent servir dans le cas d'analyses multivariées telles que les méthodes d'ordination ou de classification (Ward).

Pour simplifier cette information, d'autres méthodologies ont été mises en place, telles que les métriques d'intégrité biotique (richesse spécifique, biodiversité, densité) et le calcul d'indice diatomiques (IBD, IPS,...) afin d'évaluer la qualité des cours d'eau. Ces méthodes peuvent fournir une première indication sur l'état d'un écosystème et évaluer l'effet d'un stress physique ou chimique.

#### **IV.3. 6. 1. Métriques d'intégrité biotique**

Une des conséquences de la contamination et des altérations naturelles (sécheresse, crues,...) ou d'origine anthropiques (rejets chimiques, barrages,...) produites dans les eaux sont les modifications induites dans la structure des communautés naturelles. En effet, certaines espèces disparaissent car elles ne tolèrent pas les nouvelles conditions et d'autres prolifèrent. Dans le cas du bio-monitoring fluvial, il est donc particulièrement important de garder à l'esprit qu'il existe de nombreuses causes naturelles qui peuvent également induire une diminution de la biodiversité.

Les communautés non altérées sont constituées par :

- un nombre réduit d'espèces très abondantes,
- un nombre faible d'espèces rares,
- un nombre important d'espèces formées par des populations réduites.

Une perturbation (ou un stress naturel) peut modifier la structure des communautés naturelles, diminuer la diversité et réduire le nombre d'espèces.

**a) Indice de Shannon-Weaver** (Shannon and Weaver 1949) est l'un des indices de biodiversité les plus connus et les plus utilisés par les spécialistes:

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

Avec  $H'$  : indice de biodiversité de Shannon-Weaver ;  $i$  : une espèce du milieu étudié ;  $p_i$  : proportion d'une espèce  $i$  par rapport au nombre total d'espèces dans le milieu ;  $s$  : nombre d'espèces

Les valeurs de la diversité  $H$  ont différentes significations :

$H'$  est minimal (= 0) si tous les individus du peuplement appartiennent à une seule et même espèce,  $H'$  est également minimal si, dans un peuplement chaque espèce est représentée par un seul individu, excepté une espèce qui est représentée par tous les autres individus du peuplement. L'indice est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale sur toutes les espèces (Frontier 1983). De la même manière, l'indice de Shannon est d'autant plus élevé que le nombre d'espèces est grand. Cet indice permet de quantifier la biodiversité d'un milieu d'étude et donc d'observer une évolution au cours du temps.

**b)** L'indice de Shannon est souvent accompagné de l'indice d'équitabilité de Pielou (1966), appelé également **indice d'équirépartition E** (angl. : evenness) (Blondel, 1979) ou régularité, qui représente le rapport de  $H'$  à l'indice maximal théorique dans le peuplement, c'est-à-dire à un peuplement où toutes les espèces auraient le même effectif ( $H'_{\max}$ ). Cet indice peut varier de 0 à 1. Il est maximal quand les espèces ont des abondances identiques dans le peuplement. Dans ce cas, le milieu apporte les conditions nécessaires au bon développement des espèces. Il n'y a pas d'espèces prédominantes, la compétition alimentaire est équilibrée. A contrario, cet indice est minimal (0) quand une seule espèce domine tout le peuplement ce qui provoque un déséquilibre dans la distribution taxonomique. Le milieu est plus favorable au développement de certaines espèces pouvant être préjudiciables à d'autres.

$$E = H' / H'_{\max}$$

Insensible à la richesse spécifique, il est très utile pour comparer les dominances potentielles entre stations ou entre dates d'échantillonnage.

**c) Indice de Simpson** mesure la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce :

$$D = \sum Ni(Ni-1) / N(N-1)$$

$N_i$  : nombre d'individus de l'espèce donnée ;  $N$  : nombre total d'individus.

Cet indice aura une valeur de 0 pour indiquer le maximum de diversité, et une valeur de 1 pour indiquer le minimum de diversité. Dans le but d'obtenir des valeurs «plus intuitives», on peut préférer l'indice de diversité de Simpson représenté par  $1-D$ , le maximum de diversité étant représenté par la valeur 1, et le minimum de diversité par la valeur 0 (Schlaepfer, Bütler, 2002).

Il faut noter que cet indice de diversité donne plus de poids aux espèces abondantes qu'aux espèces rares. Le fait d'ajouter des espèces rares à un échantillon, ne modifie pratiquement pas la valeur de l'indice de diversité.

**d) Indice de diversité de Hill** est une mesure de l'abondance proportionnelle, permettant d'associer les indices de Shannon-Weaver et de Simpson :

$$\text{Hill} = (1/D) / e^{H'}$$

où  $1/D$  est l'inverse de l'indice de Simpson et  $e^{H'}$  est l'exponentiel de l'indice de Shannon-Weaver.

L'indice de diversité de Hill permet d'obtenir une vue encore plus précise de la diversité observée.  $1/D$  va permettre la mesure du nombre effectif d'individus très abondants.  $e^{H'}$  va en revanche permettre de mesurer le nombre effectif d'individus abondants mais surtout des espèces rares.

Plus l'indice de Hill s'approche de la valeur 1, et plus la diversité est faible. Afin de faciliter l'interprétation, il est alors possible d'utiliser l'indice 1-Hill, où la diversité maximale sera représentée par la valeur 1, et la diversité minimale par la valeur 0. C'est l'indice de Hill qui semble le plus pertinent dans la mesure où il intègre les deux autres indices et permet ainsi des comparaisons de peuplements différents. Toutefois, il peut être utile d'utiliser les trois indices conjointement afin d'en extraire un maximum d'informations et de mieux comprendre la structure des communautés.

#### **e) Richesse spécifique**

La richesse spécifique correspond au nombre total d'espèces présentes dans un milieu ou une station donnée. Grâce à cet indice, nous pouvons donc comparer des écosystèmes très différents par leur richesse spécifique et donner ainsi une idée sur la qualité de structuration du peuplement.

Le principe de la richesse spécifique est basé sur le fait que le milieu exerce une sélection naturelle sur les différents taxons. Cette sélection se fait à deux niveaux :

- Au niveau écophysologique de la tolérance, de l'adaptation des organismes et des facteurs de l'environnement.
- Au niveau de la productivité de l'écosystème qui conditionne le nombre de niches écologiques pouvant accueillir les différents taxons.

#### **f) Densité**

La densité est définie comme le nombre d'individus dénombrés par unité de surface. Selon Gold (thèse), la densité des diatomées sur les substrats (D, exprimée en nombre de cellules par cm<sup>2</sup>) requiert un comptage de 200 cellules au minimum. Elle est calculée d'après la formule :

$$D = (A \times V) / (n \times 1,25) \times (1/S)$$

Où A : nombre total de cellules dénombrées ; n : nombre de champs ; V : volume initiale de l'échantillon formolé de périphyton (µL) ; S : surface totale des lames de verre raclées par échantillon (cm<sup>2</sup>)

### **IV. 3. 6. 2. Courbes rang-fréquence**

Les diagrammes rang-fréquence (Patrick, 1949, Patrick et al., 1954) sont les diagrammes obtenus en reportant en abscisse les espèces rangées par ordre décroissant d'abondance (l'espèce la plus abondante = rang 1) et en ordonnée les fréquences associées sur une échelle logarithmique le plus souvent. La forme de la courbe donne des informations quant à la présence de pollution. Ces courbes fournissent un moyen pour représenter de façon visuelle l'équitabilité et la richesse spécifique. Une pente raide indique une équitabilité faible.

### IV. 3. 6. 3. Indices diatomiques

En Europe plus d'une vingtaine d'indices, basées sur les diatomées benthiques épilithiques destinées à évaluer la qualité des eaux, existent. Aujourd'hui, les indices diatomiques sont utilisés en routine en France ainsi que dans plusieurs pays d'Europe, pour le suivi de la qualité des eaux superficielles.

En prenant en considération la sensibilité des diatomées envers divers types de pollution, différents indices biologiques d'évaluation de la qualité de l'eau ont été conçues, indices qui sont basés sur des critères et modalités de calcul différents.

On distingue les indices de type saprobique qui traduisent l'enrichissement en matières organiques biodégradables, les méthodes indicelles de type trophique qui traduisent un enrichissement en substances nutritives (phosphore et azote), les méthodes visent à exprimer l'acidification des eaux et enfin celles qui ont pour objectif l'évaluation de la qualité générale de l'eau et qui intègrent donc les matières organiques, les substances nutritives ainsi que divers paramètres tels que les chlorures, la conductivité, le pH. En revanche, il n'existe pas d'indices visant à exprimer une pollution par les sels chlorures (NaCl ou MgCl<sub>2</sub>) ou une pollution par des métaux. Pourtant les effets de ce genre de pollution sont bien connus : les communautés de diatomées soumises à de fortes concentrations de ces polluants, voient leur densité et leur taille diminuer, avec apparition de malformations cellulaires.

Nous avons fait le choix délibéré d'exposer les indices diatomiques les plus souvent utilisés en Europe pour le bio-monitoring en rivière, bien que d'autres indices existent.

#### a) DIFFERENTIATING SPECIES SYSTEM

Le "Differentiating species system" (Lange-Bertalot 1978) fut un des premiers indices à être utilisé. Cet indice prend en considération 100 (ou 50 selon la version) espèces de diatomées qui sont classées dans 3 classes de qualité (résistante, sensible, ubiquitaire). Leur abondance relative dans un échantillon permet d'évaluer l'état d'un site. Cet indice a été établi pour le suivi d'une pollution organique.

$$PTI = \sum n_i t_i$$

Cet indice varie de 1 (mauvaise qualité) à 3 (bonne qualité)

où  $n_i$  = nombre de cellules pour l'espèce  $i$ ,  $t_i$  = valeur de tolérance pour l'espèce  $i$  et  $N$  = le nombre total de cellules diatomiques comptées

#### b) L'INDICE DE SCHIEFELE-SCHREINER (SHE)

L'indice SHE (Steinberg and Schiefele 1988 ; Schiefele and Schreiner 1991) ressemble au "Differentiating species system". 386 espèces sont rangées dans 7 groupes de niveaux trophiques et

de résistance à la pollution. Cet indice a été établi afin de suivre l'acidification (Acs, Szabo et al. 2004).

c) INDICE CEC (=CEE) INDICE DE LA COMMISSION DE LA COMMUNAUTE EUROPEENNE

L'indice CEE est le fruit d'une recherche effectuée afin d'obtenir un indice diatomique standardisé utilisable dans les pays de la Communauté européenne (Descy and Coste 1991). Il fait appel à 250 taxons environ. Ensuite, des travaux ont été réalisés par le Cemagref en France (Coste, 1990), qui a réduit le nombre de taxons à 208 espèces. Ces espèces sont rangées dans une grille de détermination (tableau à double entrée). Les taxons sont répartis d'une part en 8 groupes de taxons plus euryèces (à large plage écologique) classés horizontalement par ordre de sensibilité à la pollution décroissante de la gauche vers la droite et d'autre part en 4 sous-groupes de taxons plus sténoèces (espèce présentant une niche écologique étroite) classés verticalement suivant un gradient croissant d'alcalinité/minéralisation. L'indice CEE est calculé par l'intersection de la colonne et de la ligne du tableau et varie de 0 à 10 avec transformation sur 20.

d) L'INDICE saprobique de ZELINKA ET MARVAN

Zelinka et Marvan (1961) ont mis au point un indice de saprobie en se basant sur l'analyse de la communauté algale (parmi laquelle les diatomées) et de macroinvertébrés. Cet indice est calculé à partir d'informations relatives à l'abondance, à la fiabilité et à la sensibilité des espèces à la pollution.

$$ID = (\sum_{j=1}^n A_j \cdot S_j \cdot V_j) / \sum A_j \cdot V_j$$

avec  $A_j$  : abondance relative de l'espèce ;  $S_j$  : polluosensibilité de l'espèce  $j$ , varie entre 1 (taxon fortement résistant à la pollution) et 5 (taxon très sensible à la pollution) ;  $V_j$  : valeur indicatrice de l'espèce ou degrés de sténoécie, varie entre 1 (faible poids écologique, taxon ayant une grande amplitude écologique donc euryèce) et 3 (fort poids écologique, taxon ayant une faible amplitude écologique donc sténoèce).

e) Les indices dérivés de ZELINKA ET MARVIN

Un certain nombre d'indices diatomiques utilisés en Europe reposent sur la formule de base de Zelinka et Marvan (1961) avec des variantes concernant le choix et l'échelle des classes de sensibilité. Certains évaluent le niveau trophique (TD), d'autres le niveau saprobique (ILM, ROTT, SLA), et d'autres encore la pollution globale (DES, DI-CH, EPI-D, GDI, SPI).

- INDICE de LECLERCQ ET MAQUET (ILM)

Leclercq et Maquet (1987) ont mis au point cet indice ; 5 classes de sensibilité, 400 espèces utilisées.

- INDICE SAPROBIQUE DE ROTT (SI)



Cet indice a été développé par Rott et al. (Rott et al 1997, 1999) pour l'Autriche et considère 500 **espèces** et 5 classes de sensibilité, basées sur leurs préférences saprobiques.

- INDICE TROPHIQUE DE ROTT, le  $T_{Dia}$

Cet indice a été développé par Rott et al. (Rott, Pipp et al. 1999 ; Rott, Pipp et al. 2003 ) pour l'Autriche et considère 500 taxons et 5 classes de sensibilité, basées sur leurs préférences trophiques.

Il détecte les

Indice trophique	Etat trophique	Ptot moy annuelle (mg/L)	Ptot valeurs extrêmes
<= 1	Ultraoligotrophe	< 0,005	<0,010
1,1-1,3	Oligotrophe	<0,010	<0,020
1,4-1,5	Oligo-mésotrophe	0,010-0,020	<0,050
1,6-1,8	Mésotrophe	<0,030	<0,100
1,9-2,2	Méso-eutrophe	0,030-0,050	<0,150
2,3-2,6	Eutrophe	0,030-0,100	<0,250
2,7-3,1	Eu-polytrophe	>0,100	>0,250
3,2-3,4	Polytrophe	0,250-0,650	>0,650
>3,4	Poly-hypertrophe	>0,650	>0,650

- INDICE SI (Saprobic Index) DE SLADECEK

L'indice SI (Sladeczek 1986) combine les valeurs de représentativité et de saprobité (affinité pour la matière organique) des espèces. 5 classes de sensibilité (de 4 à 0) ; 323 espèces utilisées

- INDICE DE DESCY (DES)

L'indice de Descy (Descy 1979) a 5 classes de sensibilité, 106 espèces utilisées. Il évalue la pollution globale.

- INDICE SUISSE DES DIATOMÉES (DI-CH)

C'est un indice de pollution globale. L'indice est calculé pour une station de prélèvement, à partir du relevé floristique. Pour cela, pour chaque taxon présent, les données suivantes sont nécessaires :

-valeur  $H_i$  : abondance relative du taxon (le 100% représente les valves de diatomées dénombrées dans l'échantillon)

-valeur  $D_i$  (préférence autoécologique)

-valeur  $G_i$  (valeur de pondération du taxon : caractérise sa représentativité en tant qu'organisme indicateur)

L'indice prend des valeurs situées entre 1 (eaux courantes très propres) et 8 (eaux courantes très chargées) avec une précision de 0,5 unité (donc 15 niveaux possibles). En ce basant sur cette échelle de valeurs, l'eau de la station peut être attribuée à l'une des 5 classes d'état écologiques (très bon, bon, moyen, médiocre, mauvais, mauvais)

$$DI-CH = (\sum_{i=1}^n D_i G_i H_i) / (\sum_{i=1}^n G_i H_i)$$

Avec n: nombre de taxon de l'échantillon

Indice des diatomées	1	2	3	4	5	6	7	8
Classes d'état selon le système modulaire gradué	Non pollué à faiblement pollué			Faiblement pollué	Nettement pollué	Fortement à très fortement pollué		

- INDICE D'EUTROPHISATION/POLLUTION (EPI-D)

L'EPI-D a été développé par Dell'Uomo (1996, 1999 et 2004). La sensibilité des espèces est traduite par un indice qui va de 0 à 4 et avec une fiabilité qui va de 5,1 à 1. Les taxons considérés sont 350 regroupés en 5 catégories

Les paramètres les plus importants qui influencent cet indice prennent en considération la sensibilité des diatomées envers la charge organique, le degré de minéralisation du corps hydrique (surtout chlorures) e la concentration en nutriments. Ainsi on y trouve l'oxygène dissout et le pourcentage de la valeur de saturation, la BOD5, le phosphore total, e surtout les orthophosphates, l'azote ammoniacal, l'azote nitrique, les chlorures, les sulfates, la dureté totale et la conductibilité.

$$EPI-D = \text{Somme } a * r * i / \text{somme } a * r$$

avec a, abondance de chaque espèce ; r, confiance de chaque espèce; i, indice intégré pondéré de sensibilité de chaque espèce

Le résultat obtenu est une valeur comprise entre 0 et 4 (le zéro indique de l'eau propre) et le calcul s'effectue au deuxième chiffre décimal. Dans le but de comparer l'EPI-D avec d'autres indices diatomiques européens l'on peut uniformiser les résultats en les reconduisant sur une échelle 1-20 (20 indique des eaux propres), toujours en exprimant le résultat au premier chiffre décimal.

- INDICE DIATOMIQUE GENERIQUE (IDG)

L'IDG a été proposé par Rumeau et Coste (1988) (Coste and Ayphassorho 1991) pour proposer une alternative à l'IPS. Cet indice est donc basé sur les mêmes principes que l'IPS mais les diatomées présentes sont identifiées seulement au niveau du genre. Ceci permet d'engager du personnel moins qualifié. En eau douce, tous les genres interviennent dans le calcul de l'IDG. L'IDG se calcule pour chaque station à l'aide de la formule suivante :

$$IDG = (\sum_{j=1}^j A_j S_j V_j) / (\sum_{j=1}^n A_j V_j)$$

$A_j$  représente l'abondance exprimée en pourcentage,  $S_j$  représente la sensibilité de chaque genre face à la pollution (elle varie de 1 pour les plus résistantes à 5 pour les plus sensibles) et  $V_j$  représente la variabilité (elle varie de 1 pour les formes les plus courantes à 3 pour les formes les plus caractéristiques)

Les valeurs de l'IDG vont de 1 à 5 en ordre décroissant du niveau de contamination.

$IDG \geq 4.5$  Qualité biologique optimale, pollution nulle.

$4 < IDG > 3,5$  Qualité subnormale. Pollution faible.

$3,5 < IDG > 3$  Pollution modérée. Eutrophisation.

$3 < IDG > 2,5$  Pollution moyenne. Eutrophisation accentuée.

$2 < IDG > 1,5$  Disparition des espèces sensibles. Forte pollution.

$1 < IDG > 1$  Très forte pollution.

$IDG = 0$  Au-dessous d'une valeur de 10 individus par  $mm^2$  le peuplement est considéré comme inexistant.

- INDICE DE POLLUOSENSIBILITE SPECIFIQUE (IPS)

L'indice de Polluosensibilité Spécifique de Coste (Coste, in Cemagref, 1982 ; (Coste 1986)) reste à ce jour l'un des indices les plus utilisés en Europe. L'IPS est considéré comme l'indice de référence. Il intègre les effets de tous les polluants, incluant la pollution organique, la salinité, les toxines etc. Cet indice utilise les notions d'abondance relative, de sensibilité à la pollution (de 5 : très sensible à 1 : très tolérant) et de valeur indicatrice (de 1 à 3). Il utilise plus de 5300 espèces différentes (synonymes compris). Il fournit d'excellents résultats mais reste difficile à appliquer en raison de la difficulté rencontrée pour l'identification des espèces. Cet indice est régulièrement actualisé pour intégrer les nouvelles espèces ou les nouvelles synonymies.

$$Spi = (\sum_{i=1}^n A_i i v_i) / (\sum_{i=1}^n A_i v_i)$$

Avec A : l'abondance relative du taxon i ;  $i_i$  est l'indice de sensibilité du taxon i (varie de 1 à 5) ;  $v_i$  est valeur d'indicateur (indicator value) de i (varie de 1 à 3).

La valeur obtenue pour cet indice varie entre 1 et 5, mais a été transformée par Descy et Coste (Descy and Coste 1988) afin d'être exprimé entre 1 et 20 en utilisant la formule  $IPS = 4,75 \times IPS - 3,75$

- INDICE DIATOMIQUE TROPHIQUE (TDI) selon Kelly et Whitton (Kelly and Whitton 1995)

L'indice TDI a été développé en Angleterre par Kelly (Kelly and Whitton 1995 ; Harding and Kelly 1999) et a été successivement amélioré par Kelly (Kelly 1998), puis en 2001 (Kelly 2001). Cet indice évalue la sensibilité des taxons, en relation avec les concentrations en substances nutritives telles que le phosphate soluble réactif, le phosphore total, les nitrates et l'ammoniaque (Kelly et Whitton, 1995).

Il est donc sensible à la pollution inorganique (eutrophisation). Il sélectionne certaines espèces dominantes et regroupe plusieurs d'autres espèces dans des genres.

Cet indice est basé sur l'utilisation de 86 **espèces** qui ont été sélectionnées sur la base de leur capacité d'indication.

$$TDI = (WMS \times 25) - 25$$

avec WMS : Weighted Mean Sensitivity

$$WMS = (\sum_{j=1}^n a_j s_j v_j) / (\sum_{j=1}^n a_j v_j)$$

avec  $a_j$  : abondance de l'espèce  $j$ ,  $s_j$  : sensibilité à la pollution (1-5) de l'espèce  $j$ ,  $v_j$  : valeur d'indicateur (1-3).

Cet indice donne une estimation de 5 niveaux de concentrations en orthophosphates.

Sensibilité à la pollution (S)	Description
1	L'optimum se situe $\leq 0,01$ mg/L de filtrable P
2	L'optimum se situe entre 0,01 mg/L et 0,035 de filtrable P
3	L'optimum se situe entre 0,035 et 0,1 mg/L de filtrable P
4	L'optimum se situe entre 0,1 et 0,35 mg/L de filtrable P
5	L'optimum se situe entre 0,35 et 1 mg/L de filtrable P

- DIATOM ASSEMBLAGE INDEX TO ORGANIC POLLUTION (DAIPO, indice de WATANABE = WAT)

Cet indice a été établi par Watanabe et al. (Watanabe, Asai et al. 1985 ; Watanabe, Asai et al. 1986 ; Watanabe 1988; Watanabe, Satoh et al. 1990 ) et établit une corrélation entre la DBO5 (Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours) et l'abondance relative des taxons (tolérants, indifférents et sensibles). Cet indice est donc sensible à la pollution organique (BOD5). 226 espèces sont utilisées.

$$DAIpo = 50 + 1/2 \cdot (\sum_{i=1}^p X_i - \sum_{i=1}^q S_j)$$

avec  $\sum_{i=1}^p X_i$  = pourcentage de la somme des espèces saproxènes de 1 à  $p$  ;  $-\sum_{i=1}^q S_j$  = pourcentage de la somme des espèces saprophiles de 1 à  $q$

- FABRI ET LECLERQ METHOD (1984)

Les espèces sont classées en 6 groupes avec des tolérances différentes en regard à la pollution organique et acide. Cet indice est calculé en prenant en considération l'abondance relative de chaque groupe, et est comparé à une valeur d'indice qui correspond à un site de référence non pollué. 146 espèces sont utilisées.

- ZIEMANN'S HALOBON INDEX

Ziemann s'est inspiré du système de classification établi par Kolbe (Kolbe 1927) et a développé l'indice « halobique » « Halobion index » (Ziemann 1971 ; Ziemann 1982). Cet indice est bien adapté aux concentrations absolues en chlorures, aux fluctuations salines et à la composition ionique relative (en particulier le rapport alcaline/calcium). L'indice varie entre -100 et +100 et donne des informations sur la qualité de l'eau en mesurant les effets biologiques du sel sur les organismes benthiques. Les espèces diatomiques sont regroupées en cinq classes (« Halobion groups ») : polyhalobes, mesohalobes, oligohalobes-halophiles, oligohalobes-indifférents et haloxéniques. L'attribution des espèces à un groupe est faite selon Ziemann (Ziemann 1982 ; Ziemann 1999) et Pankow (Pankow 1990) et en considérant également les données de Hofmann (Hofmann 1998) et Strecker (Strecker 1997). L'indice de Ziemann (Ziemann 1971 ; Ziemann 1982) est basé sur « the estimation frequencies » (cf. tableau ci dessous) et est calculé de façon suivante :

$$H = [(\sum h_H - \sum h_x) / \sum h] * 100$$

Où H = l'indice de Ziemann ;  $\sum h_H$  = la somme des abondances (de 1 à 9) des espèces indicatrice de sel « Halobion species » (polyhalobes, mesohalobes, halophiles) ;  $\sum h_x$  = somme des abondances des espèces haloxéniques ;  $\sum h$  = abondance total de toutes les espèces trouvées

Relation entre abondance relative (%) et fréquences estimées (h) selon Ziemann (Ziemann 1982)

H selon Ziemann (1982)		Abondance relative (%)	
1	Vraiment rare		< 1
2	Rare	≥ 1	< 5
3	Moyen	≥ 5	< 20
5	Abondant	≥ 20	< 50
7	Vraiment abondant	≥ 50	< 100
9	Nombreux	100	

Comme on a vu plus haut, cet indice est calculé à partir d'estimations d'abondances relatives et utilise des groupes d'abondance sur une échelle de 1 à 9. Ces groupes sont clairement non-équidistants et plus équivalents à une distribution logarithmique. Dans le cas d'une étude où les abondances relatives sont calculées à partir d'un comptage réel et que ces abondances relatives sont exprimées en pourcentages, elles ne peuvent pas être utilisées directement dans la formule pour le calcul de l'indice. Deux autres approches pour calculer l'indice existent :

a) les abondances relatives exprimées en pourcentages (par rapport à par exemple 500 frustules comptées), sont converties en utilisant la table de conversion de Hofmann (Hofmann 1997) : 1 = « + » (des espèces rares pas incluses dans le comptage) ; 2 = < 1% ; 3 = > 1% et <= 2.5% ; 5 = > 2.5% et <= 10% ; 7 = > 10% et <= 25% ; 9 = > 25%.

b) l'indice est directement calculé à partir des abondances relatives exprimées en pourcentages comme in Jahn (Jahn 1990) :

$$\text{Halobian Index} = \sum h_H - \sum h_x$$

où  $\sum h_H$  est la somme des abondances relatives (%) à partir de 500 frustules) des espèces halobion ;  
 $\sum h_x$  est la somme des abondances relatives (%) des espèces haloxéniques.

Indépendamment du fait comment le calcul de l'indice est fait, la classification des eaux est faite de la manière suivante :

Classification des eaux, basée sur les indices halobion selon Ziemann (Ziemann 1999)

Eaux douces	H < -30	Infrahalobic
	H ≥ -30 < -10	Gamma-oligohalobique
	H ≥ -10 < + 15	Beta-oligohalobique
	H ≥ + 15 < +30	Alpha-oligohalobique
Eaux salées	H ≥ +30 < + 50	Beta-mesohalobique
	H ≥ + 50 < +75	Alpha-mesohalobique
	H ≥ + 75	polyhalobique

- INDICE BIOLOGIQUE DIATOMIQUE (IBD)

Les six Agences de l'Eau et le Cemagref ont engagé en 1994 une collaboration en vue de développer un Indice Biologique Diatomées ou IBD à l'usage des gestionnaires et applicable à l'ensemble du réseau hydrographique français, et du Réseau National de Bassin en particulier. Deux versions normalisées de l'IBD se sont succédées depuis la première version produite en 1995 (la première : Prygiel and Coste 1998, normalisée en 2000 ; la deuxième normalisée en 2007). Une description détaillée de la mise au point de l'IBD a été donnée par Lenoir et Coste (Lenoir and Coste 1996). L'IBD est normalisé (AFNOR 2000, 2007). Le calcul de l'IBD implique la prise en compte d'un nombre de taxons (209 taxons pour la version de 2000, 1488 taxons dans la version de 2007), tous les taxons sont répartis à l'intérieur de sept classes de qualité d'eau définies à partir de 14 paramètres physico-chimiques. Une fois que les données sont mises dans le logiciel d'analyse (Omnidia, Lecointe et al. 1993), le calcul d'indices se fait automatiquement.

- Calcul en ‰ de l'abondance A de chaque taxon apparié (et des taxons associés le cas échéant)
- Elimination des taxons appariés présentant une abondance inférieure aux valeurs seuils indiquées par la norme (abondance inférieure à 7.5‰, soit 3 diatomées sur 400).
- Calcul de la probabilité de présence d'un taxon apparié fictif représentatif du peuplement étudié pour chacune des classes de qualité de l'eau i selon la formule suivante :

$$F(i) = \frac{\sum_{x=1}^n A_x * P_{x(i)} * V_x}{\sum_{x=1}^n A_x * V_x}$$

où  $A_x$  est l'abondance du taxon apparié X exprimé en ‰,  $P_{x(i)}$  est la probabilité de la présence du taxon apparié X pour la classe de qualité i ,  $V_x$  est la valeur écologique du taxon apparié X , n est le nombre de taxons appariés retenus après application du seuil de présence.






7 valeurs de F(i) sont calculées puisque l'IBD définit 7 classes de qualité de l'eau.

- Calcul de B qui correspond à la valeur de l'IBD sur 7 et constitue une valeur intermédiaire, selon la formule du barycentre :

$$B = 1 \cdot F(1) + 2 \cdot F(2) + 3 \cdot F(3) + 4 \cdot F(4) + 5 \cdot F(5) + 6 \cdot F(6) + 7 \cdot F(7)$$

- Calcul de l'IBD sur 20 (celui-ci ne s'exprime qu'avec une seule décimale):

$$IBD/20 = 4.75 \cdot IBD - 8.5$$

17	≤	très bonne qualité	≤	20	: couleur bleue	
13	≤	bonne qualité	<	17	: couleur verte	
9	≤	qualité moyenne	<	13	: couleur jaune	
5	≤	mauvaise qualité	<	9	: couleur orange	
1	≤	très mauvaise qualité	<	5	: couleur rouge	

Pour la version de 2000 (Afnor 2000), l'analyse par la méthode de co-inertie de la structure commune des tableaux de données chimiques et biologiques exprimées en classes d'abondance (Chessel and Mercier 1993) a permis de dégager un axe d'ordination des 1332 inventaires selon la pollution organique et saline. A partir de cet axe découpé en 7 classes de qualité de l'eau, 3 types de profils écologiques ont été décrit en plus de l'absence du taxon : classe 1 : simple abondance, classe 2 : abondance moyenne à forte, classe 3 : forte abondance. Pour qu'une espèce soit prise en compte, son abondance relative doit dépasser le seuil inférieur de la classe dans laquelle elle intervient. On dispose ainsi pour chacun des 209 taxons de profils de probabilité de présence. Le calcul de l'IBD est réalisé en effectuant le produit des probabilités de présences des espèces pour chacune des 7 classes de qualité d'eau. On obtient alors une courbe avec en abscisse les 7 classes de qualité d'eau et en ordonnée les produits de probabilité de présence. Le barycentre de cette courbe correspond à la valeur de l'IBD (note sur 7). Cette note est transformée en note sur 20 pour faciliter les comparaisons avec d'autres indices biologiques. Toutes ces opérations sont effectuées automatiquement par l'utilisation du logiciel Omnidia (Lecointe, Coste et al. 1993), une fois les résultats du comptage entrés sur ordinateur. Le logiciel calcul d'ailleurs 14 indices diatomiques.

Une méthodologie semblable a été utilisée pour la version 2007 de l'IBD (Afnor 2007) avec un jeu de données nettement plus large, provenant notamment des Directions Régionales de l'Environnement.

Les performances de l'IBD sont très acceptables. L'IBD est corrélé avec les principaux paramètres de la qualité des eaux (pollution organique et eutrophisation) et tout particulièrement avec l'ammonium, l'azote Kjeldhal et les phosphates.

- COMPARAISON DES INDICES

Tableau récapitulatif : Nombre d'espèces ou genres utilisé pour le calcul de chaque indice

Indice	Diff	SHE	CEE	ILM	ROTT	SLA	Descy	EPI-D	IDG	IPS	TDI	IBD
N°taxon	100 (ou 50)	386	208	210	500	323	106	350	all	all	86	209 (version 2000) 1488(version 2007)

Les abréviations sont reprises et explicitées dans le tableau suivant. Toutes les espèces sont listées dans Omnidia (6500 dont 1800 ont les valeurs d'indicateur et de sensibilité).

Des nombreuses études comparatives ont été réalisées et il en ressort que les indices de Sladeczek et l'Indice saprobique de Rott sont uniquement liés à la pollution organiques, alors que les indices IDG, IPS et CEC intègrent davantage la qualité globale de l'eau (pollution organique, salinité, eutrophisation).

L'avantage de l'indice IPS par rapport aux autres est de prendre en compte un grand nombre d'espèces.

En considérant l'ensemble des indices diatomiques étudiés, les indices sont sensibles à divers facteurs.

Ceux sensibles aux nutriments sont :

- le TDI selon Kelly et Whitton (Kelly and Whitton 1995)
- l'indice trophique of Rott (Rott, Pipp et al. 1999)
- le TDI selon Schiefele et Kohmann (Schiefele and Kohmann 1993)

Il convient de rappeler que le phosphore est en théorie le nutriment qui limite le plus souvent la production primaire en milieu d'eau douce. Par contre dans bien des cas, c'est l'azote qui est le facteur limitant ; Dans la pratique il est extrêmement difficile de distinguer les effets de ces deux nutriments. Ces indices trophiques décrivent la distribution de diatomées en relation avec les orthophosphates (la forme dissoute) ou le phosphore total. L'utilisateur de ces indices doit être conscient du fait que phosphore total et orthophosphates sont normalement corrélés et aussi que le phosphore et l'azote sont corrélés entre eux. Ces indices doivent être traités comme indicateurs généraux d'état trophique.



Tableau des indices basés sur les diatomées et utilisés en Europe (A : Autriche, ADN : Andorra, B : Belgique, CH : Suisse, D : Allemagne, E : Espagne, F : France, FIN : Finlande, GB : Grande Bretagne, GR : Grèce, I : Italie, L : Luxembourg, MK : Macédoine, P : Portugal, PL : Pologne).

Mode de calcul	Méthode	Pays
Calcul effectué avec les abondances relatives de chaque type de pollution	Diff : Differentiating species system (Lange-Bertalot 1978; Lange-Bertalot 1979)  SHE : Steinberg et Schiefele indice SHE (Schiefele & Schreiner 1991)	CH, D  D
Calcul effectué avec une grille à double entrée	CEE : Indice CEE (Descy & Coste 1991)	F, B, L, AND, E, P
Formule de Zelinka et Marvan (Zelinka and Marvan 1961) : calcul effectué avec les valeurs d'abondance, de sensibilité et de fiabilité pour chaque espèce	Descy indice, DES (Descy 1979)  IPS : Indice de Polluosensibilité Spécifique (Coste 1982)  SLA : Sladeczek indice (Sladeczek 1986)  ILM : Indice Leclercq et Maquet (Leclercq & Maquet 1987)  IDG : Indice Diatomique Générique (Coste & Ayphassorho 1991)  TDI : Indique Diatomique Trophique (Schiefele & Kohmann 1993)  EPI-D : Indice d'Eutrophisation/Pollution (Dell'Uomo & Tantucci 1996 ; Dell'Uomo 2004)  ROTT : Indice Saprobique de Rott (Rott, Hofmann et al. 1997)  TDI : Indice Trophique des Diatomées, (Kelly 1998)  ROTT : Indice Trophique de Rott (Rott, Pipp et al. 1999)  DI-CH : indice suisse (Huerlimann & Niederhauser 2002)	B, L  F, PL, L, FIN, GR, E, P P  B, L, P  F, PL, FIN  D, FIN  I, E  Ch, A  GB  A  CH
Calcul effectué avec l'abondance spécifique et la probabilité de présence de chaque espèce dans de classes de qualité	IBD : Indice Biologique Diatomique (Lenoir and Coste 1996 ; Prygiel and Coste 2000)	F, L, P

Ceux sensibles à la matière organique et donc au niveau saprobique sont :

- l'indice saprobique de Rott (Rott, Hofmann et al. 1997), le SI (indice de Sladeczek, (Sladeczek 1986))
- le « Differentiating species system » (Lange-Bertalot, 1978, 1979)
- l'IPS
- le GDI
- l'indice de Watanabe (Watanabe, Asai et al. 1985 ; Watanabe, Asai et al. 1986 ; Watanabe 1988; Watanabe, Satoh et al. 1990 )

Plusieurs auteurs ont mis en évidence qu'il est difficile de distinguer la pollution organique de la pollution inorganique en se basant sur les diatomées lorsque la pollution est forte, car une forte contamination par des polluants organiques est souvent accompagnée d'une forte pollution inorganique en raison de la minéralisation de la matière organique (Kelly and Whitton 1995 ; Kelly 1998).

Plusieurs auteurs (Fesel 1984 ; Scharf 1984) ont suggéré, que certaines espèces diatomiques peuvent se nourrir de matière organique en raison de leur fort développement dans des stations de traitement d'eaux usées. Il reste à déterminer si ces espèces réagissent directement à la charge organique (par exemple en étant hétérotrophe), ou si elles sont plus compétitives que d'autres espèces dans des conditions particulières qui sont reliées à la pollution organique (concentrations toxiques en ammonium ou faible saturation en oxygène).

Ceux révélant l'acidification des eaux sont :

- l'indice de salinité de Ziemann (1971, 1982, 1999) et Ziemann et al. (2001)

Certaines méthodes permettent l'estimation directe du pH d'après les assemblages diatomiques (ter Braak and van Dam 1989), notamment le « Diatom Tolerance Grade System » de Schreiner (Schreiner 1990; Schreiner 2009 ).

Ceux sensibles à la qualité générale du milieu, intégrant les caractéristiques physico-chimiques des cours d'eau.

- indice diatomique CEE (Descy and Coste 1991).
- IPS (Coste in Cemagref 1982)

Ces méthodes prennent en compte la plupart des déterminant physiques, chimiques et biologiques, dont la matière organique biodégradable (DBO, DCO), ainsi que les teneurs en azote, phosphore... Certaines incluent également les chlorures, le pH et la conductivité.

## V. LES TYPES DE POLLUTIONS ETUDIEES DANS LE CADRE DU PROJET

---

Bien que nous ayons déjà parlé de la pollution des milieux aquatiques dans le chapitre n° II, nous allons examiner ici en détail les types de pollution qui concernent l'activité industrielle, tels que la pollution métallique, la pollution qui génère un changement de pH, la pollution avec des micropolluants.

### V.1. Les métaux lourds

#### V.1. 1. Généralités

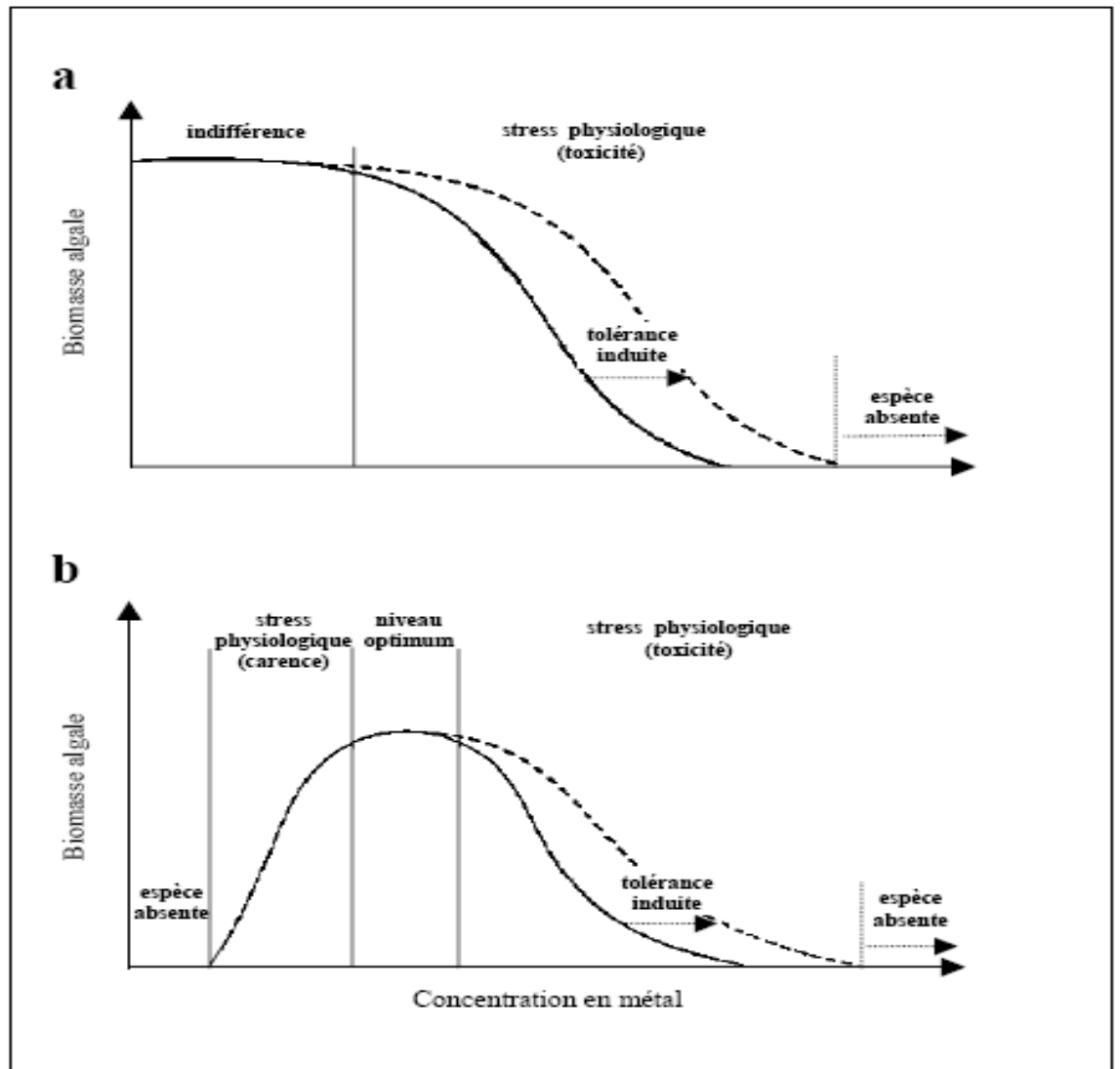
On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels dont la masse volumique dépasse 5 g/cm<sup>3</sup>. Ceux-ci sont présents normalement le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces : mercure, plomb, cadmium, cuivre, arsenic, nickel, zinc, cobalt, manganèse. Les plus toxiques d'entre eux sont le plomb, le cadmium et le mercure.

Les métaux lourds sont présents dans l'eau, l'air et les sols. Comme tous les minerais, ceux-ci sont présents à l'état naturel et plus précisément dans les roches (arsenic, plomb..). Ces réserves naturelles ne constituent pas en elles-mêmes de danger à proprement parler. Des phénomènes naturels tels que l'érosion de roches ou les éruptions volcaniques et l'activité humaine, par l'exploitation des gisements naturels et par les activités industrielles et urbaines, participent à leur diffusion dans l'environnement.

On distingue divers types de rejets de métaux : les rejets physiques (par exemple le plomb), les rejets atmosphériques (le mercure, le cadmium, l'arsenic, le chrome, le plomb) et les rejets dans l'eau. L'eau constitue un élément fondamental en matière de pollution, puisque dans le cas des métaux, comme pour d'autres composées, celle-ci va favoriser de nombreuses réactions chimiques. L'eau transporte les métaux lourds, et les insère dans les chaînes alimentaires (algues, poisson, etc.). Pendant de nombreuses années, les industries situées à proximité de cours d'eau ont rejeté leurs effluents dans ceux-ci. A ce phénomène (de plus en plus limité par l'installation de station d'épuration au sein même des sites industriels), il faut ajouter l'érosion et le ruissellement de l'eau sur les sols et chaussées. Les métaux lourds arrivent également dans les eaux océaniques de surface par transport atmosphérique et par le « upwelling » et sont généralement présents à des concentrations faibles dans ces eaux. En revanche, les eaux côtières montrent des concentrations plus élevées en raison de la présence de rivières, de zones urbaines (Wickfors and Ukeles 1982 ; Dickman 1998) industrielles (Esser and Volpe 2002) et agricoles. Les écosystèmes aquatiques sont très vulnérables aux métaux car les composés métalliques de la phase particulaire peuvent s'accumuler dans le sédiment et être libérés dans l'eau interstitielle, accroissant ainsi la concentration en métaux solubles ou en suspension.

#### V.1. 2. La toxicité des métaux lourds

Les métaux lourds posent un problème particulier de pollution car ils ne sont pas biodégradables. Les organismes peuvent acquérir les métaux lourds soit directement, en assimilant les métaux au sein d'un environnement contaminé, soit indirectement à travers la chaîne alimentaire. Les métaux lourds tels que le cuivre et le zinc sont essentiels à la vie quand présents à des concentrations faibles, alors que d'autres métaux tel que le plomb et le mercure n'ont pas de fonction biochimiques connue et utile et leur toxicité est reconnue, même à de très faibles concentrations (De Filippis and Pallaghy 1994; Allan 1997 ) (Fig. 1). Les métaux essentiels influencent le développement algale : une carence ou un excès vont engendrer un stress physiologique (Fig. 1).



**Fig. 1.** Réponses des algues à une augmentation de la concentration en métaux lourds dans le milieu : (a) métaux "non-essentiels" ; (b) métaux "essentiels"(d'après De Filippis and Pallaghy 1994, modifié).

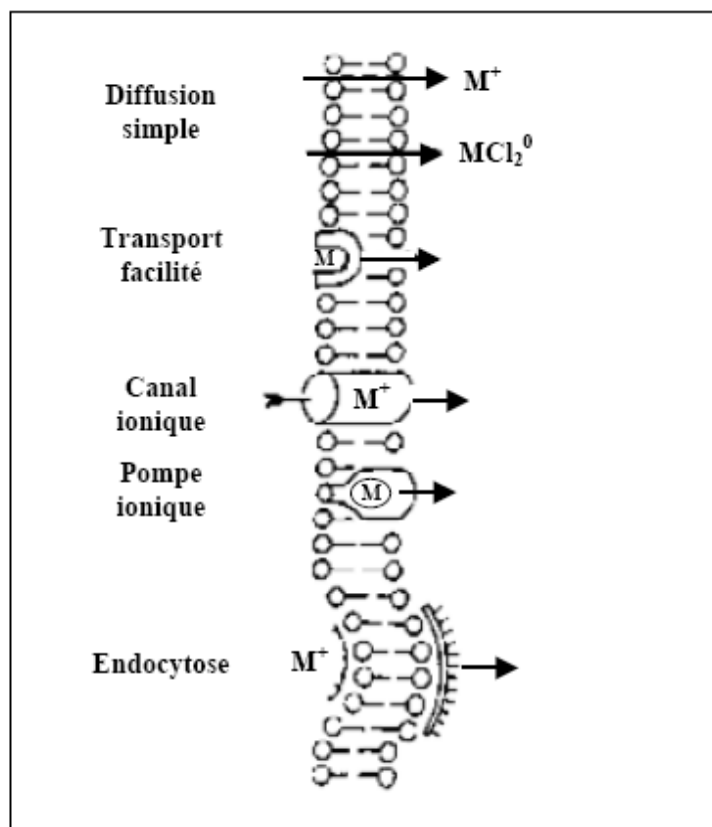
Enfin, même à des faibles doses, ces métaux lourds essentiels posent des problèmes de toxicité en raison du phénomène de bio-accumulation (ils se concentrent dans les organismes vivants pouvant atteindre des taux très élevés dans certains organismes). Leur réactivité et donc leur toxicité varie

avec l'état oxydatif des métaux lourds et leur nombre de coordination et est liée à un stress oxydatif dû à la production d'espèces réactives d'oxygène (l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs) et donc à un déséquilibre de l'état redox au sein de la cellule (Pinto, Sigaud-Kutner et al. 2003). D'une façon générale, la toxicité des métaux est réduite en présence de composés organiques non-ioniques ou colloïdaux ou aussi des ligands organiques sulfates (Dickman 1998), la forme dissoute est plus bio-disponible donc plus toxique (Morin 2006).

Au cours des prochains paragraphes nous allons voir comment se fait l'entrée des métaux lourds dans les cellules algales, comment ils agissent au sein de la cellule, la capacité de stockage de métaux lourds des algues et les effets des principaux métaux lourds pour les algues.

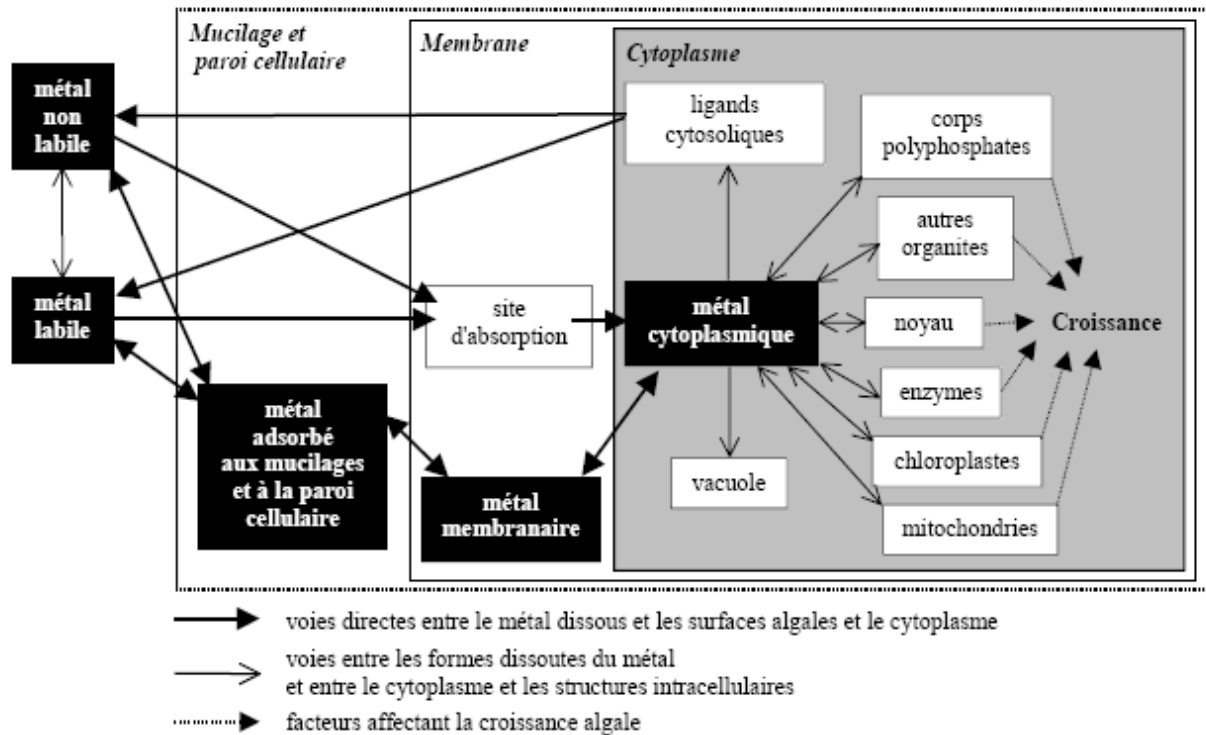
### **a) Assimilation et accumulation des métaux lourds par les cellules algales**

La toxicité du métal lourd dépend de son efficacité d'assimilation par les algues. Pour les algues benthiques formant un biofilm, plusieurs facteurs influencent l'assimilation de métaux lourds. Ces facteurs sont soit des facteurs chimiques qui affectent la biodisponibilité soit en affectant la spéciation du métal soit en complexant le métal à la surface de l'organisme (Mason and Jenkins 1995 ; Lage, Soares et al. 1996 ; Guegen, Gilbin et al. 2004), mais aussi de facteurs biologiques et physiques. Les facteurs chimiques, comme la température de l'eau, les concentrations en nutriments, le pH, la dureté, etc., influencent de façon importante la toxicité des métaux vis-à-vis des microalgues (Genter and Amyot 1994; Wang and Dei 2001). Par exemple, dans le cas d'une diminution de pH, les ions H<sup>+</sup> entrent en compétition avec les ions métalliques pour les sites d'adsorption à la surface des cellules algales. L'augmentation de la dureté de l'eau peut également diminuer la toxicité des métaux, ces derniers étant en compétition avec les ions calcium, magnésium et manganèse pour les sites d'adsorption membranaires, et pouvant se complexer et précipiter avec les carbonates, les bicarbonates et les hydroxydes de calcium et de magnésium présents dans le milieu. Parmi les facteurs biologiques on a l'épaisseur et la nature de la couche biologique (Admiraal, Blanck et al. 1999) et l'importance de la surface de contact avec le milieu. Ces auteurs ont montré que les espèces phytoplanctoniques qui présentaient une importante surface de contact avec leur milieu, accumulaient une quantité considérable de métaux. Parmi les facteurs physiques, on a la température, la vitesse de courant etc. La vitesse de courant revêt une importance particulière (Sabater, Navarro et al. 2002) en réduisant la couche qui entoure le biofilm et en permettant l'approvisionnement en gaz et ions (Riber and Wetzel 1987). L'assimilation de métaux lourds de la part des algues est un mécanisme qui se fait en deux étapes. La première c'est l'étape physique (sorption) et la deuxième dépend du métabolisme (Genter 1996). Pendant cette deuxième phase, l'assimilation de métaux lourds est liée au coefficient de diffusion, à la surface de la cellule et à l'épaisseur de la cellule. Plus en détail :



**Fig. 2.** Les différents mécanismes de transport des métaux à travers les membranes biologiques (d'après Simkiss and Taylor (Simkiss and Taylor 1989), modifié par Gold (Gold 2002)).

Les ions métalliques sont capables de traverser la membrane cellulaire, et différents mécanismes ont été proposés (Fig.2) qui pourraient être responsables de leur transport vers l'intérieur de la cellule (voir Pinto, Sigaud-Kutner et al. 2003). Les ions métalliques peuvent soit entrer par diffusion simple (transport passif), soit par transport facilité en faisant intervenir des protéines transporteurs ou des canaux ioniques (comme les canaux  $Ca^{++}$ ), suivant le gradient de concentration, soit par transport actif, nécessitant une consommation d'énergie (en se liant à des molécules de poids moléculaire faible comme la cystéine et entrer dans la cellule par transport actif en utilisant des transporteurs d'acides aminés), contre le gradient de concentration, soit enfin par endocytose en se liant à des protéines à pouvoir chélatant comme la métallothionéine (Sorrentino 1979; Genter 1996). Les métaux lourds peuvent être à l'origine d'une dépolarisation de la membrane cellulaire et d'une acidification du cytoplasme.



**Fig. 3.** Modèle schématique du devenir d'un métal absorbé par une cellule algale (d'après Genter (Genter 1996) modifié par Gold (Gold 2002)).

A l'intérieur de la cellule, les métaux n'apparaissent quasiment jamais à l'état d'ions libres ; ils sont adsorbés, transportés et mis en réserve dans le cytoplasme sous forme de complexes métalloprotéiques (Fig.3). Une étude expérimentale a montré qu'il existe une relation directe entre la concentration en métaux dans le milieu et la cinétique d'accumulation par des diatomées (Tien, Sigeo et al. 2005), suivant le modèle d'adsorption de Freundlich :

$$x/m = K_f * C^{1/n}$$

Où  $x/m$  : concentration en métal sorbé,  $K_f$  : constante de Freundlich,  $C$  : concentration en métal dans l'eau et  $1/n$  : constante d'intensité d'adsorption.

### b) Mécanismes de toxicité des métaux lourds pour les cellules algales

De nombreux auteurs ont décrit les mécanismes de toxicité des métaux sur les diatomées, en mettant en évidence des effets sur la photosynthèse, la croissance algale, la respiration, la multiplication, l'assimilation de nutriments et la synthèse de molécules.

Ces effets sont des conséquences d'une perturbation liées au transport des métaux vers l'intérieur de la cellule (altération de la perméabilité membranaires (De La Rocha, Hutchins et al. 2000), perturbation du système des perméases impliquées dans le transfert du phosphate et de la silice à l'intérieur de la cellule (Conway 1978), modifications biochimiques de la paroi cellulaire et de la

membrane plasmique (Wong, Chau et al. 1987 ; Guanzon, Nakahara et al. 1994) ou les conséquences de dommages intracellulaires provoqués par les métaux. En fait, les métaux présents dans le cytosol endommagent les cellules car au au-delà de concentrations limites, il y a saturation des sites de liaison, réduisant la capacité d'adsorption des métaux par les cellules (Rijstenbil and Gerringa 2002), induisant ainsi un stress oxydatif par génération d'espèces réactives d'oxygène. Ces dernières sont également produites par respiration et par photosynthèse mais en quantités gérables pour la cellule, et constituent une menace constante pour les cellules car en pouvoir d'oxyder des protéines, des lipides et des acides nucléiques, pouvant être à l'origine d'altération de la structure cellulaire et de mutagenèse (Halliwell and Gutteridge 1999). La toxicité des métaux se manifeste également par une inhibition de la croissance résultant de perturbations de la division cellulaire causées par la diminution de la concentration intracellulaire en thiols induite par les métaux (Gerringa, Rijstenbil et al. 1995 ; Perrein-Ettajani, Amiard et al. 1999). Dans ces conditions, la reproduction asexuée est le mode de multiplication privilégié, elle conduit à une sélection des individus les plus petits (Cattaneo, Asioli et al. 1998 ; Joux-Arab, Berthet et al. 2000). Enfin des interférences avec le métabolisme de la silice (De La Rocha, Hutchins et al. 2000) sembleraient être responsables de l'apparition de formes tératologiques, liée à la déformation des frustules. D'autres conséquences des dommages intracellulaires sont une inhibition de la croissance globale des populations diatomiques (Perrein-Ettajani, Amiard et al. 1999; Gold, Feurtet-Mazel et al. 2003) et des altérations de l'activité photosynthétique (Takamura, Kasai et al. 1989 ; Hill, Bednarek et al. 2000 ; Soldo and Behra 2000). Cette dernière est attribuable à des dérèglements de l'activité enzymatique de la cellule (Paulsson, Nystrom et al. 2000) et à des perturbations du fonctionnement des photosystèmes (Guanzon, Nakahara et al. 1994). Les métaux sont également à l'origine d'une diminution de la densité des diatomées et donc à une réduction de la biomasse algale (Paulsson, Nystrom et al. 2000) en raison de perturbation de la division cellulaire (Perrein-Ettajani, Amiard et al. 1999) du taux de reproduction (Rott 1991 ; Peres, Florin et al. 1996) et des stratégies de migration (Peterson 1996). Enfin, des nombreux auteurs ont mis en évidence une diminution de la richesse spécifique, de la diversité des communautés et un changement de la structure des communautés suite à une exposition à un stress métallique (Hill, Willingham et al. 2000 ; Sabater 2000; Gold, Feurtet-Mazel et al. 2003 ) en raison de la présence d'espèces plus ou moins sensibles ou tolérantes envers les métaux.

### **c) Mécanismes de tolérance au niveau de la cellule algale**

Les algues possèdent des mécanismes constitutifs (présents dans la plupart des phénotypes) et adaptatifs (présents seulement dans les phénotypes tolérants) afin de pouvoir faire face à la présence de concentrations élevées en métaux et limiter ainsi les perturbations et dommages liées à une exposition aux métaux (Meharg 1994).

Sous stress métallique, les algues montrent 4 grandes catégories de mécanismes de régulation des flux métallique :



**Des mécanismes de limitation des entrées de métaux.** Certains métaux peuvent être fixés aux hydroxydes de fer ou de manganèse présents au niveau de la membrane cellulaire (Perrein-Ettajani, Amiard et al. 1999). On observe aussi une diminution de la taille cellulaire, limitant ainsi la surface exposée et par conséquent l'assimilation métallique par la cellule (Koshmanesh, Lawson et al. 1997). D'autres auteurs décrivent une diminution de la perméabilité membranaire (De Filippis and Pallaghy 1994 ; Gaur and Rai 2001) ou un épaissement de la paroi cellulaire (Twiss and Nalewajko 1992).

**Le développement de modes de stockage sous forme insoluble dans le cytosol.** Au lieu d'exclure les métaux du cytoplasme, les cellules peuvent induire la synthèse de protéines de protection, telles que les phytochélatines qui piègent les métaux sous une forme moins toxique et avec lesquels elles forment des complexes stables (Ahner and Morel 1995 ; Scarano and Morelli 2002). Des phénomènes de vacuolisation ont été également décrits qui permettent de réduire la concentration intracytoplasmique en métaux et ainsi leur toxicité (Nassiri, Mansot et al. 1997).

Si la cellule réagit à la présence de métaux lourds par des mécanismes de détoxification en stockant le métal au sein de la cellule, le métal devient assimilable pour les niveaux trophiques supérieurs et on assiste non seulement à une bio-accumulation mais aussi à une bio-magnification du métal à travers la chaîne alimentaire, avec des conséquences importantes pour l'ensemble de l'environnement aquatique.

Il est utile de savoir que la disponibilité en nutriments (en particulier l'azote) augmente de façon drastique la capacité des algues à accumuler les métaux lourds (Wang and Dei 2001), suggérant une entrée de métaux plus importante pour les niveaux supérieurs de la chaîne trophique. Enfin, la capacité que les algues ont à stocker des métaux lourds, a été utilisée ces dernières années afin de dépolluer des eaux contaminées (Cervantes, Campos-Garcia et al. 2001).

L'étude de Duong et al (Duong, Morin et al. 2008) a montré que l'accumulation de cadmium peut varier de façon considérable avec la saison, la durée d'exposition et de la biomasse périphytique. L'étude de Morin et al. (Morin, Duong et al. 2008) confirme cela.

**Des mécanismes de neutralisation du stress oxydant.** Les algues répondent à un stress oxydatif, causé par la présence d'espèces réactives d'oxygène, générées par la présence de métaux lourds, par induction de diverses molécules à pouvoir antioxydant, comme par exemple certaines enzymes comme la super oxyde dismutase, la catalase, la glutathione peroxydase et l'ascorbate peroxydase, et par synthèse de molécules à faible poids moléculaire comme les caroténoïdes et le glutathione (Pinto, Sigaud-Kutner et al. 2003).

Lorsque la contamination en métaux lourds est aigue ou forte, les cellules algales peuvent subir des dommages car le niveau en espèces réactives d'oxygène excède le pouvoir de la cellule afin d'y remédier. Lorsque la contamination est faible ou chronique on a une accumulation de métaux lourds au sein de la cellule algale, ce qui a comme conséquence une transmission des métaux vers des niveaux trophiques supérieures (mollusques, crustacées, poissons) (Pinto, Sigaud-Kutner et al. 2003).

Une inhibition de la croissance et l'apparition de chlorose sont des symptômes très communs de la phytotoxicité provoquée par les métaux lourds, en liaison certainement avec un dysfonctionnement de la photosynthèse, le processus qui est probablement le plus affecté par les métaux.

**Des mécanismes d'expulsion active des métaux hors de la cellule.** La défense des cellules contre le stress métallique prévoit également une production accrue de polysaccharides qui, après liaison avec les métaux, peuvent être exportés hors de la cellule (Pistocchi, Guerrini et al. 1997). Les cellules arrivent aussi à gagner un certain degré de tolérance par exsudation d'autres composants chélatants (Lee, Ahner et al. 1996; Vasconcelos and Leal 2001) et par sortie active de ions métalliques via des pompes ATP phénomène qui a été décrit pour les bactéries (Rosen 1996).

#### **d) Rôle de la matrice organique dans la protection des cellules**

Les composés polymériques excrétés par les cellules ont une fonction dans la cohésion du biofilm et dans la défense contre les agressions mécaniques, telles que la dessiccation (Hoagland, Rosowski et al. 1993) et les effets corrosifs du courant (Gosh and Gaur 1998). De plus, les polymères du biofilm adsorbent, fixent et concentrent les molécules organiques et les ions à proximité des cellules. Il est reconnu que cette matrice organique joue un rôle important dans la résistance aux pollutions toxiques. Le stress métallique subi par les cellules algales, se révèle moins important pour un biofilm épais (Hill, Bednarek et al. 2000) ou pour un biofilm mature (Ivorra 2000). La fonction protectrice de la matrice est attribuable en partie à des conditions locales de pH et d'anoxie dans les couches internes des biofilms épais (Revsbech, Nielsen et al. 1998 ; Teissier and Torre 2002), modifiant la biodisponibilité des métaux lourds. De plus, les composés polymériques possèdent des propriétés de chélation des métaux lourds. Une étude expérimentale de contamination avec 100 µg/L de cadmium a confirmé le rôle protecteur de la matrice polysaccharidique dans le cas de biofilm mature mais pas dans le cas de biofilm jeune.

#### **e) Effets toxiques des principaux métaux lourds pour les algues et réponses des algues**

Le **cadmium** est omniprésent en nature mais les activités industrielles, agricoles et minières ont contribué à augmenter sa présence dans l'environnement (Okamoto, Asana et al. 1996; Torres, Cid et al. 2000 ). On le trouve donc principalement autour des sites d'activités liées à la métallurgie, les fonderies et certaines installations de combustion (incinérateurs, complexes pétroliers,...) (Nriagu and Pacyna 1988).

Il affecte principalement le fonctionnement enzymatique des microalgues en raison de sa similarité avec des métaux lourds essentiels (ex. zinc, cuivre,...) sans pour autant posséder l'activité biochimique requise (Sunda 1988/89 ; Okamoto, Asana et al. 1996; Torres, Cid et al. 2000 ). Bertrand et al. (Bertrand, Schoefs et al. 2001) ont montré que le cadmium diminue le taux de croissance chez la diatomée *Phaeodactylum tricornutum* et inhibe l'époxydation de diatoxanthine versus diadinoxanthine avec une influence donc sur le cycle des xanthophylles. Le cadmium a une grande affinité pour les groupes sulph-hydril et peut donc inactiver plusieurs enzymes importants avec comme conséquence

une inhibition de la photosynthèse et de la respiration, d'autres processus cellulaires, et la croissance (Sheoran, Singhal et al. 1990 ; Boeddi, Oravec et al. 1995; Okamoto, Asana et al. 1996 ; Fargasova 1999 ). Conway (Conway 1978) a montré qu'un ajout de cadmium à des cultures de la diatomée *Asterionella formosa* induisait une diminution de la concentration en pigments et perturbait le système des perméases, qui est à l'origine du transport des phosphates et de la silice à l'intérieur de la cellule. Le cadmium peut également causer des altérations morphologiques et des effets écologiques tels qu'une réduction de la diversité spécifique (Morin 2006). Chaque espèce peut avoir une sensibilité spécifique envers le cadmium. Par ailleurs, certaines espèces peuvent développer des mécanismes de tolérance afin d'éviter les effets toxiques du cadmium (Maeda and Seakaguchi 1990). Le cadmium n'a pas de fonction biologiques reconnue (Bertrand, Schoefs et al. 2001). Néanmoins, Lane et Morel ont montré que le cadmium peut jouer un rôle de co-facteur pour une anhydrase carbonique de la diatomée *Thalassiosira weissflogu* (Lane and Morel 2000).

Le **cuivre** est naturellement présent dans la plupart des sols et est présent dans un large éventail de gisements de minerai. Il entre dans la fabrication des tissus, des peintures marines, des conducteurs et fils électriques, des appareils et tuyaux de plomberie, des pièces de monnaie et des ustensiles de cuisine.

Le cuivre fait partie des micronutriments qui sont essentiels à la vie, car essentiel afin de garantir l'activité de nombreuses enzymes et constitue même une partie de certaines molécules, en contribuant ainsi à des fonctions clés, telles que la photosynthèse chez les microalgues (Raven, Evans et al. 1999). En revanche, le cuivre est réputé pouvant être toxique pour les microalgues même à des faibles concentrations (Steemann Nielsen and Wium-Andersen 1971) provoquant une inhibition de la photosynthèse et de la croissance algale (Garvey, Heather et al. 1991). La toxicité dans l'eau est influencée par le pH, l'alcalinité et la matière organique (Meador 1991 ; Winner and Owen 1991 ; Plette, Nederlof et al. 1999). Par ailleurs, la disponibilité en phosphore a une influence directe sur la toxicité du cuivre (Hall, Healey et al. 1989 ; Twiss and Nalewajko 1992; Hashemi, Leppard et al. 1994 ; Nalewajko and Olaveson 1994 ). Comme le montre ce scénario complexe, il est donc extrêmement difficile de prédire les effets de cuivre au niveau d'un écosystème. En accord avec la corrélation inverse observée entre taux de photosynthèse et la biomasse sur periphyton intact (Hill and Boston 1991 ; Hawes 1993), une corrélation négative entre toxicité au métal et biomasse periphytique a été observée par différents auteurs (Navarro, Guasch et al. 2002 ; Guasch, Admiraal et al. 2003). Cependant, diverses études effectuées en condition expérimentale ont montré des différences significatives lors d'une exposition toxique aux métaux entre periphyton intact et algues en suspension ou encore lors d'une exposition sur du periphyton jeune ou mature (pour le cadmium : (Gold, Feurtet-Mazel et al. 2003) et pour le Cd et le Zn : (Ivorra, Brehmer et al. 2000)). Ces auteurs suggèrent que la matrice de periphyton intact joue un rôle dans la tolérance aux métaux en limitant la pénétration de métaux. Comme le montrent divers auteurs, la plage de tolérance au cuivre est grande. Dixit et al. (Dixit, Dixit et al. 1991) ont trouvé une concentration optimale de cuivre qui va de 2 à 100 µg/L pour 59 espèces de diatomées. Takamura et al. (Takamura, Kasai et al. 1989) ont rapporté une plage de concentration de cuivre causant 50% d'inhibition de la photosynthèse, de 1,27 µg/L pour

*Gomphonema parvulum* originaire d'une rivière à basse concentration en cuivre, à 1270 µg/L pour *Achnanthes* sp. en provenance d'une rivière à forte concentration en cuivre. *Achnanthes minutissima* fait partie des espèces tolérantes aux métaux, et donc au cuivre (van Dam and Mertens 1990). D'après Gerringa et al. (Gerringa, Rijstenbil et al. 1995) le cuivre stimule chez les diatomées une production active de molécules à pouvoir complexant pour les métaux et cette capacité peut être augmentée en augmentant la surface cellulaire, ce qui peut être à l'origine de formes tératologiques.

Il a été suggéré que le cuivre induit une déficience en P directement en inhibant l'assimilation de ce dernier (Nalewajko and Olaveson 1994), et indirectement en réduisant la perméabilité de la membrane cellulaire ou par intermédiaire d'une interaction extracellulaire entre cuivre et P. A la suite d'expériences conduites en laboratoire, Hall et al. (Hall, Healey et al. 1989) ont attribué la plus grande sensibilité au cuivre dans des cultures limitées en P comparé aux cultures limitées en N aux mécanismes de détoxification. Ces auteurs ont proposé que les métaux puissent être complexés au moment que la cellule forme des polyphosphates pour stocker du P et les métaux sont détoxifiés. Comme la formation de granules de polyphosphate dépend de la disponibilité en P, cette disponibilité peut influencer la capacité de la cellule à détoxifier le cuivre, résultant ainsi en une plus grande sensibilité au cuivre dans des situations où peu de P est disponible. Une relation directe entre tolérance et cuivre et les granules de polyphosphates est montrée dans d'autres expériences en laboratoire (Twiss and Nalewajko 1992 ; Hashemi, Leppard et al. 1994). Fisher et Jones (Fisher and Jones 1981) ont mis en évidence que le cuivre réduisait l'adsorption de l'acide silicilique et la synthèse des acides aminés chez la diatomée *Asterionella japonica*. La présence de formes tératologiques a été rapportée dans plusieurs cours d'eau contaminé par du cuivre (Dickman 1998; Prygiel and Coste 2000 ).

Le **zinc** est connu depuis le Moyen Age, mais son extraction industrielle et son raffinage n'ont débuté en Europe qu'à la fin du 18<sup>ième</sup> siècle. Le zinc est surtout utilisé comme revêtement anti-corrosion sur le fer et les produits en acier. Il est également utilisé pour les toits, les conduits de chaufferie, de ventilation ou de climatisation, pour la production de laiton. Le zinc est un contaminant omniprésent dans l'eau, avec des concentrations qui varient de quelques nanomolar à presque 100 µmol dans les rivières européennes (Whitton, Say et al. 1982). Une fois dans l'eau, le zinc peut interagir avec un ensemble d'autres ligands organiques ou inorganiques (Rai, Gaur et al. 1981 ; Woolhouse 1983) tels que la matière organique, les polysaccharides, les phosphates et le (bi)-carbonate. La solubilité de zinc dans l'eau et sa spéciation dépend du contenu en particules, du pH et de la dureté de l'eau. A pH élevé des ions zinc sont formés et interagissent avec le calcium afin de former un précipitât solide.

Le zinc est comme le cuivre un des micronutriments qui sont essentiels à la vie, car essentiel 1) pour garantir l'activité de nombreuses enzymes, et 2) pour constituer une partie de certaines molécules. Ainsi, le zinc contribue à des fonctions clefs, telles que la photosynthèse chez les microalgues (Raven, Evans et al. 1999). Néanmoins, au delà d'une certaine concentration, le zinc devient toxique, même si le zinc est considéré comme le moins toxique parmi les métaux lourds (Lindstrom, Norden et al. 1988). Il exerce sa toxicité en se liant à des molécules contenant du soufre, de l'azote et de

l'oxygène, comme les groupes thiolés dans les protéines (Rai, Gaur et al. 1981 ; Woolhouse 1983) ou en remplaçant d'autres métaux au sein d'enzymes en affectant le métabolisme cellulaire (Landner and Lindstrom 1998).

De nombreux facteurs déterminent la biodisponibilité et donc la toxicité du zinc dans l'eau. La solubilité de zinc dans l'eau et sa spéciation dépend du contenu en particules, du pH, de la température, de la teneur en carbone organique dissous et de la dureté de l'eau. A pH élevé des ions zinc sont formés qui interagissent avec le calcium afin de former un précipitât solide. Dans l'eau, le zinc peut interagir avec un ensemble d'autres ligands organiques ou inorganiques (Rai, Gaur et al. 1981 ; Woolhouse 1983) tels que la matière organique, les polysaccharides, les phosphates et le (bi)-carbonate. De nombreux auteurs ont montré que le zinc peut interagir de différentes manières avec le phosphore, d'une part en diminuant ou en éliminant la toxicité du zinc à des fortes concentrations en phosphore (Rana and Kumar 1974 ; Rai and Kumar 1980; Rai, Gaur et al. 1981 ; Bates, Tessier et al. 1985 ; Kuwabara 1985 ), d'autre part en causant probablement des effets de toxicité indirects dans le cas où le zinc induit des symptômes de déficience en P pour des algues benthiques à basse concentration en phosphore (Paulsson, Nystrom et al. 2000). Concernant ce dernier point, une activité accrue de la part de l'enzyme phosphatase alcaline a été montrée lors d'exposition au zinc, qui implique qu'il y a une interaction extracellulaire entre phosphore et zinc rendant le phosphore moins disponible aux algues benthiques. On peut donc supposer que des milieux aquatiques montrant des faibles concentrations en phosphore seraient plus à risque lors d'une contamination au zinc qu'un milieu riche en phosphore. Le zinc interagit également avec le métabolisme de l'azote en inhibant la nitrate réductase (Kong and Chen 1995). De la même manière que le cuivre, le zinc réduit également l'adsorption de l'acide silicilique et la synthèse des acides aminés (Fisher et Jones 1981) et une des conséquences de cela est l'apparition de frustules déformés dans les milieux contaminés par le zinc (Morin and Coste 2006).

Une expérience dans des microcosmes exposés à une concentration chronique de zinc, a montré des effets indirectes et à long terme de faibles concentrations du zinc (0.12 à 0.42  $\mu\text{M}$  ; diminution de la biomasse periphytique due à une induction d'une déficience en P) et des effets directs à des concentrations plus élevées (9,7  $\mu\text{M}$  ; changement de la structure, diminution de la teneur en chlorophylle a, activité photosynthétique) (Paulsson, Nystrom et al. 2000).

La contamination au **mercure** vient principalement des rejets émis dans l'atmosphère (15,8 tonnes par an, selon les données officielles) lors de l'utilisation de combustibles fossiles, lors de l'incinération de déchets ou encore par l'industrie métallurgique (Nriagu and Pacyna 1988). Si le mercure est rejeté dans les cours d'eau il se transforme en méthyl-mercure, un composé liposoluble et très stable.

Divers résultats en provenance d'études effectuées sur divers organismes aquatiques (Ribeyre and Boudou 1989 ; Maury-Brachet, Ribeyre et al. 1990), dont le periphyton (Peres, Coste et al. 1997) confirment que le méthyl-mercure (organique) est plus toxique que le mercure inorganique. L'interprétation classique de ce phénomène est basée sur 1) la liposolubilité du méthyl-mercure qui facilite son transport à travers les barrières biologiques via simple diffusion et qui facilite sa bio-

accumulation et 2) sur les capacité du mercure à se combiner au soufre pouvant ainsi bloquer certains sites actifs comportant des atomes de soufre (comme celui de la vitamine B12) et causant des dommages structurales et fonctionnelles cytoplasmiques ou membranaires. Pour les diatomées, le méthyl-mercure est surtout accumulé dans le cytoplasme, alors que le mercure inorganique se trouve surtout au niveau membranaire (Mason, Reinfelder et al. 1995). L'exposition à du mercure inorganique provoque une augmentation de la taille cellulaire diatomique (ration surface/volume plus petite) et donc une capacité moindre à accumuler du mercure (Kuiper 1981). Une fois dans le cytoplasme le mercure peut non seulement se fixer à des enzymes cytoplasmiques mais aussi bloquer le photosystème II en inhibant ainsi la photosynthèse (Krupa and Baszynski 1995).

Une étude effectuée en microcosme (Peres, Coste et al. 1997) a mis en évidence une toxicité majeure du méthyl-mercure s'il était introduit via l'eau que via le sédiment et a provoqué une diminution de la densité cellulaire et un changement de la composition spécifique (augmentation de l'abondance relative de *Fallacia pygmaea* et *Nitzschia palea*).

**Mélange de métaux** : Dans la majorité des écosystèmes naturels, les métaux sont présents en tant que mélange (Wong, Chau et al. 1987 ; Nunes, Da Silva et al. 2003). Les organismes répondent parfois de façon surprenante à un mélange de métaux. Par exemple, deux ou plusieurs métaux peuvent agir de façon antagoniste où un métal améliore la toxicité d'un autre métal (Voyer and Heltshe 1984 ; Aoyama and Okamura 1993). Ou au contraire, les métaux agissent de façon synergique où la réponse des toxiques est plus grande que la somme des toxicités individuelles (Conglianese and Martin 1981; Visviki and Rachlin 1994 ). Ainsi, Wong et al. (Wong, Chau et al. 1987) reportent que quand un mélange de métaux (Cd, As, Cr, Cu, Fe, Pb, Hg, Ni, Se, Zn) est ajouté à une suspension algale à des concentrations ne causant pas d'effet négative si ajouté individuellement à cette suspension algale, cette solution devient alors vraiment toxique.

## V. 2. Pollutions générant des modifications de pH et de conductivité électrique

Nous avons vu au cours du chapitre III que les diatomées ont des préférences écologiques quant au pH et à la conductivité. Il nous paraît donc fondamental de considérer les pollutions générant des modifications de ces deux paramètres.

Le **pH** (ou potentiel hydrogène) mesure l'activité chimique de protons ( $H^+$ ) solvatés. Plus couramment, on considère que le pH mesure l'acidité ( $pH < 7$ ) ou la basicité ( $pH > 7$ ) d'une solution (Wikipedia).

**La conductivité électrique** est l'aptitude d'un matériau à laisser les charges électriques se déplacer librement, autrement dit à permettre le passage du courant électrique. La conductivité peut également être utilisé pour mesurer la salinité (désigne la quantité de sel dissout dans un liquide, Wikipedia). Une relation approximative existe entre la salinité et donc la concentration en sels totaux exprimée en  $mg.L^{-1}$  et la conductivité ( $\mu S.cm^{-1}$ ). Ceci est exprimé de la façon suivante :

$$(mg.L^{-1}) = 0.68 \times \text{conductivité } (\mu S.cm^{-1})$$

Il est utile de remarquer ici qu'il n'y a pas de corrélation directe entre pH et conductivité. La conductivité dépend de la concentration d'ions en solution, leur pouvoir dissociatif (si des ions positifs et négatifs ne se séparent jamais, le courant ne passe pas), leur charge (un ion avec une charge de +3 portera trois fois plus de courant qu'un ion +1) et leur vitesse de diffusion (un ion de petite taille et léger voyagera plus vite qu'un ion lourd et grand). La mesure de pH donne des informations quant à la concentration d'un ion en particulier, le ion hydrogène (H<sup>+</sup>). Le pH ne donne donc pas d'information quand à la présence d'autres ions qui vont avoir une influence sur la conductivité ou leur vitesse de diffusion.

### **V.2.1. Le changement du pH**

Des pollutions peuvent être à l'origine soit d'une alcalinisation (augmentation du pH) soit d'une acidification (diminution du pH) d'un écosystème aquatique. Comme déjà énoncé dans le chapitre III, les diatomées sont un groupe biologique particulièrement sensible au pH. Ainsi, des diatomées acidobiontes ou acidophiles vont être le groupe le plus abondant dans des écosystèmes acides, alors que des diatomées alcaliphiles ou neutres vont dominer dans des écosystèmes alcalins (Dixit and Dickman 1986). Leur capacité à indiquer des changements de pH a été démontré dans le passé par divers auteurs (Hirst, Chaud et al. 2004 ; Sienkiewics, Gasiorowski et al. 2006).

#### **a) L'alcalinisation**

L'alcalinisation (**l'action de rendre alcalin**) est un processus consistant à diminuer la concentration des ions H<sup>+</sup> dans un milieu donné. Ce processus est souvent accompagné d'une augmentation des sels de sodium. L'alcalinisation d'un milieu aquatique peut être due à l'utilisation et des rejets divers et variés :

Le carbonate de sodium (NaCO<sub>3</sub>) est utilisé pour la fabrication de verre, de détergeant, dans la pyrométallurgie (acier, extraction alcaline, chrome..)

Le bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) est utilisé comme complément alimentaire, dans l'industrie papetières, dans le traitement de l'eau, du cuir, dans l'alimentation pour l'homme et dans les industries pharmaceutiques.

La chaux Ca(OH)<sub>2</sub> est principalement utilisée dans l'industrie et dans l'agriculture.

Le chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) est un rejet dominant en sortie de soudières.

Les conséquences de rejets de ce genre sont une alcalinisation des milieux et un relargage des ions chlorure qui cause une dégradation des milieux aquatiques.

Des espèces ioniques, telles que des cations basiques (par exemple :  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ), des anions acides (par exemple :  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  et les acides organiques) et  $\text{Al}^{3+}$  déterminent une baisse de l'alcalinité (Gherini, Chen et al. 1985).

Peux d'études concernent l'alcalinisation de milieux aquatiques. L'hypothèse de la présence de diatomées alcaliphiles au sein de milieux aquatiques alcalins a été néanmoins confirmé par divers auteurs (Hecky and Kilham 1973; Servant-Vildary and Roux 1990; Karst-Riddoch, Pisaric et al. 2005 ).

## **b) L'acidification**

Le processus d'acidification a été défini par Henriksen en 1982 comme une perte d'alcalinité (Henriksen 1982). Le pH de la plupart des lacs et des rivières est compris entre 6 et 8, même si le pH de certains lacs et rivières peut être soit naturellement acides ou rendu acide par l'activité humaine. Une importante cause d'acidification non naturelle des eaux de surface représente une conséquence indirecte, via les écosystèmes terrestres, d'une certaine forme de pollution atmosphérique générée par les rejets dans l'atmosphère d'oxydes d'azote (NO) et de soufre ( $\text{SO}_2$ ) résultant de la combustion d'énergies fossiles (Dixit and Dickman 1986). L'industrie a connu un grand développement entre la deuxième moitié du XIX<sup>ème</sup> siècle et le début du XX<sup>ème</sup> siècle avec comme conséquence des dépôts atmosphériques de polluants acides ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ) (Stucklik, Appleby et al. 2002). Depuis ces dépôts acides n'ont cessé d'augmenter et affectent l'Europe, l'Amérique du Nord et l'Asie (Jenkins 1999 ; Lynch, Bowersox et al. 2000; Carmichael, Streets et al. 2002 ). Une proportion considérable des rejets de soufre dans l'Europe du Nord trouve leur origine dans les fonderies de métaux non ferreux de la péninsule de Kola (Russie ; (Korhola, Weckstroem et al. 1999). Les pluies acides acidifient le sol et les milieux aquatiques et mobilisent l'aluminium retenu par les particules du sol ou du sédiment. De ce fait, une diminution du pH s'accompagne souvent à une augmentation de la teneur en aluminium. Les deux facteurs, un pH trop acide et une concentration forte en aluminium sont directement toxiques pour les populations biologiques qui peuplent les milieux aquatiques.

Une autre cause d'acidification des milieux aquatiques, sont les émissions accrues en  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère qui se dissout dans l'eau pour former du bicarbonate, du carbonate et de l'acide carbonique. La dissolution de  $\text{CO}_2$  provoque un relargage des ions hydrogènes ( $\text{H}^+$ ) qui eux, diminuent le pH. Une source supplémentaire et très importante d'eau acide d'origines anthropiques sont les eaux de drainage dans l'environnement minière. Ici le pH montre souvent des valeurs inférieure à 3,5 avec par ailleurs des fortes concentrations en métaux lourds.

En conclusion nous pouvons affirmer que les valeurs de pH extrême que certains écosystèmes aquatiques montrent sont principalement dues à l'activité anthropique ou à des acides inorganiques qui rentrent dans l'eau par voie naturelle (DeNicola 2000).

L'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) a tendance d'augmenter dans les écosystèmes aquatiques, surtout dans les régions agricoles (Hepp and Hildebrand 1993) en contribuant ainsi à une augmentation de l'acidification (van Dam and Mertens 1995).



La présence des **diatomées** dépend très largement de l'acidité du milieu aquatique étudié et c'est pour cette raison qu'elles sont reconnues comme indicateurs d'acidité (ter Braak and van Dam 1989). Par exemple, selon Gensemer (Gensemer 1990), *Asterionella ralfsii* var. *americana* vit à des valeurs de pH basse et semble donc être un indicateur d'acidification. D'autres espèces peuvent prédominer dans d'autres lacs acides, tels que *Brachysira brebissonii*, *Brachysira vitrea*, *Frustulia rhomboides* var. *saxonica*, alors que *Cyclotella rossii*, *Achnanthes minutissima*, *Achnanthes levanderi*, *Aulacoseira italia* f. *crenulata*, *Fragilaria* spp. dominant dans les lacs alcalins (Korhola, Weckstroem et al. 1999). La revue bibliographique de DeNicola (DeNicola 2000) donne une liste de 19 espèces typiques de milieux très acides (pH <3,5). Il semble qu'à un tel pH, la richesse spécifique diminue fortement comparé à la richesse diatomique rencontrée à des pH de 4,5-5 (DeNicola 2000).

Une analyse de la littérature a permis de constater que les diatomées fossiles sont très largement utilisées pour retracer l'évolution du pH dans le passé dans des lacs (Scruton, Elnor et al. 1990 ; Juettner, Lintelmann et al. 1997; Korhola, Weckstroem et al. 1999 ; Ek and Renberg 2001 ; Stucklik, Appleby et al. 2002 ; Weckstroem, Snyder et al. 2003 ). Ainsi, les effets des pluies acides sur la composition diatomique de deux lacs polonais ont été clairement montré et attribué à l'activité humaine par Sienkiewics et al. (Sienkiewics, Gasiorowski et al. 2006), les communautés diatomiques étant dominées par des espèces acidophiles comme *Brachysira brebissonii*, *Eunotia incisa* ou encore *Achnanthes acidoclinata*, *Aulacoseira lirata*, *Aulacoseira alpigena* etc. Selon Dixit et Dickman (Dixit and Dickman 1986), des estimations fiables du pH passé peuvent être faites, si l'on établit avant tout pour le même lac une relation entre le pH de l'eau du présent et les diatomées subfossiles présentes dans les strates superficielles du sédiment.

De manière générale, peu d'études concernent la problématique d'une acidification en eau courante. Il convient de mentionner ici que les effets d'une acidification peuvent être différents selon si l'écosystème en question est lentique ou lotique, étant donné la variabilité spatio-temporelle des variables physico-chimiques, et du renouvellement constant du corps d'eau en milieu lotique. Des expériences au laboratoire ont été conçues afin d'investiguer les effets d'une acidification en utilisant des canaux artificiels (Hall, Likens et al. 1980), et dans des écosystèmes naturels à pH faible (Mulholland, Elwood et al. 1986 ; Kwandrans 1993). L'étude d'un ensemble de rivières polonais naturellement acides a mis en évidence non seulement une prédominance de la part d'espèces acidobiontes et acidophiles, mais aussi un nombre faible d'espèces, une faible abondance, une corrélation positive entre pH et diversité et pH et indice de diversité (Kwandrans 1993). Une baisse de diversité diatomique (indice de Shannon), due à une augmentation de l'acidité et à une augmentation des concentrations métallique due à la baisse du pH à été mis en évidence aussi dans une étude concernant une ancienne mine avec des eaux de drainage acides et riche en métaux (Gerhardt, Janssens de Bisthoven et al. 2008). Cette étude a confirmé le potentiel d'indication des diatomées quant au pH (des espèces alcaliphiles vs. des espèces acidobiontes ou acidophiles). Parmi les espèces dominantes dans ces eaux acides une prédominance de la part d'*Achnanthes minutissima*, *Eunotia exigua*, *Nitzschia capitellata*, *N. sucapitellata*, *Pinnularia acoricola* et *P. subcapitata* a été remarquée. Cette baisse de diversité, accompagné d'un déclin de l'équitabilité, de la richesse spécifique et d'un changement au niveau de l'abondance relative d'espèces majoritaires (*Eunotia*

*exigua* en conditions acides et *Achnantheidium minutissimum* en conditions neutres), peut être extrêmement rapide comme le montre l'étude de transplantation de Hirst et al. (Hirst, Chaud et al. 2004). A l'appui de ces résultats, viennent d'autres auteurs qui confirment par ailleurs une richesse spécifique faible et une prévalence d'espèces acidophiles et acidobiontes, tels que les espèces appartenant au genre d'*Eunotia*, en particulier *Eunotia exigua* (van Dam, Suurmond et al. 1981; Keithan, Lowe et al. 1988 ; Winterbourn, Hildrew et al. 1992 ; Kwandrans 1993 ; Ledger and Hildrew 1998 ; Hirst, Chaud et al. 2004 ; Passy 2006 ).

Outre que la baisse du pH en elle-même, Passy (Passy 2006) montre que l'origine de l'acidité, par exemple organique ou inorganique ( $\text{SO}_4^{2-}$  ou  $\text{NO}_3^-$ ) peut être un facteur aussi important ou même plus important. L'importance de la nature ionique de la baisse du pH sur la communauté diatomique a été suggérée également par Wigington et al. (Wigington, DeWalle et al. 1996). Par ailleurs, les anions organiques acides peuvent pallier à l'effet toxique de l'aluminium avec des conséquences favorable pour la communauté algale (Battarbee, Charles et al. 1999 ; Gensemer and Playle 1999). Cet auteur a mis en évidence une différence de la composition diatomique de deux rivières, une impactée par une acidification chronique due à des acides organiques et à la présence de  $\text{SO}_4^{2-}$ , l'autre par une acidification épisodique due à la présence d'acides inorganiques ( $\text{SO}_4^{2-}$  ou  $\text{NO}_3^-$ ).

Enfin, la géologie influence largement le degré d'acidification d'un écosystème aquatique et sur la restauration de celui-ci suite à l'arrêt d'entrée de sources acides (Dixit, Dixit et al. 1992; Mallory, McNicol et al. 1998 ; Smol, Cumming et al. 1998; Ek and Renberg 2001 ).

## **V.2.2. Changement de la salinité/la conductivité**

### **Généralités**

Du sel en excès doit être considéré comme un polluant avec des effets adverses sur les communautés biologiques d'un écosystème d'eau douce. Dans le passé le sel n'a pas été considéré comme un polluant en raison du fait que le sel est essentiel à la vie sur Terre et qu'une augmentation en sel a été attribuée à des phénomènes naturels. A ceci il faut objecter deux choses : 1) une concentration trop élevée en sel devient toxique, de la même manière que certaines métaux lourds le sont (Fig. 1, 2). Aujourd'hui d'autres phénomènes non naturels provoquent une augmentation de la concentration saline dans les eaux douces, tels que la salinisation secondaire des terres ou des écoulement d'eaux usées salées. La **salinisation** de rivières a été définie par Williams (Williams 1987) comme le processus qui provoque une augmentation de la concentration de sels dissous (salinité). La salinisation est aussi l'accumulation des sels à la surface ou proche de la surface du sol. Nous distinguons la salinisation primaire de la salinisation secondaire. La salinisation primaire se réfère au sel qui s'est formé par effritement de la roche ou par une alimentation naturelle externe. A titre d'exemple, 80% de terres salées ont une origine naturelle, les 20% restant sont d'origine anthropique. La salinisation secondaire est provoquée par l'homme via l'agriculture et en particulier par l'irrigation. Cette dernière provoque en fait une diminution des flux d'eau sans diminuer les flux de

sels. L'eau pure est perdue par évaporation alors que les sels restent. Dans les régions arides, l'effet est d'autant plus marqué : les eaux de surface et les eaux souterraines sont relativement riches en sels (parce que l'eau s'est infiltrée dans des sols qui contiennent généralement des minéraux facilement altérables) et le climat sec crée une demande évaporative élevée ce qui se traduit par la nécessité de grandes quantités d'eau pour l'irrigation des cultures. Aujourd'hui on estime que près de 400 millions de hectares sont affectés par la salinisation (Bot, Nachtergaele and Young, 2000) et 3 hectares de terre cultivable sont perdus chaque minute à cause de la salinisation [Kovda, 1983]. Des écosystèmes aquatiques peuvent connaître une augmentation de la salinité de 300-500 mg/L à 300-10.000 mg/L en raison de la salinisation secondaire, (Hart, Bailey et al. 1990). A titre d'information, Baily et Williams (Bayly and Williams 1973) ont fixé la limite inférieure de la salinité à 3 g/L et l'eau de mer a une salinité de 35 g/L environ. Qu'elle soit d'origine naturelle ou anthropique, la salinisation provoque une augmentation de la pression osmotique (l'assimilation d'eau par les plantes est plus difficile) et une forte concentration de certains ions (ex. Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, etc.) qui sont toxiques pour la plupart des organismes vivants.

De la même manière que la salinisation secondaire des terres, **les écoulements d'eaux salées** (eaux usées, mines de potasse, rejets industriels) sont liées à l'activité de l'homme. Le changement de la salinité du plan d'eau récepteur dépend de la salinité des eaux salées et de la composition ionique, du mode de l'input des eaux usées (la durée, de façon continue ou en pulses...), de la quantité déversée et du courant au moment du déversement (Hart, Bailey et al. 1991).

### **Effet de la concentration saline sur les diatomées**

De façon générale, les **diatomées** montrent des préférences spécifiques quant à la concentration saline (Busse, Jahn et al. 1999 ; Ziemann, Kies et al. 2001; Dell'Uomo 2004 ), ainsi que la distribution d'espèces diatomiques est fortement corrélée à la salinité (Blinn 1991 ; Fritz, Juggins et al. 1993 ; Wilson, Cumming et al. 1994 ; Gasse, Juggins et al. 1995 ; Bloom, Moser et al. 2003). En termes simplistes nous pouvons affirmer qu'une augmentation trop forte de la salinité est toxique, voir létale quand le pouvoir osmorégulateur de la cellule est dépassé parce que la cellule algale a un manque d'eau ou un accès d'ions (ou les deux). Une augmentation trop forte de la salinité va donc provoquer un changement de la composition au sein du periphyton avec la disparition des espèces les plus sensibles et un remplacement des plus sensibles par des espèces tolérantes et a contrario dans le cas d'une désalinisation comme le montrent diverses auteurs (Busse, Jahn et al. 1999 ; Ziemann, Kies et al. 2001).

Comme le souligne la revue bibliographique de Hart et al. (Hart, Bailey et al. 1991) peu de données scientifiques existent dans la **littérature** quant à la sensibilité des composants biologiques envers des déversements d'eau saline. Les communautés biologiques les plus sensibles à la concentration en sel en rivière sont les macroinvertébrés et les végétaux (végétation riparienne, macrophytes et microalgues) et les effets néfastes directes se manifestent autour de 1.000 mg/L (Hart, Bailey et al. 1990; Hart, Bailey et al. 1991). La tolérance des diatomées au sel a été surtout étudiée dans le cas

d'espèces d'eau salée. Ainsi divers auteurs se sont intéressés à la tolérance de diatomées vivant en mer ou dans les océans face aux conditions extrêmes de vie (Admiraal 1976; Krell 2006).

### **Les effets néfastes au niveau cellulaire**

Le stress exercé par le sel perturbe de façon sévère l'homéostasie cellulaire chez les algues, comme chez les plantes supérieures, en raison de différences entre la concentration intra- et extracellulaire d'ions inorganiques (majoritairement Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>), avec comme conséquence une sortie d'eau et une réduction du volume cellulaire (Krell 2006). Le sel peut avoir un impact sévère sur une multitude de voies métaboliques, sur la photosynthèse (Allakhverdiev, Nishiyama et al. 2002), la biosynthèse de lipides de membrane (Sakamoto and Murata 2002 ; Singh, Sinha et al. 2002), sur le turnover de protéines et leur repliement (Madern, Ebel et al. 2000; Thomsen, Olsen et al. 2002 ). Certaines de ces impacts sont dues à la libération d'espèces réactives d'oxygène (Mittler 2002), en ajoutant un surplus de stress. Sous stress osmotique, les microalgues et donc les diatomées peuvent montrer des adaptations au niveau moléculaire, cellulaire et au niveau de l'organisme même (Hare and Cress 1997; Bohnert, Ayoubi et al. 2004 ). Krell (Krell 2006) distingue l'acclimatation osmotique de l'adaptation osmotique. Sous acclimatation osmotique on sous-entend la réaction immédiate qui suit à un stress ionique et osmotique qui implique le re-établissement de l'homéostasie cellulaire à travers des processus de transport et la production d'osmolytes. L'adaptation osmotique implique l'adaptation à travers l'évolution et celle-ci se manifeste au niveau génétique (Krell 2006). L'altération de la salinité du milieu externe (soit une diminution soit une augmentation de la salinité) influence l'homéostasie intracellulaire selon trois manières (Kirst 1990; Erdmann and Hagemann 2001 ) : 1) Le stress osmotique causé par une entrée d'eau à travers la membrane cellulaire semi-perméable, qui cause un changement du potentiel hydrique cellulaire. Des conditions hyperosmotiques vont provoquer une rétraction du plasmalemme (Bisson and Kirst 1995), alors qu'en situation hypoosmotique l'eau va pénétrer la cellule causant une augmentation de la pression de turgescence qui est mieux tolérée par les cellules algales possédant une paroi cellulaire rigide. 2) Le stress ionique causé par la perte passive et l'entrée d'ions inorganiques (principalement, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>). Ceci provoque un dérangement de la sphère d'hydratation autour de protéines et d'autres macromolécules, en affectant leur fonctionnement (Xiong and Zhu 2002). Ce type de stress est plus néfaste pour la cellule que le stress osmotique seul. 3) Des changements dans la composition intracellulaire ionique causées par la perméabilité sélective de la membrane aux ions.

Vrieling et al. (Vrieling, Sun et al. 2007) ont étudié le rôle de la salinité pour la formation du silicium diatomique en observant des changements au niveau de la nanostructure de la silice de deux espèces diatomiques marines, *Thalassiosira punctigera* et *Thalassiosira weissflogii*, qui ont été cultivés à deux salinités différentes (33 et 20 psu). Ces auteurs ont mis en évidence des changements de la structure nanostructurale du silicium (silice plus dense et cohésion entre les particules de silicium à la concentration saline plus basse). Aux salinités testées, ces deux espèces diatomiques avaient le même taux de croissance, résultat qui est en faveur du bon fonctionnement du processus d'osmorégulation en préservant ainsi le processus cellulaire majeurs qui sont le métabolisme P et N et photosynthèse (Martin-Jézéquel, Hildebrand et al. 2000). Les effets observés concernant la

silicification du frustule ne peuvent donc pas être attribuées à un taux de croissance différent mais bien à des concentrations salines différentes. Vrieling et al. (Vrieling, Sun et al. 2007) émettent l'hypothèse que l'acide silicique et d'autres ions sont assimilés au même temps, rendant le stockage intracellulaire de l'acide silicique non nécessaire. L'assimilation et le transport simultané (par exemple par pinocytose = transport non spécifique) d'ions et de l'acide silicique vers la vésicule de dépôt favorisent une polymérisation rapide de silicium. Le transport de silicium est sodium-dépendant dans le cas de diatomées marines (Azam, Hemmingsen et al. 1974 ; Bhattacharyya and Volcani 1980) et peut être sodium et potassium dépendant dans les espèces d'eau douce (Sullivan 1976). En effet, le sodium joue un rôle important chez les diatomées. Il intervient dans le transport des nitrates (Rees, Cresswell et al. 1980), dans l'osmorégulation (Dickson and Kirst 1987) et dans la photosynthèse (Zhao and Brand 1988). Larson et Rees (Larson and Rees 1994 ; Larson and Rees 1996, 1996) ont observé un arrêt de la division cellulaire et une augmentation du volume cellulaire chez la diatomée marine *Phaedactylum tricorutum*, en l'absence de sodium. Non seulement le transport de phosphore (Mohleji and Verhoff 1980) mais aussi le transport de silicium dépend du gradient de Na<sup>+</sup> qui est généré à travers la membrane cellulaire par une ATPase (Bhattacharyya and Volcani 1980).

### **Comment neutraliser les effets néfastes au niveau cellulaire**

Pour neutraliser les effets négatifs sur l'homéostasie cellulaire dus à un stress osmotique et ionique, les plantes et les algues réagissent en appliquant deux mécanismes différents : 1) en expulsant des sels via des transporteur d'ions (par exemple des ATPases). 2) par accumulation d'osmolytes (= les osmolytes sont hautement solubles, des molécules à poids moléculaire faible, sans charge à pH physiologique ; (Krell, Funck et al. 2007) organiques (Erdmann and Hagemann 2001) qui appartient à trois classes différentes (les composés d'ammonium quaternaires, les a.a., les polyols et disaccharides). L'acide aminé proline est l'osmolyte le plus souvent accumulé lors d'un stress osmotique chez les algues (Kirst 1990; Erdmann and Hagemann 2001 ). Par ailleurs, Siripornadulsil et al. (Siripornadulsil, Traina et al. 2002) ont montré qu'une augmentation intracellulaire en proline augmente la tolérance envers les métaux lourds. D'autres auteurs ont mis en évidence la capacité de la proline à neutraliser les espèces réactives d'oxygène (Reddy, Chaitanya et al. 2004; Rodriguez and Redman 2005 ). Dickson et Kirst (Dickson and Kirst 1987) ont montré une augmentation de la concentration intracellulaire de K<sup>+</sup> et d'autres osmolytes que la proline, comme la glycine, des composés quaternaires d'ammonium etc... chez une prasinophyte et une prymnesiophyte. Krell a mis en évidence, que lors d'une augmentation de la concentration de sel, *Fragilariopsis cylindrus* (Krell 2006) une multitude des séquences génétiques spécifiques au stress subit, sont transcrites. Ces séquences codent pour des « heat shock proteins », pour des protéines impliquées dans le transport (en particulier des transporteurs d'ions et des antiporteurs). D'autres séquences ont été trouvées qui sont transcrites lors d'un stress oxydatif et dans l'apoptose, des gènes impliqués dans la synthèse de la proline.

### **Les conséquences d'un stress de sel sur des populations/ communautés diatomiques**

Pour *Fragilariopsis cylindrus* en présence de 34 à 70 PSU, l'inhibition de l'efficacité photosynthétique a été immédiate et forte et un arrêt de la croissance a été noté pendant 12 jours (Krell, Funck et al. 2007). A la suite du traitement de choc, une récupération lente de l'efficacité photosynthétique est remarquée, sans pour autant atteinte des valeurs pre-traitement.

Divers auteurs suggèrent que les diatomées sont plus sensibles aux proportions ioniques qu'à la quantité absolue en ions (Servant-Vildary and Roux 1990; Roux, Servant-Vildary et al. 1991 ). Dans l'étude de Sylvestre et al. (Sylvestre, Servant-Vildary et al. 2001) la salinité et la composition ionique (surtout Mg,  $SO_4$  et Na) de lacs salés boliviens sont des facteurs explicatifs des changements structurels observés au sein de la communauté diatomique. Dans ces lacs où le Na et le Cl prédominent, l'abondance de certaines espèces est fortement corrélée à des composants ioniques mineures : *Gomphonema angustatum* et *Nitzschia valdestriata* sont abondantes à des concentrations importantes en Ca, *Achnanthes delicatula*, *Amphora coffeaeformis* et *Nitzschia communis* en Mg et *Navicula pseudolanceolata* ou *Nitzschia hungarica* à des fortes concentrations en sulfate. Dans cette région où les ions  $Na^+$  et  $Cl^-$  prédominent, l'abondance de certaines espèces est fortement corrélée à des composants ioniques mineures : *Stauroneis wislouchii* est abondante dans des eaux alcalines. La salinité et la composition ionique peuvent influencer la disponibilité en nutriments, les besoins en nutriments et leur assimilation (Saros and Fritz 2000) soit directement (via leur influence on des processus physiologiques) soit indirectement (via leur influence on des cycles biogéochimiques).

Une augmentation de la concentration saline dans des plans d'eau peut être également due à l'utilisation des ions chlorures utilisés pour les routes enneigées. Oskinis et Kasperovicius (Oskinis and Kasperovicius 2005) ont montré que cela a comme conséquence une adaptation de la flore diatomique avec une prédominance d'espèces indifférentes-halophiles comme des espèces appartenant aux genres *Achnanthes*, *Amphora* ou à des espèces halophiles appartenant au genre *Fragilaria*. Des diatomées halophiles prédominent également la Meurthe, caractérisée par une forte conductivité due à des mines de sel, et à la présence de deux soudières rejetant des chlorures) (Pierre 2005).

Enfin, des nombreuses auteurs ont utilisé les **diatomées fossiles** contenues dans le sédiment pour estimer la salinité et composition ionique du passé (Servant-Vildary and Roux 1990 ; Roux, Servant-Vildary et al. 1991 ; Kashima 2003 ; Cook and Colemann 2007).

### **Les effets d'une désalinisation**

Busse et al. (Busse, Jahn et al. 1999) ont étudié les effets de **désalinisation** (diminution de la concentration en sel) de rivières allemandes qui auparavant recevaient pendant des décennies des entrées importantes de sel. Une fois l'introduction de sel empêchée, les chlorures sont rapidement passés d'une concentration de 25,4 g/L à une de 1,2 g/L. Alors que la désalinisation a été rapide, il aura fallu attendre 3 mois afin de voir les premiers effets auprès de la communautés diatomiques benthiques qui ont montré une augmentation de la richesse spécifique, une diminution significative de l'indice de salinité de Ziemann (surtout pendant les 5 mois qui suivent la désalinisation) et un changement drastique de la composition spécifique. La diminution de l'indice est principalement due à la diminution de l'abondance relative d'espèces mésohalobes comme *Nitzschia frustulum* et à une

augmentation de l'abondance relative d'espèces oligohalobes-halophiles comme *Nitzschia liebetruthii* et *N. inconspicua*. En présence de fortes concentrations salines, des formes tératologiques sont trouvées. Une étude similaire a analysé les effets d'une diminution de la concentration saline au sein d'une rivière allemande suite à la fermeture d'une industrie de la potasse sur la structure des diatomées benthiques (Ziemann, Kies et al. 2001). Ces auteurs montrent un changement important de la structure de la communauté diatomique le long du gradient de salinité qui s'est établi le long de la rivière et en parallèle aux diminutions des entrées de sel. Encore une fois, l'indice de Ziemann a été appliqué avec succès.

### **V.3. Les micropolluants (cas des HAP)**

#### **V.3.1. Des généralités**

Ce sont des substances nouvellement commercialisées et qui présentent un certain degré de nocivité pour l'environnement ou, au contraire, des substances anciennes dont la dangerosité pour l'environnement aquatique a été sous-estimée. Parmi les micropolluants émergents sont notamment concernés certains produits de dégradation des pesticides, des molécules de substitution de pesticides, des substances pharmaceutiques, des phtalates, des retardateurs de flamme bromés et des dioxines. Concernant l'homme, les micropolluants ont des effets de perturbation endocrinienne, des effets cancérigènes (ex. les HAP), des effets neurotoxiques, tératogènes, sensibilisants ou irritants. Quelques exemples de micropolluants émergents dangereux ce sont les produits pharmaceutiques (par exemple les antibiotiques) qu'on trouve dans les eaux par le biais des urines et des effluents hospitaliers ainsi que dans les effluents agricoles, les phtalates (des plastifiants à l'origine de la flexibilité du Polychlorure de Vinyle), des retardateurs de flamme bromés qui sont employée dans les équipement électriques, électroniques, plastiques, dans les éléments de construction, les matériaux d'isolation, les textiles..., les dioxines qui sont principalement des sous-produits du processus de combustion et enfin les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui ont des origines pyrolytiques, diagénétiques et pétrogéniques.

#### **V.3.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)**

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) sont des composés chimiques avec plusieurs cycles aromatiques et sont des contaminants environnementaux omniprésents et persistants (Wang, Zheng et al. 2008). Ils proviennent majoritairement de la combustion incomplète de bois, des volcans, de produits pétrolières, d'huile, de charbon, de matière organique, des émissions des moteurs à gasoil, l'écoulement de chaussées et des stations de traitement de l'eau usée (Neff 1979 ; Wakeham, Schaffner et al. 1980 ; Wakeham, Schaffner et al. 1980; Canet, Birnstingl et al. 2001 ; Witt 2002 ; Aksmann and Tukaj 2004 ; Djomo, Dauta et al. 2004 ; Tang, Tang et al. 2005 ). Ils ont donc une origine à la fois naturelle et à la fois anthropogénique, notamment industrielle. Dans les pays industrialisés, les activités de combustion anthropogénique est la source principale des HAPs (Juhász and Naidu 2000). Les HAPs sont souvent détectés dans les environnements aquatiques que ça soit en cours d'eau, en mer ou dans les lacs. Les HAPs arrivent dans les environnements aquatiques soit directement via déposition atmosphérique soit indirectement via écoulement des terres ou des eaux

usées (Kirso and Irha 1998). Leur persistance dans l'environnement est principalement due à leur faible solubilité dans l'eau. En raison de leur hydrophobicité qui elle augmente avec le nombre d'anneaux présent, la concentration en HAPs dans l'eau est généralement faible, ainsi, le monitoring d'une contamination en HAPs dans l'eau se fait généralement dans les sédiments (Witt 2002). Néanmoins, les dragage des fonds ou d'autres activités peuvent causer un soudain relargage d'une grande quantité de HAPs piégés dans le sédiment (Nayar, Goh et al. 2005; Wang, Zheng et al. 2008 ). Les HAPs, comme beaucoup d'autres polluants organiques lipophiles, ont une pression de vapeur et un coefficient de partage octanol-eau faible (...). Pour ces raisons, les HAPs sont rapidement absorbés par la matière particulaire et par les organismes vivants. Dans l'eau, les HAPs peuvent être présents dans la vapeur, la phase dissoute, sous forme micellaire, adsorbés par la matière organique dissoute ou colloïdale, ou incorporés dans les organismes vivants (Kirso and Irha 1998). Une fois absorbés par les particules en suspension ils sédimentent pour se retrouver enfin dans les sédiments (Law and Biscaya 1994). Dans la nature, il est rare de retrouver un seul HAP. En revanche, les HAPs existent quasiment toujours sous forme de mélange complexe de plusieurs HAPs et ces composants peuvent interagir entre eux de façon synergique ou antagoniste (Canet, Birnstingl et al. 2001; Tang, Tang et al. 2005 ; Wang, Zheng et al. 2008). Cependant, la toxicité de plusieurs HAPs a été rarement appréhendée. De même, une stimulation, inhibition ou compétition dans l'assimilation et métabolisme de plusieurs HAPs a été rarement considérée. Wang et al. (Wang, Zheng et al. 2008) ont testé la phototoxicité de quatre HAPs sur une diatomée marine, *Phaedactylum tricornutum*, seul ou en mélange binaire et on trouvé que quatre mélanges binaire montraient un mode d'action synergique et deux un mode antagoniste. Lei et al. (Lei, Hu et al. 2007) ont mis en évidence une efficacité d'élimination de fluoranthène et de pyrène (deux HAPs particulièrement prédominant dans les environnements contaminés) dans un mélange est comparable, voir supérieur que si chaque toxique était seul en solution, suggérant que la présence d'un HAP stimule l'élimination de l'autre.

### **Toxicité**

Les HAPs sont surtout étudiés chez les mammifères en raisons de leur potentiel carcinogénique. Peu d'études concernent des groupes de microalgues autre que les diatomées (Aksmann and Tukaj 2004; Djomo, Dauta et al. 2004 ) et encore moins les diatomées en particulier (Wiegman, Van Vlaardingen et al. 1999 ; Wiegman, Termeer et al. 2002 ; Rimet, Ector et al. 2004). Des nombreuses études montrent que les composants à un, deux ou trois anneaux montrent une toxicité aigue (Sims and Overcash 1983) alors que les HAPs à poids moléculaire plus fort sont considérés comme étant génotoxiques (Mersh-Sundermann, Mochayed et al. 1992 ; Njulund, Heikkila et al. 1992). Dû à leur coefficient élevé de partage octanol-eau et d'adsorption de carbone organique, les HAPs ont tendance à être absorbés par les sédiments et de se bioaccumuler au sein des organismes aquatiques (Neff 1979 ; Witt 2002). Dans l'environnement aquatique, le devenir des HAPs est fortement influencé par la présence de matière organique. Ainsi, une grande partie de ces contaminants se lie à de la matière organique particulaire et dissoute, ce qui détermine leur répartition dans l'environnement et leur biodisponibilité (Gourlay, Mouchel et al. 2005). Liés à la matière organique particulaire, les HAPs ne peuvent plus traverser les membranes cellulaires et ne peuvent donc pas être bio accumulés par les



diatomées, toute en pouvant être assimilés par ingestion par d'autres organismes, tels que le zooplancton. Gourlay et al. (Gourlay, Mouchel et al. 2005) ont mis en évidence une réduction de l'accumulation de benzo[a]pyrene chez le zooplancton (*Daphna magna*) en présence de matière organique particulaire ce qui confirmerait ici que le BaP ingéré n'a pas été assimilé par l'organisme.

En raison de leur structure chimique, les HAPs absorbent particulièrement bien la lumière dans les régions des ultraviolets (280 - 400 nm) et partiellement dans la région de la lumière visible (400 – 800 nm). L'impact de l'absorption de lumière sur la toxicité des HAPs est connu depuis 1928 (Findley 1928). Plus récemment l'importance écotoxicologique d'une exposition simultanée à des HAPs et à la lumière a été reconnue. Bien que certains auteurs n'ont pas remarqué d'effets synergique entre l'utilisation de radiation UV-B et les HAPs (Sargian, Mostajir et al. 2005), un certain nombre d'autres d'études indique que la toxicité des HAPs augmente après absorption de radiation solaire, en particulier dans la région des UV-A et UV-B. Cette toxicité photo-induite est causée par deux processus photochimiques : la photosensibilisation et la photomodification (Pelte 1995; Aksmann and Tukaj 2004 ; Wang, Zheng et al. 2008 ). Au cours de la photosensibilisation des espèces réactives d'oxygène sont générées, qui causent des dommages oxydatives dans les systèmes biologiques. Pendant le processus de photomodification les HAPs subissent une altération au niveau de leur structure. Ainsi une série de nouveau composés, principalement oxygénés, sont produits qui sont souvent plus toxique que le composant mère. Les HAPs photomodifiés sont plus solubles dans l'eau et peuvent donc être plus biodisponible pour les organismes aquatiques (Karydis 1982; Duxbury, Dixon et al. 1997 ; Marwood, Smith et al. 1999 ) et même plus réactif et toxique (Nikolaou, Masclat et al. 1984) que la molécule mère. Un test conduit sur une population de diatomée a montré que les HAPs en présence d'UV-B sont rapidement dégradés alors qu'en présence d'UV-A la toxicité est fortement augmentée à cause de la présence de produits phototransformés (Wiegman, Van Vlaarding et al. 1999). Un mode d'action des HAPs et de leurs produits photomodifiés est l'inhibition de la photosynthèse (Huang, Krylov et al. 1997) et de la respiration (Tripuranthakam, Duxbury et al. 1999). La phototoxicité des HAPs sur les microalgues a été étudiée par de nombreuses auteurs (Grote, Schuurmann et al. 2005 ; Wang, Zheng et al. 2008). Ainsi, une étude en microcosmes avec des communautés naturelles microalgales (dominance par les diatomées) et bactérienne a confirmé la toxicité des HAPs (ici pyrène) en présence de radiations UV (Grote, Schuurmann et al. 2005). Dans cette étude les organismes les plus sensibles au pyrène étaient les microalgues benthiques et notamment les diatomées avec des effets à la fois sur la structure et à la fois sur les paramètres fonctionnels (diminution de la photosynthèse, de la concentration en chlorophylle a et de l'assimilation de silice). Etant donné que l'appareil photosynthétique est situé dans les membranes thylacoïdales et hydrophobes algales et que les HAPs sont hydrophobes, la photosynthèse est une cible majeure de la toxicité aiguë des HAPs via l'oxydation des membranes (Duxbury, Dixon et al. 1997; Marwood, Smith et al. 1999 ) ou en interférant avec la synthèse de la chlorophylle a (Duxbury, Dixon et al. 1997). Les HAPs inhibent le photosystème I et interfèrent avec le transport d'électrons à l'aval du photosystème II (Marwood, Smith et al. 1999). Il a été également démontré que les manifestations toxiques induites par le naphthalène peuvent impliquer la conversion de ce composé en naphthoquinones ou naphtholes (Bagchi, Bagchi et al. 1998) qui peuvent bloquer la photosynthèse au niveau de l'accepteur

d'électrons du photosystème II (au niveau du site Qb) (Huang, Krylov et al. 1997). En résumé, une fois bioaccumulés, les HAPs peuvent interférer avec la photosynthèse soit directement soit indirectement via les réaction de photosensibilisation à travers la production d'espèces réactives d'oxygènes qui peuvent être à l'origine d'une peroxydation des lipides et causer des endommagements de l'ADN (Bagchi, Bagchi et al. 1998).

D'autres auteurs (Wang, Zheng et al. 2008) ont exposé une monoculture de diatomées (*Phaeodactylum tricorutum*) à quatre HAPs (phenanthrène, anthracène, fluoranthène et pyrène), seuls ou en combinaisons de deux à deux et on montré par là non seulement que les UVs augmentent en effet la phototoxicité des HAP via des processus de photosensibilisation et de photomodification, mais qu'en plus quatre mélanges binaires avaient un mode d'action synergique, alors que les autres deux mélanges avaient un mode d'action antagoniste. Dans cette étude, les paramètres affectés par les HAPs en présence d'UV étaient la croissance diatomiques et une induction de la peroxydation des lipides membranaires. L'endommagement membranaires par oxydation de lipides par des espèces réactives a été fréquemment proposé comme mécanisme de la toxicité augmentée en présence de lumière (Arfsten, Schaeffer et al. 1996). Les plantes et les algues, néanmoins, semblent être moins sensibles à cette toxicité photoinduite par rapport aux invertébrés ou poissons (Arfsten, Schaeffer et al. 1996). Il a été suggéré que les pigments colorés présents chez les algues et les plantes, puissent protéger ces organismes des effets néfastes de ces molécules (Arfsten, Schaeffer et al. 1996).

Plusieurs d'autres facteurs peuvent affecter la réponse d'algues, tel que l'intensité de lumière, l'apport en carbone inorganique, le pH, la concentration en CO<sub>2</sub> etc.

La toxicité est fortement influencée par leurs caractéristiques physico-chimiques (la solubilité dans l'eau, le coefficient de partage octanol-eau : Kow, le coefficient de volatilisation etc.) mais aussi par les conditions de culture algale (lumière, présence de nitrate etc.). Djomo et al. (Djomo, Dauta et al. 2004) ont mis en évidence que les HAPs les plus toxiques étaient ceux qui avaient un coefficient de partage octanol-eau et de volatilisation plus fort (Djomo, Dauta et al. 2004). Par ailleurs, la solubilité dans l'eau des HAPs a été montré influencer leur bioaccumulation et leur potentiel toxique (Geyer, Viswanathan et al. 1981). L'évaluation de la toxicité de hydrocarbures aromatiques solubles dans l'eau chez la diatomée marine *Phaeodactylum tricorutum* confirme la relation entre la toxicité de la part des HAPs et leur solubilité dans l'eau (Lacaze, Gutierrez et al. 1987). Ces auteurs suggèrent que les composants à solubilité faible tel que le naphthalène sont plus toxiques que les composants à solubilité forte (benzène). D'autres paramètres tels que la photodécomposition, la biodégradation (Miller, Singer et al. 1998) et l'accumulation de métabolites (O'Brien 1991) peuvent également modifier les effets toxiques des HAPs chez les organismes aquatiques.

La biotransformation des HAPs est souvent un processus multi-step où un ensemble d'enzymes sont impliquées (Kirso and Irha 1998).

Très peu d'études existent qui se sont intéressées à l'analyse de la composition diatomique. Au sein d'un site pollué par des HAPs 16 espèces ont été listées au sein du phytoplancton, dont le 98% était constitué par des diatomées avec les espèces dominantes suivantes : *Skeletonema costatum*,

*Thalassiosira condensata* et *Thalassiosira rotula*. (Nayar, Goh et al. 2005). Des faibles concentrations (0,05 µg/L) de fluoranthène ont induit des changements spécifiques des assemblages diatomiques vivant au sein de microcosmes aquatiques, alors qu'à des plus fortes concentrations (16,46 µg/L) des changements structuraux et des déformations valvaires ont été démontré par Rimet et al. (Rimet, Ector et al. 2004).

Bopp et Lettieri (Bopp and Lettieri 2007) ont étudié les effets de trois HAPs (pyrène, fluoranthène et benzo(a)pyrène, seuls ou en mélange, au niveau moléculaire de la diatomée *Thalassiosira pseudonana*. Leurs expériences montrent des inhibitions de croissance à des concentrations relativement fortes avec des valeurs de CE50 de 1031 µg/L pour fluoranthène, 260 µg/L pour pyrène et 55.24 pour benzo(a)pyrène. En mélange les effets de chacun s'additionnent. L'exposition de la diatomée à différentes concentrations de toxique a mis en évidence une altération forte dans l'expression de 2 gènes, le gène *lacsA* et le gène *sil3*. Le gène *lacsA* qui codifie pour la synthétase d'acyl-CoA, responsable de l'activation des acides gras à longue chaîne (Tonon, Quing et al. 2005), est fortement stimulé par la présence des trois HAPs seul et en mélange. Cette synthétase joue un rôle important dans l'accumulation d'acide gras au sein des membranes cellulaires. Comme déjà énoncé plus haut, les HAPs peuvent s'accumuler au sein de ces membranes et peroxyder les lipides membranaires. Le gène *sil3* qui codifie pour un précurseur des silaffines, qui sont des polypéptides cationiques capable de catalyser la formation de silice au sein du frustule (Poulsen and Kroeger 2004), est par contre inhibé. Ainsi une inhibition de ce gène provoque une diminution de la division cellulaire et du taux de croissance. Une inhibition faible est trouvée également pour certains gènes impliqués dans la photosynthèse, par exemple ceux qui codifient pour les protéines collectrices de lumière des pigments fucoxanthine-chlorophylle a/c. En conclusion, cette étude a montré que les HAPs perturbent le métabolisme des acides gras, la formation du frustule siliceux chez les diatomées et la photosynthèse.

### **Réponse des algues**

Les algues répondent à la photosensibilisation et donc à la présence d'espèces réactives d'oxygène par une augmentation de l'activité d'enzymes antioxydantes comme la dismutase superoxyde (SOD) (Aksmann and Tukaj 2004).

L'étude de Chung et al. (Chung, Hu et al. 2007) a montré qu'un ensemble de HAPs (naphtalène, phénanthrène et pyrène) avaient un effet négatif sur la densité cellulaire, sur la concentration en chlorophylle *a* et sur la fluorescence, et que le paramètre le plus sensible aux HAPs était la densité cellulaire et le moins sensible la fluorescence.

Il est intéressant de noter que les algues, comme les bactéries et les champignons ont la capacité d'éliminer des molécules toxiques, tels que les HAPs. Lei et al (Lei, Hu et al. 2007) ont évalué l'efficacité de 4 espèces algales (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus platydiscus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Selenastrum capricornutum*) à éliminer fluoroanthène, pyrène et un mélange des deux et ont mis en évidence que la capacité à éliminer les HAPs était dépendante de l'espèce algale considérée et du toxique considéré.

## Bioaccumulation

La bioaccumulation de composés organique de synthèse par un certain nombre d'espèces algales a été démontré et le taux ou l'ampleur de bioaccumulation de toxiques organiques dépend de chaque espèce (Kirso and Irha 1998). La taille et la morphologie d'une cellule algale jouent un rôle important pour des activités physiologiques, telles que l'assimilation de nutriments, la photosynthèse, la respiration et l'élimination de déchets cellulaire. Pirszel et al. (Pirszel, Pawlik et al. 1995) et Tang et al. (Tang, Hoagland et al. 1998) ont suggéré que les microalgues ayant un rapport élevé de la surface cellulaire : biovolume ont un potentiel particulièrement élevé de sorption de divers toxiques (respectivement métaux et atrazine). Cependant, cette hypothèse n'a pas pu être confirmé par Lei et al. (Lei, Hu et al. 2007) qui a étudié la capacité de bioaccumulation de deux HAPs de la part de quatre espèces microalgales. Dans cette étude, les différences observées dans la bioaccumulation des deux HAPs n'ont pas pu être corrélées non plus au contenu en lipides, mais aux taux de croissance. Ces auteurs suggèrent qu'aussi d'autres paramètres tels que la composition de la parois cellulaire ou la présence d'enzymes impliquées dans la détoxification et dégradation des HAPs pourraient expliquer les différences observées. Mais la bioaccumulation dépend non seulement des caractéristiques d'une espèce algale et donc des caractéristiques physiologiques d'une espèce mais aussi des caractéristiques du HAP en question, telles que le poids moléculaire, la solubilité dans l'eau, si le composant est plus ou moins lipophile. Des facteurs environnementaux, tels que la température, le contenu en oxygène, le pH et la salinité peuvent également influencer l'assimilation des HAPs (Juhász and Naidu 2000). Les études montrent que les HAPs à un, deux ou trois anneaux peuvent être complètement dégradés par une seule population de microorganismes, alors que les HAPs à 4 ou 5 anneaux requièrent souvent la présence d'un consortium de microorganismes (Juhász and Naidu 2000). Parmi les microorganismes capables de dégrader les HAPs on trouve les bactéries, les champignons mais aussi les microalgues (Warshawsky, Cody et al. 1995 ; Juhász and Naidu 2000). Warshawsky et al. (Warshawsky, Cody et al. 1995) montrent que différents groupes de microalgues sont capables de dégrader BaP et que l'efficacité de dégradation dépend de la concentration initiale en HAPs, de l'espèce ou souche algale testée, de la source lumineuse et de la phototoxicité des HAPs.

Bennett et al. (Bennett, Bianchi et al. 1999) ont mis en évidence que dans les sédiments caractérisés par une faible concentration en HAPs, le microphytobenthos et notamment les diatomées ont une bonne croissance due à la diminution de la pression de broutage qui elle est due à l'effet toxique des HAPs.

Un autre étude très intéressante, effectuée en microcosmes en présence de biofilm naturel en provenance d'une rivière et mis en contact avec deux concentrations de fluoranthène (0,05 et 16,46µg/L) montre non seulement des changements au niveau des assemblages diatomiques aux deux concentrations mais aussi l'apparition de formes tératologiques à la concentrations la plus élevée (Rimet, Ector et al. 2004). *Nitzschia acicularis* apparaît comme étant une espèce tolérante au

toxique testé en présence d'une faible concentration en fluoranthène, alors que plusieurs diatomées ont été identifiées comme étant tolérantes à la forte concentration du toxique (*Nitzschia hantzschiana*, *Mayamaea atomus* var. *permitis* et *Achnantheidium minutissimum* au dépens de l'espèce considérée comme sensible, *Navicula antonii*). Par ailleurs la plupart des taxons présents dans ce dernier microcosme (*Achnantheidium biasolettianum*, *Gomphonema olivaceum*, *G. parvulum*, *Hippodonta costulata*, *Nitzschia archibaldii*, *Planothidium dubium*, *P. frequentissimum*, *P. lanceolatum*, *Staurosira pinnata*) montrent des malformations du frustule.

## **VI. REPONSES AUX POLLUANTS OBSERVEES CHEZ LES DIATOMEES**

Les réactions des différentes diatomées ou communautés de diatomées à la pollution et aux changements des conditions aquatiques peuvent se manifester de diverses manières. Selon les changements du milieu, les espèces de diatomées ou les communautés de diatomées réagissent par : 1) des variations d'ordre sociologiques comme la fréquence absolue ou relative, la diversité, la stabilité, la structure de la communauté, 2) la morphologie, 3) la biomasse (poids humide ou sec, perte au feu, volume cellulaire, degré de recouvrement) ou 4) des activités physiologiques (photosynthèse, respiration, nutrition, accumulation de substances. Nous allons investiguer ici les variations d'ordre sociologique et les variations de la morphologie.

Il convient de rappeler que de façon générale, les effets d'un polluant dépendront de sa biodisponibilité et de la sensibilité des communautés. Il est donc utile de connaître les facteurs qui modifient la biodisponibilité et les facteurs qui modifient la sensibilité des communautés. C'est la concentration bio-disponible en tout cas qui a une signification écologique.

### **VI.1. Présence de formes tératologiques**

Tératologie : « partie des sciences naturelles qui traite les monstruosités organiques ». C'est à dire cette science va s'intéresser à toutes les formes anormales et monstrueuses des organismes vivants. Chez les diatomées, on peut observer effectivement des formes anormales qui se présentent par une distorsion de l'ornementation et la perte de symétrie du frustule. En 1890 Cox avait déjà observé des déformation valvaire chez les diatomées (Cox 1890). Depuis, de nombreux auteurs ont observé ces anomalies chez les diatomées, mais leur cause est souvent pas claire. Plusieurs hypothèses ont été formulées :

Les formations anormales observées chez les diatomées sont induites par un stress au moment de la formation des valves, stress pouvant être causé soit par des conditions environnementales extrêmes (T, acidité, UV, limitation en silice, limitation ou excès de nutriments, salinité, pH extrêmes ou problèmes dans la reproduction) (Busse, 1999 #1744 ; Barber, 1981 #201 ; Feldt, 1973 #226 ; Ruggiu, 1998 #1869 ;...), soit causé par la présence de toxiques, tels que les métaux lourds (Thomas, Hollibaugh et al. 1980 ; Barber and Carter 1981; Andresen and Tuchman 1991; Yang and Duthie 1993 ; McFarland, Hill et al. 1997 ; Dickman 1998 ; Ruggiu, Luglié et al. 1998 ; Hodgson, Vyverman et al. 2000 ; Cattaneo, Couillard et al. 2004 ). En raison de cela, dans un milieu naturel, il peut être

difficile d'affirmer que les formes tératologiques observées sont directement causées par un type de pollution spécifique. Pour prouver une relation entre un type de pollution et une formation tératologique il convient d'effectuer tout d'abord des études écotoxicologique en milieu contrôlé. Une autre difficulté vient du fait, que même au sein d'un même organisme on peut détecter des changements naturels de la forme cellulaire durant son cycle de vie (Potapova and Snoeijs 1997). Pour une revue sur les altérations environnementales et la présence de diatomées présentant des formes tératologiques consulter Falasco et al. (Falasco, Bona et al. 2009).

De nombreux auteurs affirment en tout cas, que des changements morphologiques, tels que les formes tératologiques mais aussi les réductions en taille de la cellule diatomique, peuvent être liées à des problèmes pendant le processus d'assimilation de silice. Le cuivre par exemple, se lie aux groupes sulph-hydryles présents sur la membrane cellulaire et diminue ainsi l'assimilation de l'acide silicique (Sullivan 1976). L'impact négatif du cuivre sur le bon fonctionnement des membranes cellulaires a été confirmé également par Fisher et Jones (Fisher and Jones 1981) pour des diatomées cultivées à des fortes concentrations en cuivre. D'autres métaux, tels que le zinc ont la capacité d'affecter également l'assimilation de la silice. Morin suggère que le zinc se lie aux protéines de transport de l'acide silicique, ce qui a comme conséquence une désilicification du frustule ce qui a comme conséquence l'apparition d'individus faiblement silicifiés avec des atteintes morphologiques (thèse Morin).

De façon générale, il faut que la concentration en toxique (ou un quelconque stress) soit suffisamment élevée afin de causer la formation de frustules anormales, mais suffisamment faible afin de garantir au moins une division cellulaire (Picket-Heaps, Schmid et al. 1990). Enfin, on peut trouver des formes anormales tant pour les espèces polluo-tolérantes comme pour les espèces polluo-sensibles.

#### Pertinence des formes tératologiques comme indicateur de pollution métallique

Plusieurs études ont mis en évidence une corrélation entre le pourcentage de malformations observé et la concentration en métaux lourds. C'est par exemple le cas du cuivre (Cattaneo, Couillard et al. 2004). Cependant, ces auteurs estiment l'utilisation de cet indicateur de pollution trop laborieuse. A cela s'ajoute la nécessité de consulter un expert taxonomique et présuppose le comptage d'un nombre élevé de diatomée en raison du fait que les déformations sont relativement rares. La fréquence d'apparition d'anomalies morphologiques confirme, au travers une multitude d'expérimentation au laboratoire (..) et sur le terrain (...) et en présence de contamination métallique, sa pertinence comme indicateur de pollution métallique. Selon Morin (Morin and Coste 2006) une part très faible des individus présente « naturellement » des anomalies morphologiques, responsable d'un bruit de fond estimé à moins de 5 pour mille (observation également réalisé par Morin et Coste (Morin and Coste 2006). Au-delà de ces valeurs, on peut considérer que la fréquence des déformations est anormalement élevée, et révélatrice de niveaux de contamination métallique importants (Morin and Coste 2006).

Il convient de rappeler que la forme d'une cellule diatomique affecte la ratio surface/volume et donc l'aire exposée à l'environnement (Lewis 1976).

Malgré le fait que des formes tératologiques soient rencontrées souvent en milieu pollué, notamment en métaux lourds, l'apparition de formes anormales doivent être observées avec précaution comme indicateur de pollution, parce que malformations sont aussi causées par une variété de facteurs naturelles, comme la limitation en nutriment (Williams, Hollibaugh et al. 1980).

## **VI.2. Changements la richesse spécifique et de biodiversité**

De nombreux auteurs ont montré une diminution de la biodiversité et de la richesse spécifique en présence de contaminants, tels que les métaux lourds (Gold et al. 2003, Medley et Clements 1998, Niyogi et al. 2002).

Hirst et al. (Hirst, Juettner et al. 2002) a constaté que les macroinvertébrés répondent à la pollution métallique le plus souvent par des variations de diversité, alors que les diatomées le font par des changements de la composition des assemblages.

Il est généralement admis que le nombre d'espèces diatomiques et la diversité diatomiques sont plus faibles dans des milieux aquatiques salés que d'eau douce (Servant-Vildary and Roux 1990).

## **VI.3. Réduction de la taille moyenne des diatomées**

Peu d'exemples dans la littérature existent concernant une diminution de la taille chez les diatomées. Une diminution de la longueur de *A. formosa* dans des lacs Canadiens a été attribué à une limitation par la silicium (Kling 1993). Une réduction de la taille a été décrit pour *T. flocculosa* sur une carotte de sédiment du Mondsee, en parallèle avec une réduction importante d'eutrophication (Klee and Schmidt 1987). Dans le lac de Zurich, Nipkov (Nipkov 1927) a relié des changements de taille de plusieurs espèces de diatomées sur plusieurs années, probablement lié à la formation d'auxospores. Plusieurs auteurs ont constaté une diminution de la taille de la cellule et sa morphologie à la suite d'une contamination par les métaux lourds (Thomas, Hollibaugh et al. 1980; McFarland, Hill et al. 1997 ). Morin et Coste (cf. thèse Morin 2006 p. 118) ont également constaté une diminution de la taille de la cellule de certains taxons, qui a été attribuée à une contamination métallique. Sous stress métallique en fait, la multiplication asexuée serait le mode de reproduction majoritaire, ce qui conduit à une diminution de la taille moyenne de la cellule au sein d'une population diatomique à chaque cycle de mitose (Gensemer 1990; Cattaneo, Asioli et al. 1998 ; Joux-Arab, Berthet et al. 2000 ).

Cattaneo et al. (Cattaneo, Couillard et al. 2004) ont observé une corrélation négative entre concentration métallique et longueur de valve surtout pour le zinc et *Achnanthes minutissima* et *Tabellaria flocculosa*, et *Brachysira vitrea* et *Asterionella formosa* avec le cadmium le mieux. Selon ces auteurs l'apparition de la réduction de la taille de diatomées dominantes peut fournir un outil très

intéressant pour mettre en évidence une contamination par les métaux. Pas de nécessité d'un expert, relativement simple.

Gensemer (Gensemer 1990) a observé une corrélation entre concentration d'aluminium et réduction de la taille de *Asterionella ralfsii*. Cattaneo et al. (Cattaneo, Asioli et al. 1998) ont mis en évidence une réduction de la taille en liaison avec une contamination par le cuivre et le zinc dans le lac d'Orta.

Enfin, il est intéressant de noter ici qu'une réduction de la taille cellulaire peut impacter des populations naturelles indirectement à travers un changement de l'acquisition de ressources, ou via une augmentation du taux de perte par augmentation du taux de sédimentation de cellules plus petites et plus lourdes (Gensemer 1990).

#### **VI.4. Présence de diatomées de petite taille**

Les diatomées présente une variabilité de taille importante (de quelques micromètres à plusieurs centaines) Les très grandes espèces sont souvent rares car leur taux de croissance est moindre par rapport aux autres (Mizuno 1991).

Kinross et al. (Kinross, Christofi et al. 1993) suggèrent que les communautés diatomiques, soumises à un stress chimique (par exemple, acidification) vont avoir tendance à être dominées par des diatomées de petite taille, où le taux de croissance maximal est inversement corrélé au diamètre de la cellule (Raven and Geider 1988). Peres (Peres 1996) a observé une augmentation de petites diatomées (< 50µm) après 34 jours d'exposition à 1 µg /l de cadmium et une domination par *Achnanthes minutissima* après 71 jours à 10 µg Cd/L. *A. minutissima* domine également les sites pollués par du Cd et du Zn (Ivorra, Hettelaar et al. 1999). Néanmoins, la prolifération d'espèces diatomiques de petite taille a été également observée dans des sites avec en enrichissement organique ou eutrophisation (Fukushima, Koichi et al. 1994; Kelly and Whitton 1995). Même si *A. minutissima* est souvent dite cosmopolite (Kelly and Whitton 1995) et sensible à une pollution organique (Palmer 1969; Fukushima, Koichi et al. 1994), d'autres auteurs (Peres 1996; Ivorra, Hettelaar et al. 1999) ont mis en évidence une tolérance élevée de cette diatomée face à des métaux tels que le Zn et le Cd.

D'autres espèces de petite taille, telles que *Eolimna minima*, *Mayamaea atomus*, *Achnantheidium saprophilum*, *Aulacoseira subarctica* sont favorisé en milieu contaminé par du Cd (Duong, Morin et al. 2008).

#### **VI.5. Changement de la composition diatomique (ex. dominance de certaines espèces)**

*Achnanthes minutissima*, une algue cosmopolite et considérée comme colonisatrice (Sabater 2000) normalement indicatrice de conditions oligotrophes, est souvent indiquée comme dominante dans des rivières et des lacs montrant une contamination avec des métaux lourds (Takamura, Hatakeyama et al. 1990; Ruggiu, Luglié et al. 1998; Cattaneo, Couillard et al. 2004). Cattaneo et al. (Cattaneo, Couillard et al. 2004) proposent comme indicateur de tolérance métallique *Brachysira vitrea* pour le Cd



et le Pb, *Fragilaria* cf. *tenera* pour le Cu. *P. subcapitata* est tolérante aux métaux pour diverses auteurs (van Dam and Mertens 1990; Hirst, Juettner et al. 2002 ). *Fragilaira rumpens* est tolérante aux métaux pour d'autres auteurs (Leland and Carter 1984) alors que pour Hirst et al. (Hirst, Juettner et al. 2002) elle est sensible aux métaux. *Tabellaria flocculosa* a été reporté étant sensible aux métaux : (Say and Whitton 1980 ; Deniseger, Austin et al. 1986; Hirst, Juettner et al. 2002 ). Morin (Morin 2006) suggère que la présence d'espèces telles que *Eolimna minima*, *Fragilaria gracilis*, *Pinnularia globiceps* var. *globiceps*, *P. parvulissima*, *Surirella angusta*, *Surirella brebissonii* semble concorder avec l'existence d'un stress métallique.

## VI.6. Formes de vie

Au sein d'un biofilm (diatomées benthiques) on distingue des formes attachées et des formes filamenteuses (les colonies). Les formes attachées sont plus isolées que les formes filamenteuses de l'eau environnante (Burkholder, Wetzel et al. 1990). On peut emettre certaines hypothèses comme par exemple que les formes attachées soient plus protégées envers les toxiques contenus dans l'eau.

Plusieurs formes de vie sont communément rencontrées :

Benthique : espèce attachée au substrat

Planctonique : espèces flottant librement dans la colonne d'eau

Mobile : espèces raphidées (mono ou biraphidées)

Coloniale : les cellules filles (issues de la multiplication végétative) restent collées entre elles (substance mucilagineuse, filaments, dents, épines,...)

Tube muqueux : mode de vie colonial, les individus forment un tube muqueux dans lequel ils peuvent circuler.

Pédonculée : espèces sécrétant un mucilage et produisant un pédoncule muqueux par lequel elles peuvent se fixer au substrat

Prostrée : espèce attaché au sbstrat sur tout un coté de sa valve

Erigée : espèce attaché au substrat par un pole de son squelette

La formation de colonies affecte également la réponse d'organismes à un paramètre (Snoeijs, Busse et al. 2002).

Le développement en trois dimensions des biofilms exposés aux métaux est fortement réduit (Lehman, Tubbing et al. 1999), et les petites diatomées à forte adhérence au substrat dominant alors.

Plusieurs auteurs ont évoqué l'hypothèse selon laquelle la sensibilité des communautés de diatomées face à un « stress » environnemental varierait en fonction de leur maturité et de leur architecture, en particulier dans le cas des pollutions métalliques (Lock, Wallace et al. 1984 ; Medley and Clements 1998 ; Ivorra, Brehmer et al. 2000). La matrice polysaccharidique possédant des nombreux sites de fixation des métaux (Gray and Hill 1995) et entourant le periphyton jouerait un rôle de protection en réduisant ainsi la bio-disponibilité et la toxicité des métaux. Ainsi, un biofilm mature serait moins perturbé par la présence de métaux qu'un biofilm immature.

## VII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

---

Ce projet visait à documenter la surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels par les diatomées dulçaquicoles en ciblant plus spécifiquement :

- les capacités de bio-indication des diatomées pour différentes pollutions de type industrielles ;
- les caractéristiques et métriques permettant d'optimiser leurs capacités d'indicatrices ;
- les possibilités de développer les indicateurs de restauration basés sur les diatomées.

La réalisation de la recherche bibliographique a été complétée durant l'ensemble de la période de l'étude. Un comité de pilotage a suivi le déroulement de l'étude et a permis la structuration du présent rapport. La bibliographie s'est appuyée sur diverses études publiées et effectuées sur le terrain et en laboratoire.

Plusieurs pistes nous semblent être prometteuses pour révéler des pollutions :

- La fréquence des anomalies morphologiques

Stevenson et Bahls (1999) ont suggéré l'utilisation du pourcentage de diatomées déformées comme outil de la diagnose de la qualité des eaux au regard des toxiques. Cette hypothèse a été successivement testée et confirmée par Morin et Coste (2006) pour des métaux lourds dans un petit cours d'eau du sud ouest de la France. Il reste cependant à généraliser l'utilisation de cette métrique à un spectre plus large de milieux, et également établir des abondances seuils à partir desquels il existerait un risque toxique avéré.

Morin (2006) propose un indice de pollution métallique probable qui tient compte de l'abondance relative d'espèces identifiées comme tolérantes et la fréquence des anomalies morphologiques et ayant la formule suivante :

Indice de pollution métallique probable =  $\sum RA(n)_i + 10 \times \sum RA(a)_i$

Où  $RA(n)_i$  : abondances relatives de la forme normale de l'individu  $i$ ,  $RA(a)_i$  : abondances relatives de la forme anormale de l'individu  $i$

Cet indicateur a été testé sur une série de données et les premiers résultats sont prometteurs mais nécessitent une validation à plus grande échelle (Morin 2006).

- Le biovolume total des communautés

Cette métrique semble en effet intéressante pour évaluer l'effet de toxiques, puisque plusieurs références mentionnent une réduction du biovolume avec la présence de toxiques. Le programme Omnidia permet d'extraire de la « base de données diatomées » le biovolume théorique de chaque espèce. A partir de cette donnée et des abondances relatives de chaque espèce, il est possible de calculer un biovolume théorique moyen de la communauté (B), suivant la formule :

$$B = \sum_{i=1}^n RA_i \times B_{spi}$$

Où n : nombre de taxons dans l'échantillon ;  $RA_i$  : abondance relative de l'espèce i et  $B_{spi}$  : biovolume théorique de l'espèce i

- La longueur de certains taxons

Certains auteurs (Cattaneo, Asioli et al. 1998 ; Joux-Arab, Berthet et al. 2000 ; Cattaneo, Couillard et al. 2004), ont constaté une diminution de la longueur de certains taxons en présence de contamination de métaux lourds. Ceci n'est pas surprenant étant donné que l'aire de la surface cellulaire est un paramètre majeur dans l'assimilation de métaux (Koshmanesch et al 1997 ; Gold et al 2003b) et suggère que des espèces de petite taille ou même des individus de plus petite taille puissent être favorisées en présence de stress métallique.

- La fréquence des classes de biovolumes

Les différentes espèces de diatomées peuvent être réparties en classes de taille (Berthon, 2009). Des travaux en macroécologie, montrent des relations existant entre les différentes classes de tailles des cellules et leur abondance (Li, 2002) ou encore la quantité de ressources disponibles dans les milieux (Finkel et al., 2009), ces relations ont été démontrées sur de grands bassins hydrographiques en France (Berthon, 2009). On peut émettre l'hypothèse comme que la présence de toxique sélectionnerai plutôt des taxons de petites tailles, et par conséquent les relations taille/ressource prédites en macroécologie ne serait plus applicables. Il serait par conséquent intéressant de tester ce type d'hypothèse sur différents type de milieux et de tester la généralité de cette métrique pour l'indication d'un risque toxique.

- La fréquence de guildes écologiques

Une guilda est un ensemble de taxons qui coexistent dans un même milieu et qui peuvent posséder des adaptations spécifiques aux facteurs abiotiques. Passy (2007a), par exemple, a défini des guildes basées sur le potentiel des espèces à utiliser les ressources en nutriments et à résister aux perturbations physiques du milieu. Outre des relations ressource/abondance de certaines guildes, des résultats préliminaires sur des bases de données (Berthon 2009) et sur plusieurs expérimentations en mésocosmes lotiques (INRA Thonon) ont montré la sélection de certaines guildes en présence de pollution (trophie, saprobie, pesticides). Ces résultats restent à confirmer sur un nombre plus important d'expérimentations actuellement en cours de dépouillement.

Il serait intéressant que ces types de relations soient généralisés sur d'autres types de milieux afin de tester la généralité de tels outils pour l'indication d'un risque de présence de polluants dans le milieu.

- La fréquence de formes de vie

De la même façon que pour les guildes écologiques, la fréquence de différents types de formes de vie a été testé sur des jeux de données en fonction de l'augmentation de la concentration en matière organique et en nutriments (Berthon 2009). Des résultats préliminaires sur des expérimentations en canaux lotiques (INRA Thonon) montrent la sélection de certaines formes de vie dans des contextes pollués par des herbicides et des fongicides. Ces résultats restent à confirmer sur un plus grand nombre d'expérimentations actuellement en cours de dépouillement. L'étape suivante sera, tout comme pour les guildes écologiques, de généraliser ces observations sur un ensemble plus important de milieux naturels.

## IX. Liste bibliographique

- Acs, E., K. Szabo, et al. (2004). "Investigation of benthic algal communities, especially diatoms of some hungarian streams in connection with reference conditions of the water framework directives." Acta Botanica Hungarica **46**(3-4): 255-277.
- Admiraal, W. (1976). "Salinity tolerance of benthic estuarine diatoms as tested with a rapid polarographic measurement of photosynthesis." Mar. Biol. **39**, (1): 1432-1793.
- Admiraal, W., H. Blanck, et al. (1999). "Short-term toxicity of zinc to microbenthic algae and bacteria in a metal polluted stream." Water Research **33**(9): 1989-1996.
- AFNOR (2002). "Qualité de l'eau - Détermination de l'indice oligochètes de bio-indication des sédiments (IOBS)."
- AFNOR (2003). "AFNOR NF T90-395. Qualité de l'eau - Détermination de l'indice biologique macrophyte en rivière (IBMR), Saint-Denis, La Plaine, 28 p."
- AFNOR (2003). "NF EN 13946. Qualité de l'eau - Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières. Afnor:1-18."
- AFNOR (2004). "NF EN 14407. Qualité de l'eau - Guide pour l'identification et le dénombrement des échantillons de diatomées benthiques de rivières, et leur interprétation. Afnor:1-13."
- AFNOR (2004). "Qualité de l'eau - Détermination de l'indice biologique global normalisé (IBGN). 16 pp."
- AFNOR (2004). "Qualité de l'eau - Détermination de l'indice poissons rivière (IPR). NF T90-344."
- AFNOR (2007). "NF T90-354. Qualité de l'eau - Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD)." 79.
- Ahner, B. A. and F. M. N. Morel (1995). "Phytochelatin production in marine algae. 2. Introduction by various metals." Limnol. Oceanogr. **40**(4): 658-665.
- Aksmann, A. and Z. Tukaj (2004). "The effect of anthracene and phenanthrene on the growth, photosynthesis, and SOD activity of the green alga *Scenedesmus armatus* depends on the PAR irradiance and CO<sub>2</sub> level." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **47**: 177-184.
- Allakhverdiev, S. I., Y. Nishiyama, et al. (2002). "Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of psbA genes in *Synechocystis*." Plant Physiol. **130**: 1443-1453.
- Allan, R. (1997). "Introduction: mining and metals in the environment." J. Geochem. Expl. **58**: 95-100.
- Anderson, N. J. (2000). "Minireview: diatoms, temperature and climate change." Eur. J. Phycol. **35**: 307-314.
- Andresen, N. A. and M. L. Tuchman (1991). "Anomalous diatom populations in lakes Michigan and Huron in 1983." J. Gt. Lakes Res. **17**: 144-149.
- Aoyama, I. and H. Okamura (1993). "Interactive toxic effect and bioconcentration between cadmium and chromium using continuous algal culture." Environ. Toxicol. Water-Qual. **8**: 255-269.
- Arfsten, D. P., D. J. Schaeffer, et al. (1996). "UVb-induced toxicity of PAHs: Effects of substituents and heteroatom substitution." Ecotoxicol. Envir. Safety **33**: 1-24.

- Azam, F., B. B. Hemmingsen, et al. (1974). "Role of silicon in diatom metabolism. V. Silicic acid transport and metabolism in the heterotrophic diatom *Nitzschia alba*." Arch. Microbiol. **97**: 103-114.
- Baars, J. W. (1983). "Autoecological investigations on freshwater diatoms. 1. Generation times of some species." Arch. Hydrobiol. Suppl. **67**: 11-18.
- Bagchi, M., D. Bagchi, et al. (1998). "Naphtalene-induced oxidative stress and DNA damage in cultured macrophage J774A.1 cells." Free Radic Biol. Med. **25**: 137-143.
- Barber, H. G. and J. R. Carter (1981). "Observations on some deformities found in British diatoms." Microscopy **34**: 214-226.
- Bates, S. S., A. Tessier, et al. (1985). "Zinc-phosphate interactions and variations in zinc accumulation during growth of *Chlamydomonas variabilis* (Chlorophyceae) in batch culture." Can. J. Fish. Aq. Sci. **42**: 86-94.
- Battarbee, R. W., D. Charles, et al. (1999). "Diatoms as indicators of surface water acidity. In: Stoermer, E. F. and Smol, J.P. (eds.). *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 85-127."
- Bayly, I. A. E. and W. D. Williams (1973). Inland waters and their ecology. Australia.
- Bennett, A., T. S. Bianchi, et al. (1999). "The effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination and grazing on the abundance and composition of microphytobenthos in salt marsh sediments (Pass Fourchon, LA) - I. A microcosm experiment." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **242**: 1-20.
- Bertrand, M., B. Schoefs, et al. (2001). "Cadmium inhibits epoxidation of diatoxanthin to diadinoxanthin in the xanthophyll cycle of the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*." Febs Letters **508**: 153-156.
- Berthon, V. (2009) Evolution de l'abondance de différents traits biologiques de diatomées en rivières le long des gradients de saprobie et de trophie. Rapport INRA, Thonon, France, stage Master, 45 pp.
- Bhattacharyya, P. and B. E. Volcani (1980). "Sodium-dependent silicate transport in the apochlorotic marine diatom *Nitzschia alba*." Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**(11): 6386-6390.
- Biggs, B. J. F. (1996). "Patterns in benthic algae of streams. In: Stevenson R.J., bothwell M.L. and Lowe R.L. (eds), *Algal Ecology*. Academic Press, San Diego, pp. 31-56."
- Biggs, B. J. F., D. G. Goring, et al. (1998). "Subsidy and stress responses of stream periphyton to gradients in water velocity as a function of community growth form." J. Phycol. **34**: 598-607.
- Bigler, C., E. Grahn, et al. (2003). "Holocene environmental change at Lake Njulla (999 m a.s.l.), northern Sweden: a comparison with four small nearby lakes along an altitudinal gradient." J. Paleolimnol. **29**: 13-29.
- Bisson, M. A. and G. O. Kirst (1995). "Osmotic acclimation and turgor pressure regulation in algae." Naturwissenschaften **82**: 461-471.
- Blinn, D. W. (1991). "Diatom community structure along physico-chemical gradients in saline lakes." Ecology **74**: 1246-1263.

- Bloom, A. M., K. A. Moser, et al. (2003). "Diatom-inference models for surface-water temperature and salinity developed from a 57-lake calibration set from the Sierra Nevada, California, USA." J. Paleolimnol. **29**: 235-255.
- Boeddi, B., A. R. Oravec, et al. (1995). "Effect of cadmium on organization and photoreduction of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast inner membrane preparations of wheat." Photosynthetica **31**: 411-420.
- Bohnert, H. J., P. Ayoubi, et al. (2004). "A genomics approach towards salt stress tolerance." Plant Physiol. Biochem. **39**: 295-311.
- Bopp, S. K. and T. Lettieri (2007). "Gene regulation in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* upon exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)." Gene **396**: 293-302.
- Burkholder, J. M., R. G. Wetzel, et al. (1990). "Direct comparison of phosphate uptake by adnate and loosely attached microalgae within an intact biofilm matrix." Appl. Environ. Microbiol. **56**: 2882-2890.
- Busse, S., R. Jahn, et al. (1999). "Desalinization of running waters. II. Benthic Diaom Communities: a comparative field study on responses to decreasing salinities." Limnologica **29**: 465-474.
- Canet, R., J. G. Birmstingl, et al. (2001). "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil." Bioresour. Technol. **76**: 113-117.
- Carmichael, G. R., D. G. Streets, et al. (2002). "Changing trends in sulfur emissions in Asia: implications for acid deposition, air pollution, and climate." Environ. Sci. Technol. **36**: 4707-4713.
- Castillo, L. E., E. Martinez, et al. (2006). "Water quality and macroinvertebrate community response following pesticide applications in a banana plantation Limon Costa Rica." Sci. Total Environ. **367**: 418-432.
- Cattaneo, A. and M. C. Amireault (1992). "How artificial are artificial substrata for periphyton?" J. N. Am. Benthol. Soc. **11**.
- Cattaneo, A., A. Asioli, et al. (1998). "Organisms' response in a chronically polluted lake supports hypothesized link between stress and size." Limnol. Oceanogr. **43**: 1938-1943.
- Cattaneo, A., Y. Couillard, et al. (2004). "Diatom taxonomic and morphological changes as indicators of metal pollution and recovery in Lac Dufault (Québec, Canada)." J. Paleolimnol. **32**: 163-175.
- Cazaubon, A. (1991). Problems and objectives of sampling river algae for monitoring. Use of algae for monitoring rivers. B. A. Whitton, E. Rott and G. Friedrich, Institut fuer Botanik, Universitaet Innsbruck: 17-20.
- Cemagref/Agences de l'eau (1999). "Mise au point d'un indice diatomique pratique applicable au réseau hydrographique français : Indice Biologique Diatomées ou IBD. Manuel de l'utilisateur et CD Rom Tax'IBD."
- Cerón Garcí, M. C., J. M. Fernández Sevilla, et al. (2000). " Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profile." J. Appl. Phycol. **12**(3-5): 1573-5176.

- Cervantes, C., J. Campos-Garcia, et al. (2001). "Interactions of chromium with microorganisms and plants." FEMS Microb. Rev. **25**: 335-347.
- Charles, D. (1985). "Relationships between surface sediment diatom assemblages and lakewater characteristics in Adirondack lakes." Ecology **66**(3): 994-1011.
- Chessel, D. and P. Mercier (1993). Couplage de triplets statistiques et liaisons espèces-environnement. Paris, Masson.
- Chung, M. K., R. Hu, et al. (2007). "Comparative toxicity of hydrophobic contaminants to microalgae and higher plants." Ecotoxicol. **16**: 393-402.
- Conglianese, M. P. and M. Martin (1981). "Individual and interactive effects of environmental stress on the embryonic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. The toxicity of copper and silver." Mar. Environ. Res. **5**: 13-27.
- Conway, H. L. (1978). "Sorption of arsenic and cadmium and their effects on growth, micronutrient utilization, and photosynthetic pigment composition of *Asterionella formosa*." J. Fish. Res. Bd. Can. **35**: 286-294.
- Cook, F. S. and P. S. J. Colemann (2007). "Benthic diatoms in the salinas of the Dry Creek saltfields, South Australia." Hydrobiologia **576**: 61-68.
- Coste in Cemagref (1982). "Etude des méthodes biologiques quantitatives d'appréciation de la qualité des eaux. Rapport Q.E. Lyon-A.F. Bassin Rhône-Méditerranée-Corse, Lyon, France."
- Coste, M. (1986). "Les méthodes microfloristiques d'évaluation de la qualité des eaux." Cemagref, Bordeaux, 25 pp + annexe.
- Coste, M. and H. Ayphassorho (1991). "Etude de la qualité des eaux du Bassin Artois-Picardie à l'aide des communautés de diatomées benthiques (Application des indices diatomiques)." Rapport CEMAGREF Bordeaux-Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai: 277.
- Coste, M. and L. Ector (2000). "Diatomées invasives exotiques ou rares en France: principales observation effectuées au cours des dernières décennies." Systematic and Geography of Plants **70**: 373-400.
- Cox, J. D. (1890). "Deformed diatoms." Proc. Amer. Soc. Micr.: 178-183.
- De Filippis, L. F. and C. K. Pallaghy (1994). "Heavy metals: sources and biological effects." Archiv für Hydrobiologie **42**: 31-77.
- De La Rocha, C. L., D. A. Hutchins, et al. (2000). "Effects of iron and zinc deficiency on elemental composition and silica production by diatoms." Mar. Ecol. Prog. Ser. **195**: 71-79.
- Dell'Uomo, A. and C. Tantucci (1996). "Impiego delle Diatomee nel monitoraggio biologico del Fiume Musone (Marche)." S.It.E. Atti **17**: 499-502.
- Dell'Uomo, A. (2004). "L'indice diatomico di eutrofizzazione/polluzione (EPI-D) nel monitoraggio delle acque correnti. Linea guida." 101.
- DeLorenzo, M. E., G. I. Scott, et al. (2001). "Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review." Environ. Toxicol. Chem. **20**: 84-98.
- DeNicola, D. M. (2000). "A review of diatoms found in highly acidic environments." Hydrobiologia **433**(111-122).



- Deniseger, J., A. Austin, et al. (1986). "Periphyton communities in a pristine mountain stream above and below heavy metal mining operations." Freshw. Biol. **16**: 209-218.
- Denys, L. (1991). "A check list of the diatoms in the Holocene deposits of the western Belgian coastal plain with a survey of their apparent ecological requirements." Professional Paper Belgische Geologische Dienst **246**: 1-41.
- Descy, J. P. (1979). "A new approach to water quality estimation using diatoms." Nova Hedwigia **64**: 305-323.
- Descy, J. P. and M. Coste (1988). "Utilisation des diatomées benthiques pour l'évaluation de la qualité des eaux courantes." Deuxième Rapport d'Avancement. UNECED-CCE B-71-23: 49 pp. + annexes.
- Descy, J. P. and M. Coste (1991). "A test of methods for assessing water quality based on diatoms." Verh. Int. Verein. Limnol. **24**: 2112-2116.
- Dickman, M. D. (1998). "Benthic marine diatom deformities associated with contaminated sediments in Hong Kong." Environ. Internat. **24**: 749-759.
- Dickson, D. M. J. and G. O. Kirst (1987). "Osmotic adjustment in marine eukaryotic algae: the role of inorganic ions, quaternary ammonium, tertiary sulphonium and carbohydrate solutes. II. Prasinophytes and Haptophytes." New Phytol. **106**: 657-666.
- Dixit, S. S. and M. D. Dickman (1986). "Correlation of surface sediment diatoms with the present lake water pH in 28 Algoma lakes, Ontario, Canada." Hydrobiologia **131**: 133-143.
- Dixit, S. S., A. S. Dixit, et al. (1991). "Multivariable environmental inferences based on diatom assemblages from Sudbury (Canada) lakes." Freshw. Biol. **26**: 251-266.
- Dixit, S. S., A. S. Dixit, et al. (1992). "Assessment of changes in lake water chemistry in Sudbury area lakes since preindustrial times." Can J. Fish. Sci. **49 (suppl. I)**: 8-16.
- Djomo, J. E., A. Dauta, et al. (2004). "Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments of *Scenedesmus subspicatus*." Wat. Res. **38**: 1817-1821.
- Duong, T. T., S. Morin, et al. (2008). "Seasonal effects of cadmium accumulation in periphytic diatom communities of freshwater biofilms." Aquat. Toxicol. **90(1)**: 19-28.
- Duxbury, C. L., D. G. Dixon, et al. (1997). "Effets of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*." Environ. Toxicol. Chem. **16**: 1739-1748.
- Ek, A. E. and I. Renberg (2001). "Heavy metal pollution and lake acidity changes caused by one thousand years of copper mining at Falun, central Sweden." J. Paleolimnol. **26**: 89-107.
- Eppely, R. W. (1977). "Chapter 2: The growth and culture of diatoms. - In The Biology of Diatoms. Bot. Monogr. 13. Blackwell Sci. Publ., 24-64."
- Erdmann, N. and M. Hagemann (2001). "Salt acclimatation of algae and cyanobacteria: a comparison. In: Algal Adaptation to Environmental Stress (eds L.C. Rai and J.P. Gaur). Springer."
- Esser, B. K. and A. Volpe (2002). "At-sea-high-resolution trace element mapping: San Diego bay and its plume in the adjacent coastal ocean." Environ. Sci. Technol. **36**: 2826-2832.
- Falasco, E., F. Bona, et al. (2009). "Diatom teratological forms and environmental alterations: a review." Hydrobiologia.

- Fargasova, A. (1999). "The green alga *Scenedesmus quadricauda* - a subject for the study of inhibitory effects of Cd, Cu, Zn, Pb and Fe." Biologia **54**: 303-308.
- Fesel, U. (1984). Die Praesenz von Diatomeen und Diatomeenassoziationen unter den eusaprobien Verhaeltnissen des Abwassers, Universitaet Frankfurt/Main.
- Findley, G. M. (1928). "Ultra-violet light and skin cancer." Lancet(215).
- Finkel, C. J. Vaillancourt, A. J. Irwin, E. D. Reavie, and J. P. Smol. (2009). Environmental control of diatom community size structure varies across aquatic ecosystems, Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **276** (1662) :1627-1634.
- Fisher, N. S. and G. J. Jones (1981). "Effects of copper and zinc on growth, morphology, and metabolism of *Asterionella japonica* (Cleve)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **51**: 37-56.
- Frankart, C., P. Eullaffroy, et al. (2003). "Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*." Environ. Exp. Bot. **49**: 159-209.
- Fritz, S. C., S. Juggins, et al. (1993). "Diatom assemblages and ionic characterization of lakes of the Northern Great Plains, North America: A tool for reconstructing past salinity and climate fluctuations." Can. J. Fish. Aq. Sci. **50**: 1844-1856.
- Fritz, S. C., S. Juggins, et al. (1991). "Reconstruction of past changes in salinity and climate using a diatom-based transfer function." Nature **352**: 706 - 708.
- Frontier, S. (1983). "L'échantillonnage de la diversité spécifique. In Stratégie d'échantillonnage en écologie, Frontier et Masson édit., Paris (Coll. D'Ecologie), XVIII + 494 pp
- Fukushima, S., Y. Koichi, et al. (1994). "Effects of self-purification on periphytic algal communities in lotic systems." Ver. Int. Verein Theor. angewandte Limnol. **25**: 1966-1970.
- Garvey, J. E., A. O. Heather, et al. (1991). "Toxicity of copper to the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae), as affected by humic substances of terrestrial and freshwater origin." Aq. Toxicol. **19**: 89-96.
- Gasse, F., S. Juggins, et al. (1995). "Diatom-based transfer functions for inferring past hydrochemical characteristics of African lakes." Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleoecol. **117**: 31-54.
- Gasse, F. and F. Tekaia (1983). "Transfer functions for estimating paleoecological conditions (pH) from East African diatoms." Hydrobiologia **103**: 85-90.
- Gaur, J. P. and L. C. Rai (2001). Heavy metal tolerance in algae. Algal adaptation to environmental stresses: physiological, biochemical and molecular mechanisms. L. C. Rai and J. P. Gaur, Springer Verlag: 363-388.
- Gensemer, R. W. (1990). "Role of aluminium and growth rate on changes in cell size and silica content of silica-limited populations of *Asterionella ralfsii* var. *americana* (Bacillariophyceae)." J. Phycol. **26**: 250-258.
- Gensemer, R. W. and R. C. Playle (1999). "The bioavailability and toxicity of aluminium in aquatic environments." Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. **29**: 315-450.
- Genter, R. B. (1996). Ecotoxicology of inorganic chemical stress. Algal ecology of freshwater benthic ecosystems, Aquatic Ecology Series. R. J. Stevenson, M. L. Bothwell and L. R.L. Boston, Academic Press: 403-468.

- Genter, R. B. (1996). "Ecotoxicology of inorganic chemical stress to algae. In: Stevenson R.J., Bothwell M.L. and Lowe R.L. (eds), *Algal ecology*. Academic Press, San Diego, pp. 403-468."
- Genter, R. B. and D. J. Amyot (1994). "Freshwater benthic algal population and community changes due to acidity and aluminium-acid mixtures in artificial streams." Environ. Toxicol. Chem. **13**(3): 369-380.
- Gerhardt, A., L. Janssens de Bisthoven, et al. (2008). "Phytoassessment of acid mine drainage: Lemna gibba bioassay and diatom community structure." Ecotoxicol. **17**: 47-58.
- Germain, H. (1981). Flore des diatomées. Diatomophycées eau douces et saumâtres du Massif Armoricaïn et des contrées voisines d'Europe occidentale. Paris.
- Gerringa, L. J. A., J. W. Rijstenbil, et al. (1995). "Speciation of copper and responses of the marine diatom *Ditylum brightwellii* upon increasing copper concentrations." Aquat. Toxicol. **31**: 77-90.
- Geyer, H., R. Viswanathan, et al. (1981). "Relationship between water solubility of organic chemicals and their bioaccumulation by the alga *Chlorella*." Chemosphere **10**(11/12): 1307-1313.
- Gherini, S. A., C. W. Chen, et al. (1985). "The ILWAS model: formulation and application." Wat. Air Soil Pollut. **26**: 425-459.
- Gold, C. (2002). Etude des effets de la pollution métallique (Cd, Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphytiques des cours d'eau. Approches expérimentales *in situ* et en laboratoire. Univ. Bordeaux I Ecole doct. Sciences du vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement: 175.
- Gold, C., A. Feurtet-Mazel, et al. (2003). "Effects of cadmium stress on periphytic diatom communities in indoor artificial streams." Freshw. Biol. **48**: 316-328.
- Gold, C., A. Feurtet-Mazel, et al. (2003). "Impacts of Cd and Zn on the Development of Periphytic Diatom Communities in Artificial Streams Located Along a River Pollution Gradient." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **44**(2): 189-197.
- Gosh, M. and J. P. Gaur (1998). "Current velocity and establishment of stream algal periphyton communities." Aquat. Bot. **60**(1): 1-10.
- Gourlay, C., J.-M. Mouchel, et al. (2005). "Influence of algal and bacterial particulate organic matter on benzo[a]pyrene bioaccumulation in *Daphnia magna*." Science of the Total Environment **346**: 220-230.
- Grande, M., S. Andersen, et al. (1994). "Effects of pesticides on fish." Norwegian J. Agric. Sci. **195-209**.
- Gray, B. R. and W. R. Hill (1995). "Nickel sorption by periphyton exposed to different light intensities." J. N. Benthol. Soc. **14**(2): 299-305.
- Grote, M., G. Schuurmann, et al. (2005). "Modeling photoinduced algal toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons." Environ. Sci. Technol. **39**: 4141-4149.
- Guanzon, N. G., H. Nakahara, et al. (1994). "Inhibitory effects of heavy-metals on growth and photosynthesis of 3 freshwater microalgae." Fisheries Science **60**(4): 379-384.
- Guasch, H., W. Admiraal, et al. (2003). "Contrasting effects of organic and inorganic toxicants on freshwater periphyton." Aq. Toxicol. **64**: 165-175.

- Guasch, H., N. Ivorra, et al. (1998). "Community composition and sensitivity of periphyton to atrazine in flowing waters: the role of environmental factors." J. Appl. Phycol. **10**: 203-213.
- Guasch, H. and S. Sabater (1998). "Light history influences the sensitivity to atrazine in periphytic algae." J. Phycol. **34**(2): 233-241.
- Guegen, C., R. Gilbin, et al. (2004). "Water toxicity and metal contamination assessment of a polluted river: the Upper Vistula River (Poland)." Appl. Geochem. **19**(1): 153-162.
- Guillard, R. and P. Kilham (1977). Ecology of marine planktonic diatoms. The biology of diatoms. D. WERNER, University of California Press, Berkeley, Botanical Monography. **13**: 470-483.
- Hakansson, S. (1992). "On numerical methods for inference of pH variations in mesotrophic and eutrophic lakes in southern Sweden." Diatom Research **7**: 203-206.
- Hall, J., F. P. Healey, et al. (1989). "The interaction of chronic copper toxicity with nutrient limitation in two chlorophytes in batch culture." Aq. Toxicol. **14**: 1-14.
- Hall, R. J., G. E. Likens, et al. (1980). "Experimental acidification of a stream in the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire." Ecology **61**: 976-989.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (1999). "Free radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford University Press, New York, 936 pp."
- Harding, J. P. C. and M. G. Kelly (1999). Recent developments in algal-based monitoring in the United Kingdom. Use of Algae for Monitoring Rivers III, Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai., J. Prygiel, B. A. Whitton and J. Bukowska: 26-34.
- Hare, P. D. and W. A. Cress (1997). "Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants." Plant Growth Regulation **21**: 79-102.
- Hart, B. T., P. Bailey, et al. (1990). "Effects of salinity on river, stream and wetland ecosystems in Victoria, Australia." Wat. Res. **24**: 1103-1117.
- Hart, B. T., P. Bailey, et al. (1991). "A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota." Hydrobiologia **210**: 105-144.
- Hashemi, F., G. G. Leppard, et al. (1994). "Copper resistance in *Anabaena variabilis*: effects of phosphate nutrition and polyphosphate bodies." Microb. Ecol. **27**: 159-176.
- Hawes, I. (1993). "Photosynthesis in thick cyanobacterial films: a comparison of annual and perennial Antarctic mat communities." Hydrobiologia **252**: 203-209.
- Hecky, R. E. and P. Kilham (1973). "Diatoms in alkaline, saline lakes: ecology and geochemical implications." Limnol. Oceanogr. **18**(1): 53-71.
- Hellawell, J. M. (1978). "Biological surveillance of rivers: a biological monitoring handbook." Water Research Centre, Hertz: 332.
- Henriksen, A. (1982). "Susceptibility of surface waters to acidification. In: Acid Rain/Fisheries (Ed. Johnson, R.E.), pp. 103-121. American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA."
- Hepp, R. and E. E. Hildebrand (1993). "Depositions in forests of Baden-Wuerttemberg (in German)." Allg. Forstztg. **22**: 1139-1142.
- Hill, B. H., W. T. Willingham, et al. (2000). "Periphyton community responses to elevated metal concentrations in a Rocky Mountain stream." Hydrobiologia **428**: 161-169.

- Hill, W. R., A. T. Bednarek, et al. (2000). "Cadmium sorption and toxicity in autotrophic biofilms." Can J. Fish. Sci. **57**(3): 530-537.
- Hill, W. R. and H. L. Boston (1991). "Community development alters photosynthesis-irradiance relations in stream periphyton." Limnol. Oceanogr. **36**: 1375-1389.
- Hirst, H., F. Chaud, et al. (2004). "Assessing the short-term response of stream diatoms to acidity using inter-basin transplantations and chemical diffusing substrates." Freshw. Biol. **49**: 1072-1088.
- Hirst, H., I. Juettner, et al. (2002). "Comparing the responses of diatoms and macroinvertebrates to metals in upland streams of Wales and Cornwall." Freshw. Biol. **47**: 1752-1765.
- Hoagland, K. D., J. R. Rosowski, et al. (1993). "Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry and physiology." J. Phycol. **29**: 537-566.
- Hodgson, D. A., W. Vyverman, et al. (2000). "From rainforest to wasteland in 100 years: the limnological legacy of the Queenstown mines, Western Tasmania." Arch. Hydrobiol. **149**: 153-176.
- Hofmann, G. (1997). "Diatom communities in the rivers Werra and Ulster (Germany) and their response to reduced salinity." Limnologica **27**: 77-84.
- Hofmann, G. (1998). "Benthische Diatomeen. In: DVWK: Folgen der Reduktion der Salzbelastung in Werra und Weser fuer das Fließgewässer als Ökosystem. Bonn."
- Holmes, R. W. (1986). "Final Report: Calibration of diatom-pH-alkalinity methodology for the interpretation of the sedimentary record in Emerald lake integrated watershed study. UCSB."
- Huang, X. D., S. N. Krylov, et al. (1997). "Mechanistic quantitative structure-activity relationship model for the photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons: II. An empirical model for the toxicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons to the duckweed *Lemna gibba* L. G-3." Environ. Toxicol. Chem. **16**: 2296-2303.
- Huerlimann, J. and P. Niederhauser (2002). "Méthodes d'étude et d'appréciation de l'état de santé des cours d'eau: Diatomées- niveau R (région). Office Fédéral de l'Environnement des Forêts et du Paysage." 111.
- Hustedt, F. (1930). *Die Kieselalgen Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz mit Beruecksichtigung der uebrigen Laender Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. Kryptogamen-Flora.* L. Rabenhorst. Leipzig.
- Hustedt, F. (1939). "Systematische und oekologische Untersuchungen ueber die Diatomeen-Flora von Java, Bali, und Sumatra nach dem Materiel der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition III. Die Oekologischen Factorin und ihr Einfluss auf die Diatomeenflora." Arch. Hydrobiol. **16**: 274-394.
- INERIS (2008) RSDE Rapport sur les substances dangereuses pour le milieu aquatique dans les rejets industriels et urbains. N° - DRC-07-82615-13836C, 613pp
- Ivorra, N. (2000). Metal Induced succession in benthic diatom consortia. Department of Aquatic Ecology and Ecotoxicology. Amsterdam, Faculty of Science, University of Amsterdam: 164.
- Ivorra, N., S. Brehmer, et al. (2000). "Differences in the sensitivity of benthic microalgae to Zn and Cd regarding biofilm development and exposure history." Environ. Toxicol. Chem. **19**: 1332-1339.

- Ivorra, N., J. Hettelaar, et al. (1999). "Translocation of microbenthic algal assemblages used for in situ analysis of metal pollution in rivers." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **37**: 19-28.
- Jahn, R. (1990). "Untersuchungen zur benthischen Diatomeenflora und -vegetation der Spree and angrenzender Kanäle im innerstädtischen Gebiet von Berlin (West); Dissertation am Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin."
- Jenkins, A. (1999). "End of acid rain?" Nature **401**: 537-538.
- John, J. (1998). "Evaluation of attached diatoms as a tool for riverine bio-assessment of water quality. LWRRDC, 175."
- John, J. (2000). "Diatom prediction and classification system for urban streams." LWRRDC: 156.
- John, J. (2000). "A guide to diatoms as indicators of urban stream health." LWRRDC: 181.
- Johnson, R. E., N. C. Tuchman, et al. (1997). "Changes in the vertical microdistribution of diatoms within a developing periphyton mat." J. N. Am. Benthol. Soc. **16**: 503-519.
- Joux-Arab, L., B. Berthet, et al. (2000). "Do toxicity and accumulation of copper change during size reduction in the marine pennate diatom *Haslea ostrearia*?" Mar. Biol. **136**: 323-330.
- Juettner, I., J. Lintemann, et al. (1997). "The acidification of the Herrenwieser See, Black Forest, Germany, before and during industrialisation." Wat. Res. **31**(5): 1194-1206.
- Juhasz, A. L. and R. Naidu (2000). "Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene." Internat. Biodeterioration and Biodegradation **45**: 57-88.
- Karst-Riddoch, T. L., M. F. J. Pisaric, et al. (2005). "Postglacial record of diatom assemblage changes related to climate in an alpine lake in the northern Rocky Mountains, Canada." Can. J. Bot. **83**: 968-982.
- Karydis, M. (1982). "Toxicity of a photooxidised crude oil on two marine microalgae." Bot. Mar. **25**: 25-29.
- Kashima, K. (2003). "The quantitative reconstruction of salinity changes using diatom assemblages in inland saline lakes in the central part of Turkey during the late Quaternary." Quaternary International **105**: 13-19.
- Kawecka, B. (1986). "The effect of light deficiency on communities of sessile algae in the Olczyski stream (Tatra Mts, Poland)." Acta Hydrobiol. **28**: 379-386.
- Keithan, E. D., R. L. Lowe, et al. (1988). "Benthic diatom distribution in a Pennsylvania stream: role of pH and nutrients." J. Phycol. **24**: 581-585.
- Kelly, M. G. (1998). "Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers." Wat. Res. **36**: 236-242.
- Kelly, M. G., A. Cazaubon, et al. (1998). "Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe." J. Appl. Phycol. **10**: 215-224.
- Kelly, M. G. and B. A. Whitton (1995). "The Trophic Diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers." J. Appl. Phycol. **7**: 433-444.
- Kilham, S. S., E. C. Theriot, et al. (1996). "Linking planktonic diatoms and climate change in the large lakes of the Yellowstone ecosystem using resource theory." Limnol. Oceanogr. **41**: 1052-1062.

- Kinross, J. H., N. Christofi, et al. (1993). "Filamentous algal communities related to pH in streams in the Trossachs, Scotland." Freshw. Biol. **30**: 301-317.
- Kirso, U. and N. Irha (1998). "Role of algae in fate of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment." Ecotoxicol. Environ. Safety **41**: 83-89.
- Kirst, G. O. (1990). "Salinity tolerance of eukaryotic marine algae." Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **41**: 21-53.
- Klee, R. and R. Schmidt (1987). "Eutrophication of Mondsee (Upper Austria) as indicated by the diatom stratigraphy of a sediment core." Diatom Res. **2**: 55-76.
- Kling, H. J. (1993). "Asterionella formosa Ralfs: the process of rapid size reduction and its possible ecological significance." Diatom Res. **8**: 475-479.
- Kolbe, R. W. (1927). "Zur Oekologie, Morphologie und Systematik der Brackwasser-Diatomeen - Die Kieselalgen des Sperenberger Salzgebiets. In: Kolkwitz, R. (ed.), Pflanzenforschung 7, S. 1-146. Jena."
- Kong, F. X. and Y. Chen (1995). "Effect of aluminium and zinc on enzyme activities in the green alga *Selenastrum capricornutum*." Bull. Environm. Contam. Toxicol. **55**: 759-765.
- Korhola, A., J. Weckstroem, et al. (1999). "Predicting the long-term acidification trends in small subarctic lakes using diatoms." J. Appl. Ecol. **36**: 1021-1034.
- Koshmanesh, A., F. Lawson, et al. (1997). "Cell surface area as a major paramter in the uptake of cadmium by unicelular green microalgae." Chem. Eng. J. **65**: 13-19.
- Krammer, K. (2000). "Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Volume 1. The genus *Pinnularia*. Edited by Horst Lange-Bertalot, 703 p."
- Krammer, K. (2002). "Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats, Volume 3. *Cymbella*. Edited by Horst Lange-Bertalot, 584 p."
- Krammer, K. and H. Lange-Bertalot (1986). Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. 876 pages. In : Süßwasserflora von Mitteleuropa. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Eds : Ettl,H.; Gerloff,J.; Heynig,H; Mollenhauer,D.
- Krammer, K. and H. Lange-Bertalot (1986-1991). "Bacillariophyceae in Süßwasserflora von Mitteleuropa. T.1 Naviculaceae, Band 2/1, 876 p. (1986); T.2 Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae, Band 2/2, 596 p. (1988) ; T.3 Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae, Band 2/3, 600 p. (1991) ; T.4 Achnanthaceae. Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema, Band 2/4, 437 p. (1991). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart."
- Krell, A. (2006). Salt stress tolerance in the psychrophilic diaom *Fragilariopsis cylindrus*. Bremen, Universitaet Bremen: 120.
- Krell, A., D. Funck, et al. (2007). "Regulation of proline metabolism under salt stress in the sea ice diatom *Fragilariopsis cylindrus*." J. Phycol. **43**: 753-762.
- Krupa, Z. and T. Baszynski (1995). "Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions." Act. Physiol. Plant. **17**: 177–190.
- Kuiper, J. (1981). "Fate and effects of mercury in marine plankton communities in experimental enclosures." Ecotoxicol. Envir. Safety **5**: 106-134.

- Kuwabara, J. S. (1985). "Phosphorus-zinc interactive effects on growth by *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyta)." Environ. Sci. Technol. **19**: 417-421.
- Kwandrans, J. (1993). "Diatom communities of acidic mountain streams in Poland." Hydrobiologia **269/270**: 335-342.
- Lacaze, J. C., P. Gutierrez, et al. (1987). "Toxicité des extraits aromatiques hydrosolubles issus de deux pétroles et d'une coupe pétrolière. Effets sur l'activité photosynthétique de la diatomée marine *Phaeodactylum tricornutum* et sur l'ingestion de cette algue par le copépode *Trigriopus brevicornis*." Sci. l'Eau **6**: 415-433.
- Lage, O. M., H. M. V. M. Soares, et al. (1996). "Toxicity effects of copper (II) on the marine dinoflagellate *Amphidinium carterae*: Influence of metal speciation." European Journal of Phycology **31**(4): 341-348.
- Landner, L. and L. Lindstrom (1998). "Zinc in Society and in the Environment. An account of the facts on fluxes, amounts and effects of zinc in Sweden." Swedish Environmental Research Group, MFG, Fryksta, Sweden.
- Lane, T. W. and F. M. N. Morel (2000). "A biological function for cadmium in marine diatoms." Proc. Natl. Acad. Sci. USA **97**: 4627-4631.
- Lange-Bertalot, H. (1978). "Diatomeen-Differentialarten anstelle von Leitform: ein geeigneteres Kriterium der Gewässerbelastung." Arch. Hydrobiol. Suppl. **51**: 393-427.
- Lange-Bertalot, H. (1979). "Toleranzgrenzen und Populationsdynamik benthischer Diatomeen bei unterschiedlich starker Abwasserbelastung." Arch. Hydrobiol. Suppl. **56**: 184-219.
- Lange-Bertalot, H. (2001). "Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats, Volume 2. *Navicula sensu stricto*, 10 Genera Separated from *Navicula sensu stricto*, *Frustulia*. Edited by Horst Lange-Bertalot, 526 p."
- Larson, T. R. and T. A. V. Rees (1994). "Arrest of cell division but not protein synthesis in sodium-deficient cells of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin." Planta (Berl.) **195**: 195-200.
- Larson, T. T. and T. A. V. Rees (1996). "Changes in cell composition and lipid metabolism mediated by sodium and nitrogen availability in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae)." J. Phycol. **32**: 388-393.
- Law, R. J. and J. L. Biscaya (1994). "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)- Problems and progress in sampling, analysis and interpretation." Mar. Poll. Bull. **29**: 235-241.
- Leclercq, L. and B. Maquet (1987). "Deux nouveaux indices diatomique et de qualité chimique des eaux courantes; Comparaison avec différentes indices existants." Cah. Biol. Mar. **28**: 303-310.
- Lecointe, C., M. Coste, et al. (1993). "Omnidia: software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management." Hydrobiologia **269/270**: 509-513.
- Ledger, M. E. and A. G. Hildrew (1998). "Temporal and spatial variation in the epilithic biofilm of an acid stream." Freshw. Biol. **1998**(40).
- Lee, J. G., B. A. Ahner, et al. (1996). "Export of cadmium and phytochelatin by the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*." Environ. Sci. Technol. **30**(6): 1814-1821.



- Lehman, V., G. M. J. Tubbing, et al. (1999). "Induced metal tolerance in microbenthic communities from three lowland rivers with different metal loads." Archives of Environmental Contamination and Toxicology **36**(4): 384-391.
- Lei, A.-P., Z.-L. Hu, et al. (2007). "Removal of fluoranthene and pyrene by different microalgal species." Bioresource Technology **98**: 273-280.
- Leland, H. V. and H. L. Carter (1984). "Effects of copper on species composition of periphyton in a Sierra Nevada, California, stream." Freshw. Biol. **14**: 281-296.
- Lenoir, A. and M. Coste (1996). Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the Frenche national water board network. Use of algae for monitoring rivers II. B. A. Whitton and E. Rott. Institut fuer Botanik, Universitat Insbruck, E. Rott.: 29-43.
- Lewis, W. M. (1976). "Surface/volume ratio: implications for phytoplankton morphology." Science **192**: 885-887.
- Li W. K. W. (2002). Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean, Nature **419** : 154-157.
- Liees, M., C. Brown, et al. (2005). "Effects of pesticides in the field-EDIF. Bruessel: SETAC Press; 136 pp."
- Lindstrom, L., L. Norden, et al. (1988). "Zink in miljön. Report 3429. Swedish Environment Protection Agency, Solna, Sweden."
- Lock, M. A. and P. H. John (1979). "The effects of flow patterns on uptake of phosphorus by river periphyton." Limnol. Oceanogr. **24**: 376-383.
- Lock, M. A., R. Wallace, et al. (1984). "River epilithon: toward a structural-functional model." Oikos **42**: 10-22.
- Lock, M. A., R. R. Wallace, et al. (1984). "River epilithon: toward a structural-functional model." Oikos **42**: 10-22.
- Lotter, A. F., H. J. B. Birks, et al. (1997). "Modern diatom, cladocera, chironomid, and chrysophyte cyst assemblages as quantitative indicators for the reconstruction of past environmental conditions in the Alps. I. Climate." J. Paleolimnol. **18**: 395-420.
- Lynch, J. A., V. C. Bowersox, et al. (2000). "Acid rain reduced in eastern United States." Environ. Sci. Technol. **34**: 940-949.
- Madern, D., C. Ebel, et al. (2000). "Halophilic adaptation of enzymes." Extremophiles **4**: 91-98.
- Maeda, S. and T. Seakaguchi (1990). Accumulation and detoxification of toxic metal elements by algae. Introduction to Applied Phycology. Akatsuka. The Netherlands, SPB Academic Publishing: 109-136.
- Mallory, M. L., D. A. McNicol, et al. (1998). "Chemical trends and status of small lakes near Sudbury, Ontario, 1983-1995: evidence of continued chemical recovery." Can J. Fish. Sci. **55**: 63-75.
- Mann, D. G. and S. J. M. Droop (1996). "Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms." Hydrobiologia **336**: 19-32.
- Martin-Jézéquel, V., M. Hildebrand, et al. (2000). "Silicon metabolism in diatoms: implications for growth." J. Phycol. **36**: 821-840.

- Marwood, C. A., R. E. H. Smith, et al. (1999). "Intact and photomodified polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit photosynthesis in natural assemblages of lake Erie phytoplankton exposed to solar radiation." Ecotoxicol. Environ. Safety **44**: 322-327.
- Mason, A. Z. and K. D. Jenkins (1995). "Metal detoxification in aquatic organisms." In: Tessier A. and Turner D.R. (eds), Metal speciation and bioavailability. John Wiley Sons, New York, pp. 479-608.
- Mason, R. P., J. R. Reinfelder, et al. (1995). "Uptake, toxicity and trophic transfer of mercury in a coastal diatom." Environ. Sci. Technol. **30**: 1835-1845.
- Maury-Brachet, R., F. Ribeyre, et al. (1990). "Actions and interactions of temperature and photoperiod on mercury accumulation by *Elodea densa* from sediment source." Ecotoxicol. Environ. Safety **10**: 141-155.
- McFarland, B. H., B. H. Hill, et al. (1997). "Abnormal *Fragilaria* spp. (Bacillariophyceae) in streams impacted by mine drainage." J. Freshw. Ecol. **12**: 141-149.
- Meador, J. P. (1991). "The interaction of pH, organic carbon and total copper in the determination of ionic copper and toxicity." Aq. Toxicol. **19**: 13-32.
- Medley, C. N. and W. H. Clements (1998). "Responses of diatom communities to heavy metals in streams: The influence of longitudinal variation." Ecol. Appl. **8**: 631-644.
- Meharg, A. A. (1994). "Integrated tolerance mechanisms - Constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environment." Plant Cell and Environment **17**(9): 989-993.
- Melillo, J. M., A. D. McGuire, et al. (1993). "Global climate change and terrestrial net primary production." Nature **363**: 234-240.
- Merilainen, J. (1967). "The diatom flora and the hydrogen-ion concentration of the water." Ann. Bot. Fenn. **4**: 51-58.
- Mersh-Sundermann, V., S. Mochayed, et al. (1992). "Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Escherichia coli* PQ37." Mutation Research **278**: 1-9.
- Miller, R. M., G. M. Singer, et al. (1998). "Photolysis primes biodegradation of benzo(a)pyrene." Appl. Environ. Microbiol. **58**(5): 1724-1730.
- Mittler, R. (2002). "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance." Trends in Plant Science **7**: 405-410.
- Mizuno, M. (1991). "Influence of cell volume on the growth and size reduction of marine and estuarine diatoms." J. Phycol. **27**: 473-478.
- Mohleji, S. C. and F. H. Verhoff (1980). "Sodium and potassium ions effects on phosphorus transport in algal cells." J. Wat. Poll. Cont. Fed. **52**(1): 110-125.
- Morin, S. (2006). Bioindication des effets des pollutions métalliques sur les communautés de diatomées benthiques. Université Bordeaux I. Bordeaux: 298.
- Morin, S. and M. Coste (2006). Metal-induced shifts in the morphology of diatoms from the Riou-Mort and Riou-Viou streams (South West France). Use of algae for monitoring rivers VI. E. Acs, K. T. Kiss, J. Padisak and K. E. Szabo. Goed, Hungary, Hungarian Algological society: 97-106.

- Morin, S., T. T. Duong, et al. (2008). "Cadmium toxicity and bioaccumulation in freshwater biofilms." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **54**: 173-186.
- Mueller, U. (1999). "The vertical zonation of adressed diatoms and other epiphytic algae on *Phragmites australis*." Eur. J. Phycol. **34**: 487-496.
- Mulholland, P. J., J. W. Elwood, et al. (1986). "Effect of stream acidification on periphyton composition, chlorophyll, and productivity." Can J. Fish. Sci. **43**: 1846-1858.
- Nalewajko, C. and M. M. Olaveson (1994). "Differential responses of growth, photosynthesis, respiration, and phosphate uptake to copper in copper-tolerant and copper-intolerant strains of *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae)." Can. J. Botany **73**: 1295-1303.
- Nassiri, Y., J. L. Mansot, et al. (1997). "Ultrastructural and electron energy loss spectroscopy studies of sequestration mechanisms of Cd and Cu in the marine diatom *Skeletonema costatum*." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **33**(2): 147-155.
- Navarro, E., H. Guasch, et al. (2002). "Use of microbenthic algal communities in ecotoxicological tests for the assessment of water quality: the Ter river case study." J. Appl. Phycol. **14**: 41-48.
- Nayar, S., B. P. L. Goh, et al. (2005). "Environmental impacts of diesel fuel on bacteria and phytoplankton in a tropical estuary assessed using in situ mesocosms." Ecotoxicol. **14**: 397-412.
- Neff, J. M. (1979). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment." Applied Science Publishers, London: 262.
- Nikolaou, K., P. Masplet, et al. (1984). "Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the atmosphere- A critical review." Sci. Total Environ. **32**: 103-132.
- Nipkov, F. (1927). "Ueber das Verhalten der Skelette planktischer Kieselalgen im geschichteten Tiefenschlamm der Zuerich- und Baldeggersees. Neue Beitrage zur Biologie der Planktondiatomeen und zur Biomorphose der subalpinen Seen. Dissertation ETH Zuerich. Nr. 455, 50 pp."
- Niyogi, D.K., Lewis, W.M. et McKnight, D.M. 2002. Effects of stress from mine drainage on diversity, biomass, and function of primary producers in mountain streams. Ecosystems 5(6): 554-567
- Njulund, L., P. Heikkila, et al. (1992). "Genotoxic effects and chemical composition of four creosotes." Mutation Research **265**: 223-236.
- Norton, T. A., M. Melkonian, et al. (1996). "Algal biodiversity." Phycologia **35**: 353-365.
- Nriagu, J. O. and J. M. Pacyna (1988). "Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals." Nature **333**: 134-139.
- Nunes, M. L., E. F. Da Silva, et al. (2003). "Assessment of water quality in the Caima and Mau River basins (Portugal) using geochemical and biological indices." Water Air Soil Pollut. **149**: 227-250.
- Nygaard, G. (1956). "Ancient and recent flora of diatoms and chrysophyceae in Lake Gribso. Studies on the humic acid Lake Gribso." Fol. Limnol. Scand. **8**: 32-94.
- O'Brien, P. J. (1991). "Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity." Chem. Biol. Interactions **80**: 1-41.

- Okamoto, O. K., C. S. Asana, et al. (1996). "Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilis* (Prasinophyceae)." J. Phycol. **32**: 74-79.
- Oskinis, V. and T. Kasperovicius (2005). "Impact of road maintenance salts on water ecosystems according to diatom flora investigation." J. Environ. Engineering and Landscape Management **XIII**(1): 51-55.
- Palmer, C. M. (1969). "A composite rating of algae tolerating organic pollution." J. Phycol. **5**: 78-82.
- Pankow, H. (1990). "Ostsee-Algenflora. Jena."
- Passy, S. I. (2006). "Diatom community dynamics in streams of chronic and episodic acidification: the roles of environment and time." J. Phycol. **42**: 312-323.
- Passy, S. I. (2007). "Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters." Aquatic Botany **86**(2): 171-178.
- Passy, S. I. (2007). "Differential cell size optimization strategies produce distinct diatom richness-body size relationships in stream benthos and plankton." Journal of Ecology **95**(4): 745-754.
- Patrick, R. (1971). "The effects of increasing light and temperature on the structure of diatom communities." Limnol. Oceanogr. **16**: 405-421.
- Paulsson, M., B. Nystrom, et al. (2000). "Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Gota Alv, based on a microcosm study." Aquat. Toxicol. **47**: 243-257.
- Pelte, T. (1995). Effects de l'atrazine sur les peuplements phytosanitaires du lac Léman. Mémoire de fin d'études. ENESAD INRA. Thonon: 51.
- Peres, F. (1996). Etude des effets de quatre contaminants- herbicide (isoproturon), dérivés du mercure (mercure inorganique, méthylmercure), cadmium- sur les communautés de diatomées periphytique au sein de microcosmes d'eau douce. Toulouse, Université Paul Sabatier de Toulouse: 176pp.
- Peres, F., M. Coste, et al. (1997). "Effects of methylmercury and inorganic mercury on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosms." J. Appl. Phycol. **9**: 215-227.
- Peres, F., D. Florin, et al. (1996). "Effects of the phenylurea herbicide isoproturon on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosm." Envir. Pollut. **94**(2): 141-152.
- Perrein-Ettajani, H., J. C. Amiard, et al. (1999). "Effects of metals (Ag, Cd, Cu) on the biochemical composition and compartmentalization of these metals in two microalgae *Skeletonema costatum* and *Tetraselmis suecica*." Can. J. Fish. Aquat. Sci. **56**: 1757-1765.
- Peterson, C. G. (1996). "Mechanisms of lotic microalgal colonization following space-clearing disturbances acting at different spatial scales." Oikos **77**(3): 417-435.
- Pfeifer, R. F. and W. F. McDuffett (1975). "Some factors affecting primary productivity of stream riffle communities." Arch. Hydrobiol. Suppl. **75**: 306-317.
- Picket-Heaps, J., A.-M. M. Schmid, et al. (1990). The cell biology of diatom valve formation. Progress in phycological research, Biopress Ltd. **7**.
- Pienitz, R., J. P. Smol, et al. (1995). "Assessment of freshwater diatoms as quantitative indicators of past climatic change in the Yukon and Northwest Territories, Canada." J. Paleolimnol. **13**: 21-49.

- Pierre, J.-F. (2005). "Formation saumâtres et salées de la vallée de la Meurthe. I. Influence des rejets industriels." Bulletin de l'Académie Lorraine des Sciences **44**(1-4).
- Pinto, E., T. C. S. Sigaud-Kutner, et al. (2003). "Heavy metal-induced oxidative stress in algae." J. Phycol. **39**: 1008-1018.
- Pirszel, J., B. Pawlik, et al. (1995). "Cation-exchange capacity of algae and cyanobacteria: a parameter of their metal sorption abilities." J. Ind. Microbiol. **14**: 319-322.
- Pistocchi, R., F. Guerrini, et al. (1997). "Copper toxicity and carbohydrate production in the microalgae *Cylindrotheca fusiformis* and *Gymnodinium* sp." Europ. J. Phycol. **32**(2): 125-132.
- Plette, A. C. C., M. M. Nederlof, et al. (1999). "Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach." Environ. Toxicol. Chem. **18**: 1882-1890.
- Poff, N. L. and N. K. Baker (1997). "Habitat heterogeneity and algal-grazers interactions in streams: explorations with a spatially explicit model." J.N. Am. benthol. Soc. **16**: 263-276.
- Potapova, M. and P. Snoeijs (1997). "The natural life cycle in wild populations of *Diatoma moniliformis* (Bacillariophyceae) and its disruption in an aberrant environment." J. Phycol. **33**: 924-937.
- Poulin, M. and D. M. Williams (1998). "Conservation of diatom biodiversity: A perspective. 15th Int. Diatom Symp. Perth, Austr. (Abstract)."
- Poulsen, N. and N. Kroeger (2004). "Silica morphogenesis by alternative processing of silaffins in the diatom *Thalassiosira pseudonana*." J. Biol. Chem. **279**: 42993-42999.
- Prygiel, J. and M. Coste (2000). "Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées. NF T 90-354." Etude Agences de l'Eau-Cemagref Bordeaux, March 2000, Agences de l'Eau: 134.
- Rai, L. C., J. P. Gaur, et al. (1981). "Phycology and heavy-metal pollution." Biol. Rev. **56**: 99-151.
- Rai, L. C., J. P. Gaur, et al. (1981). "Protective effects of certain environmental factors on the toxicity of zinc, mercury and methylmercury to *Chlorella vulgaris*." Environ. Res. **25**: 250-259.
- Rai, L. C. and H. D. Kumar (1980). "Effect of certain environmental factors on the toxicity of zinc to *Chlorella vulgaris*." Microbios. Lett. **13**: 79-84.
- Rana, B. C. and H. D. Kumar (1974). "The toxicity of zinc to *Chlorella vulgaris* and *Plectonema boryanum* and its protection by phosphate." Phykos **13**: 60-66.
- Raven, J. A., M. C. W. Evans, et al. (1999). "The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O<sub>2</sub>-evolving organisms." Photosynth. Res. **60**: 111-149.
- Raven, J. A. and R. J. Geider (1988). "Temperature and algal growth." New Phytol. **110**: 441-461.
- Reddy, A. R., K. V. Chaitanya, et al. (2004). "Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants." J. Plant Physiol. **161**: 1189-1202.
- Rees, T. A. V., R. C. Cresswell, et al. (1980). "Sodium-dependent uptake of nitrate and urea by a marine diatom." Biochem. Biophys. Acta **596**: 141-144.
- Renberg, I. and T. Helberg (1982). "The pH history of lakes in southwestern Sweden, as calculated from the sub-fossil diatom flora of the sediments." Ambio **11**: 30-33.
- Revsbech, N. P., L. P. Nielsen, et al. (1998). "Combined oxygen and nitrous oxide microsensors for denitrification studies." Appl. Environ. Microbiol. **54**(9): 2245-2249.

- Riber, H. H. and R. G. Wetzel (1987). "Boundary layer and internal diffusion effects on phosphorus fluxes in lake periphyton." Limnol. Oceanogr. **32**: 1181-1194.
- Ribeyre, F. and A. Boudou (1989). Trophic chains and experimental ecosystems: study of bioaccumulation and transfer processes. Aquatic Ecotoxicology: Fundamental Concepts and Methodologies. F. Ribeyre and A. Boudou. Boca-Raton, CRC Press: 3–46.
- Rijstenbil, J. W. and L. J. A. Gerringa (2002). "Interactions of algal ligands, metal complexation and availability, and cell responses of the diatom *Ditylum brightwellii* with a gradual increase in copper." Aq. Toxicol. **56**(2): 115-131.
- Rimet, F., L. Ector, et al. (2004). "Impacts of fluoranthene on diatom assemblages and frustule morphology in indoor microcosms." Vie Milieu **54**(2-3): 145-156.
- Rimet, F., D. Heudre, et al. (2007). "Qualité de l'eau des rivières du bassin houiller en 2006, évaluée au moyen des diatomées : estimation de la pollution organique, trophique, minérale et toxique." Diren Lorraine, 57 pp."
- Rodriguez, R. and R. Redman (2005). "Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **102**: 3175-3176.
- Roemer, S. C., K. D. Hoagland, et al. (1984). "Development of a freshwater periphyton community as influenced by diatom mucilages." Can. J. Bot. **62**: 1799-1813.
- Rosemond, A. D., P. J. Mulholland, et al. (2000). "Seasonally shifting limitation of stream periphyton: response of algal populations and assemblage biomass and productivity to variation in light, nutrients and herbivores." Can J. Fish. Aq. Sci. **57**: 66-75.
- Rosen, B. P. (1996). "Bacterial resistance to heavy metals and metalloids." J. Biol. Inorg. Chem. **1**(4): 273-277.
- Rott, E. (1991). Methodological aspects and perspectives in the use of periphyton for monitoring and protecting rivers. Use of algae for monitoring rivers. B. A. Whitton, E. Rott and G. Friedrich, Institut fuer Botanik, Universitaet Innsbruck: 9-16.
- Rott, E., G. Hofmann, et al. (1997). "Indikationslisten fuer Aufwuchsalgen in oesterreichischen Fließgewässern. Teil 1: Saprobienne Indikation (Indicator species lists for periphyton in Austrian rivers. Part 1: Saprobic indication), Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium f. Land- und Forstwirtschaft, Wien, 73 pp."
- Rott, E., E. Pipp, et al. (2003). "Diatom methods developed for river quality assessment in Austria and a cross-check against numerical trophic indication methods used in Europe." Algological Studies(91-115).
- Rott, E., E. Pipp, et al. (1999). "Indikationslisten fuer Aufwuchsalgen in oesterreichischen Fließgewässern. Teil 2 : Trophie Indikation (sowie geochemische Praeferenzen, taxonomische und toxikologische Anmerkungen). (Indicator species lists for periphyton from Austrian rivers. Part 2: Trophic indication with additional references to geochemical reaction, taxonomy and ecotoxicology), Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium f. Land- und Forstwirtschaft, Wien, 248 pp."
- Round, F. E. (1981). The Ecology of Algae. Cambridge, Cambridge University Press.

- Round, F. E. (1991). Use of diatoms for monitoring rivers. Use of algae for monitoring rivers. B. A. Whitton, E. Rott and G. Friedrich. Duesseldorf: 25-32.
- Round, F. E. and L. Bukhtiyarova (1996). "Epipsammic diatoms- communities of British rivers." Diatom Res. **11**: 363-372.
- Round, F. E., R. M. Crowford, et al. (1990). "The Diatoms: biology and morphology of the genera." Cambridge Univ. Press.: 747.
- Roux, M., S. Servant-Vildary, et al. (1991). "Inferred ionic composition and salinity of a Bolivian Quaternary lake, as estimated from fossil diatoms in the sediments." Hydrobiologia **210**: 3-18.
- Ruggiu, D., A. Luglié, et al. (1998). "Paleoecological evidence for diatom response to metal pollution in Lake Orta (N. Italy)." J. Paleolimnol. **20**: 333-345.
- Sabater, S. (2000). "Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guadiamar river, S-W Spain, following a major mine tailings spill." Journal of Applied Phycology **12**: 113-124.
- Sabater, S., E. Navarro, et al. (2002). "Effects of copper on algal communities at different current velocities." Journal of Applied Phycology **14**: 391-398.
- Sakamoto, T. and N. Murata (2002). "Regulation of the desaturation of fatty acids and its role in tolerance to cold and salt stress." Current Opinion in Microbiology **5**: 206-210.
- Sargian, P., B. Mostajir, et al. (2005). "Non-synergistic effects of water-soluble crude oil and enhanced ultraviolet-B radiation on a natural plankton assemblage." Mar. Ecol. Prog. Ser. **294**: 63-77.
- Saros, J. E. and S. C. Fritz (2000). "Nutrients as a link between ionic concentration/composition and diatom distributions in saline lakes." J. Paleolimnol. **23**: 449-453.
- Say, P. J. and B. A. Whitton (1980). "Changes in flora down a stream showing a zinc gradient." Hydrobiologia **76**: 255-262.
- Scarano, G. and E. Morelli (2002). "Characterization of cadmium- and lead- phytochelatin complexes formed in a marine microalga in response to metal exposure." Biometals **15**(2): 145-151.
- Scharf, W. (1984). "Kieselalgen als Indikatoren fuer die Beurteilung der Ablaufqualitaet von Klaeranlagen." Forum Staedte-Hygiene **35**: 268-273.
- Schiefele, S. and F. Kohmann (1993). "Bioindikatoren der Trophie in Fließgewässern. Umweltforschungsplan des Bundesministers fuer Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Wasserwirtschaft." Forschungsbericht N4. 10201504.
- Schiefele, S. and C. Schreiner (1991). "Use of diatoms for monitoring nutrient enrichment, acidification and impact of salt rivers in Germany and Austria. Teoksessa: Whitton, B.A., Rott, E. & Friedrich, G. (toim.): Use of algae for monitoring rivers. Institut für Botanik, Unoversität Innsbruck, Innsbruck, 25-32."
- Schmidt, R., C. Kamenik, et al. (2004). "Tracking Holocene environmental changes in an alpine lake sediment core: application of regional diatom calibration, geochemistry, and pollen." J. Paelolimnol. **27**: 177-196.
- Schreiner, C. (1990). "Entwicklung eines Indikationssystems der Versauerung mit Hilfe van Diatomeen. Abschlussbericht zum Entwicklungsvorhaben "Monitoringprogramm fur versauerte Gewasser durch Luftschadstoffe in der Bundesrepublik Deutschland im Rahmen der ECE". Bayer.Landesamt fur Wasserwirtschaft, Lazarettstr. 67, D-80636 Munchen."

- Schreiner, C. (2009). "Entwicklung eines Indikationssystems der Versauerung mit Hilfe von Diatomeen. Abschlussbericht zum Entwicklungsvorhaben "Monitoringprogramm für versauerte Gewässer durch Luftschadstoffe in der Bundesrepublik Deutschland im Rahmen der ECE". Bayer.Landesamt für Wasserwirtschaft, Lazarettstr. 67, D-80636 München."
- Scruton, D. A., J. K. Elner, et al. (1990). "Fossil diatom inferred reconstruction of the pH history of two acidic, clear water lakes from insular Newfoundland, Canada." Hydrobiologia **214**: 259-266.
- Servant-Vildary, S. and M. Roux (1990). "Multivariate analysis of diatoms and water chemistry in Bolivian saline lakes." Hydrobiologia **197**: 267-290.
- Shannon, C. E. and W. Weaver (1949). "The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana."
- Sheoran, I. S., H. R. Singhal, et al. (1990). "Effect of Cd and Ni on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea." Photosynth. Res. **23**: 345-351.
- Sienkiewics, E., M. Gasiorowski, et al. (2006). "Is acid rain impacting the Sudetic lake?" Science of the Total Environment **369**: 139-149.
- Simkiss, K. and M. G. Taylor (1989). "Metal fluxes across the membranes of aquatic organisms." Aquat. Sci. **1**(1): 173-188.
- Sims, R. C. and M. R. Overcash (1983). "Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems." Residue Reviews **88**: 1-68.
- Singh, S. C., R. Sinha, et al. (2002). "Role of lipids and fatty acids in stress tolerance in cyanobacteria." Acta Protozoologica **41**: 297-308.
- Siripornadulsil, S., S. Traina, et al. (2002). "Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae." Plant Cell **14**: 2837-2847.
- Sladeczek, V. (1986). "Diatom as indicators of organic pollution." Acta Hydrochim. Hydrobiol. **14**: 555-566.
- Smol, J. P., B. F. Cumming, et al. (1998). "Tracking recovery patterns in acidified lakes: a paleolimnological perspective." Restor. Ecol. **6**: 318-326.
- Snoeijs, P., S. Busse, et al. (2002). "The importance of diatom cell size in community analysis." J. Phycol. **38**: 265-272.
- Soldo, D. and R. Behra (2000). "Long-term effects of copper on the structure of freshwater periphyton communities and their tolerance to copper, zinc, nickel and silver." Aquatic Toxicology **47**: 181-189.
- Sorentino, C. (1979). "The effects of heavy metals on phytoplankton- A review." Phykos **18**(1-2): 149-161.
- Steemann Nielsen, E. and S. Wium-Andersen (1971). "The influence of Cu on photosynthesis and growth in diatoms." Physiol. Plant. **24**: 480-484.
- Steinberg, C. and S. Schiefele (1988). "Biological indication of trophy and pollution of running waters." Zeitschrift fuer Wasser und Abwasser Forschung **21**: 227-234.
- Stevenson, R. J. (1996). "An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. In: Stevenson R.J., Bothwell M.L. and Lowe R.L. (eds), Algal Ecology. Academic Press, San Diego, pp. 3-30."



- Stevenson, R. J. and L. L. Bahls (1999). "Periphyton protocols. In: Barbour, M.T., Gerritsen, J., Snyder, B.D., Stribling J.B. (eds): Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates, and fish, 2nd ed.. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington D.C."
- Stevenson, R. J. and R. Glover (1993). "Effects of algal density and current on ion transport through periphyton communities." Limnol. Oceanogr. **38**: 1276-1281.
- Stevenson, R. J. and Y. Pan (1999). "Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. In: Stoermer E.F. and Smol J.P. (eds). The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences. Cambridge University Press, Cambridge. 11-40."
- Stevenson, R. J., C. G. Peterson, et al. (1991). "Density-dependent growth, ecological strategies, and effects of nutrients and shading on benthic diatom succession in streams." J. Phycol. **27**: 59-69.
- Strecker, S. (1997). "Vergleichende Untersuchungen der Auswirkungen unterschiedlicher Salzgehalte und Ionenspektren auf die Lebensgemeinschaften versalzter Oberflächengewässer in Ostthessen. Umweltplanung, Arbeits- und Umweltschutz 243. Wiesbaden."
- Stucklik, E., P. Appleby, et al. (2002). "Reconstruction of long-term changes in lake water chemistry, zooplankton and benthos of a small acidified high-mountain lake: magic modelling and paleolimnological analysis." Water Air Soil Pollut. **2**: 127-138.
- Sullivan, C. W. (1976). "Diatom mineralization of silicic acid. I.  $\text{Si}(\text{OH})_4$  transport characteristics in *Navicula pelliculosa*." J. Phycol. **12**: 390-396.
- Sunda, W. G. (1988/89). "Trace metal interactions with marine phytoplankton." Biol. Oceanogr. **6**(5-6): 411-442.
- Sylvestre, F., S. Servant-Vildary, et al. (2001). "Diatom-based ionic concentration and salinity models from the south Bolivian Altiplano (15-23°S)." J. Paleolimnol. **25**: 279-295.
- Takamura, N., S. Hatakeyama, et al. (1990). "Seasonal changes in species composition and production of periphyton in an urban river running through an abandoned copper mining region." Jpn. J. Limnol. **51**: 225-235.
- Takamura, N., F. Kasai, et al. (1989). "Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae." J. Appl. Phycol. **1**: 39-52.
- Tang, J. X., K. D. Hoagland, et al. (1998). "Uptake and bioconcentration of atrazine by selected freshwater algae." Environ. Toxicol. Chem. **17**: 1085-1090.
- Tang, L., J. X. Tang, et al. (2005). "Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban soils in Beijing, China." Environ. Int. **31**: 822-828.
- Teissier, S. and M. Torre (2002). "Simultaneous assessment of nitrification and denitrification on freshwater epilithic biofilms by acetylene block method." Wat. Res. **36**(15): 3803-3811.
- ter Braak, C. J. F. and S. Juggins (1993). "Weighted averaging partial least squares regression (WA-PLS): an improved method for reconstructing environmental variables from species assemblages." Hydrobiologia **269/270**: 485-502.
- ter Braak, C. J. F., S. Juggins, et al. (1993). "Weighted averaging partial least squares regression (WAPLS): Definition and comparison with other methods for species-environment calibration.

- In Patil G. P. & C. R. Rao (eds), *Multivariate Environmental Statistics*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam: 525–560."
- ter Braak, C. J. F. and H. van Dam (1989). "Interfering pH from diatoms: a comparison of old and new calibration methods." *Hydrobiologia* **178**: 209-223.
- Thomas, W. H., J. T. Hollibaugh, et al. (1980). "Effects of heavy metals on the morphology of some marine phytoplankton." *Phycologia* **19**(3): 202-209.
- Thomsen, L., J. Olsen, et al. (2002). "ClpP is involved in the stress response and degradation of misfolded proteins in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium." *Microbiology* **148**: 2727-2733.
- Tien, C. J., D. C. Sigee, et al. (2005). "Copper adsorption kinetics of cultured algal cells and freshwater phytoplankton with emphasis on cell surface characteristics." *J. Appl. Phycol.* **17**(5): 379-389.
- Tonon, T., R. Quing, et al. (2005). "Identification of a long-chain polyunsaturated fatty acid acyl-coenzyme A synthetase from the diatom *Thalassiosira pseudonana*." *Plant Physiol.* **138**: 402-408.
- Torres, E., A. Cid, et al. (2000). "Effect of cadmium on growth, ATP content, carbon fixation and ultrastructure in the marine diatom *Phaedactylum tricornutum* Bohlin." *Water Air Soil Pollut.* **117**: 1-14.
- Townsend, C. R. (1989). "The patch dynamics concept of stream community ecology." *J. North. American Benthol. Soc.* **8**: 36-50.
- Tripuranthakam, S., C. L. Duxbury, et al. (1999). Development of a mitochondrial respiratory electron transport bioindicator for assessment of aromatic hydrocarbon toxicity. *Environmental Toxicology and Risk Assessment, Vol. 8, ASTM STP 1364 (D. Henshel, Ed.)*. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA.
- Twiss, M. R. and C. Nalewajko (1992). "Influence of phosphorus nutrition on copper toxicity to three strains of *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae)." *J. Phycol.* **28**: 291-298.
- Usseglio-Polatera, P., J. G. Wasson, et al. (2007). "Appui scientifique à la Mise en œuvre de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau - Protocole de prélèvement et traitement des échantillons des Invertébrés sur le réseau de contrôle de surveillance." *Rapport, Université de Metz & Cemagref Lyon BEA/LHQ*. 32 p + annexes.
- van Dam, D. H. and A. Mertens (1995). "Long-term changes of diatoms and chemistry in headwater streams polluted by atmospheric deposition of sulphur and nitrogen compounds." *Freshw. Biol.* **34**: 579-600.
- van Dam, D. H., G. Suurmond, et al. (1981). "Impact of acidification on diatoms and chemistry of Dutch moorland pools." *Hydrobiologia* **83**: 425-459.
- van Dam, H. and A. Mertens (1990). "A comparison of recent epilithic diatom assemblages from the industrially acidified and copper polluted lake Orta (Northern Italy) with old literature data." *Diat. Res.* **5**: 1-13.

- van Dam, H., A. Mertens, et al. (1994). "A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands." Netherlands Journal of Aquatic Ecology **28**(1): 117-133.
- Vasconcelos, M. T. S. D. and M. F. C. Leal (2001). "Adsorption and uptake of Cu by *Emiliana huxleyi* in natural seawater." Environmental Science and Technology **35**(3): 508-515.
- Visviki, I. and J. W. Rachlin (1994). "Acute and chronic exposure of *Dunaliella salina* and *Chlamydomonas bullosa* to copper and cadmium: Effects on growth." Arch. Environ. Contam. Toxicol. **26**(2): 149-154.
- Voyer, R. A. and J. F. Heltshe (1984). "Factor interactions and aquatic toxicity testing." Wat. Res. **18**: 441-447.
- Vrieling, E. G., Q. Sun, et al. (2007). "Salinity-dependent diatom biosilicification implies an important role of external ionic strength." PNAS **104**(25): 10441-10446.
- Wakeham, S. G., C. Schaffner, et al. (1980). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments - I. Compounds having anthropogenic origins." Geochim. Cosmochim. Acta **44**: 403-413.
- Wakeham, S. G., C. Schaffner, et al. (1980). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments - II. Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis." Geochim. Cosmochim. Acta **44**: 415-429.
- Wang, L., B. Zheng, et al. (2008). "Photo-induced toxicity of four polycyclic aromatic hydrocarbons, singly and in combination, to the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*." Ecotoxicol. Environ. Safety.
- Wang, W.-X. and R. C. H. Dei (2001). "Effects of major nutrient additions on metal uptake in phytoplankton." Envir. Pollut. **111**: 233-240.
- Wang, W.-X. and R. C. H. Dei (2001). "Metal uptake in a coastal diatom influenced by major nutrients (N, P, Si)." Water Res. **35**(1): 315-321.
- Warshawsky, D., T. Cody, et al. (1995). "Biotransformation of benzo[a]pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic analogs by several green algae and other algal species under gold and white light." Chemico-Biological Interactions **97**: 131-148.
- Watanabe, K. (1988). "Sub-ice microalgal strands in the Antarctic coastal fast ice area near Syowa Station." Jpn. J. Phycol. **36**: 221-229.
- Watanabe, K., H. Satoh, et al. (1990). Seasonal variation in ice algal assemblages in the fast ice near Syowa Station in 1983/84. Antarctic Ecosystems, Ecological Change and Conservation. K. R. Kerry and G. Hempel. Heidelberg, Springer: 136-142.
- Watanabe, T., K. Asai, et al. (1985). "Epilithic diatom assemblage to organic water pollution (DAIpo) and its ecological significance// Annual Report of Graduate Division of Human Culture, Doctoral Degree Program, Nara Women's University." **1**: 76-94.
- Watanabe, T., K. Asai, et al. (1986). "Numerical estimation to organic pollution of flowing water by using the epilithic diatom assemblage - Diatom Assemblage Index (DAIpo). The Science of the Total Environment." **55**: 209-218.

- Weckstroem, J., A. Korhola, et al. (1997). "The relationship between diatoms and water temperature in 30 subarctic Fennoscandian lakes." Arc. Alp. Res. **29**: 75-92.
- Weckstroem, J., J. A. Snyder, et al. (2003). "Diatom inferred acidity history of 32 lakes on the Kola peninsula, Russia." Water Air Soil Pollut. **149**: 339-361.
- Weckstrom, J., A. Korhola, et al. (1997). "Diatoms as quantitative indicators of pH and water temperature in subarctic Fennoscandian lakes." Hydrobiologia **347**: 171-184.
- Werner, D. e. (1977). "The Biology of Diatoms. Botanical Monographs. Vol. 13. Univ. of California Press. 498 pp."
- Whitford, L. A. and G. J. Schumacher (1961). "Effects of current on mineral uptake and respiration by a fresh-water alga." Limnol. Oceanogr. **6**: 423-425.
- Whitton, B. A., E. Rott, et al. (1991). "Use of algae for monitoring rivers. Studia Student. G.m.b.H."
- Whitton, B. A., P. J. Say, et al. (1982). "Accumulation of zinc, cadmium and lead by the aquatic liverwort *Scapania*." Environ. Poll. Ser. B **3**: 299-316.
- Wickfors, G. H. and R. Ukeles (1982). "Growth and adaptation of estuarine unicellular algae in media with excess copper, cadmium or zinc." Mar. Ecol. Prog. Ser. **7**: 191-206.
- Wiegman, S., J. A. G. Termeer, et al. (2002). "UV absorbance dependent toxicity of acridine to the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*." Environ. Sci. Technol. **36**: 908-913.
- Wiegman, S., P. L. A. Van Vlaardingen, et al. (1999). "Photokinetics of Azaarenes and toxicity of phototransformation products to the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*." Environ. Sci. Technol. **33**: 4256-4262.
- Wigington, P. J., D. R. DeWalle, et al. (1996). "Episodic acidification of small streams in the northeastern United States: ionic controls of episodes." Ecol. Appl. **6**: 389-407.
- Williams, H. T., J. T. Hollibaugh, et al. (1980). "Effects of heavy metals on the morphology of some marine phytoplankton." Phycologia **19**(3): 202-209.
- Williams, W. D. (1987). "Salinization of rivers and streams: An important environmental hazard." Ambio **16**: 180-185.
- Wilson, S. E., B. F. Cumming, et al. (1994). "Diatom-salinity relationships in 111 lakes from the Interior Plateau of British Columbia, Canada: the development of diatom-based models for paleosalinity reconstructions." J. Paleolimnol. **12**: 197-221.
- Winner, R. W. and H. A. Owen (1991). "Toxicity of copper to *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) and to *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea) in relation to changes in water chemistry of a freshwater pond." Aq. Toxicol. **21**: 157-170.
- Winterbourn, M. J., A. G. Hildrew, et al. (1992). "Nutrients, alga and grazers in some British streams of contrasting pH." Freshw. Biol. **28**: 173-182.
- Witt, G. (2002). "Occurrence and transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water bodies of the Baltic Sea." Marine Chemistry **79**: 49-66.
- Wong, P. T. S., Y. K. Chau, et al. (1987). "Toxicity of a mixture of metals on freshwater algae." J. Fish. Res. Bd. Can. **35**: 479-481.

- Woolhouse, H. W. (1983). Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. In: Physiological Plant Ecology III. Responses to the chemical and biological environment. Heidelberg, Springer Verlag.
- Wunsam, S., R. Schmidt, et al. (1995). "Cyclotella-taxa (Bacillariophyceae) in lakes of the Alpine region and their relationship to environmental variables." Aquat. Sci. **57**: 360-386.
- Xiong, L. and J. K. Zhu (2002). "Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress." Plant, Cell and Environment **25**: 131-139.
- Yang, J. R. and H. C. Duthie (1993). "Morphology and ultrastructure of teratological forms of the diatoms *Stephanodiscus niagarae* and *S. parvus* (Bacillariophyceae) from Hamilton Harbor (Lake-Ontario, Canada)." Hydrobiologia **269**: 57-66.
- Zelinka, M. and P. Marvan (1961). "Zur Prazisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fliessender Gewaesser." Arch. Hydrobiol. **57**: 389-407.
- Zhao, J. and J. J. Brand (1988). "Sequential effects of sodium depletion on photosystem II in *Synechocystis*." Arch. Biochem. Biophys. **264**: 657-664.
- Ziemann, H. (1971). "Die Wirkung des Salzgehaltes auf die Diatomeenflora als Grundlage fuer eine biologische Analyse und Klassifikation der Binnengewasser." Limnologica **8**: 505-525.
- Ziemann, H. (1982). "Indikatoren fuer den Salzgehalt der Binnengewasser - Halobien-system. - In Breitig, G. and Tuempling, W. von (eds.), Ausgewaehlte Methoden der Gewaesseruntersuchung; II: Biologische, microbiologische und toxikologische Methoden. Jena."
- Ziemann, H. (1999). "Salzgehalt. Bestimmung des Halobienindex. In: V. Tuempling, W. v. and Friedrich, G. (eds.), Biologische Gewaesseruntersuchung, pp. 309-313. Jena."
- Ziemann, H., L. Kies, et al. (2001). "Desalinization of running waters. III. Changes in the structure of diatom assemblages caused by a decreasing salt load and changing ion spectra in the river Wipper (Thuringia, Germany)." Limnologica **31**: 257-280.



## **PARTIE II**

**CAPACITES DE BIO-INDICATION DES DIATOMEES  
POUR DIFFERENTES POLLUTIONS EN RIVIERE :**

**TROIS EXEMPLES D'APPLICATION  
EN MESOCOSMES OU IN SITU**

## **Résumé**

L'objectif de ce rapport est d'établir un diagnostic de la qualité de l'eau en situation polluée en utilisant uniquement l'outil biologique diatomées. Nous avons étudié les effets de différents types de pollution à diverses échelles d'étude, une pollution en monomère (methacrylate de methyle) en mésocosme, une pollution *in situ* à l'échelle d'une soudière (sel et micropolluants) et enfin une pollution par divers polluants (pesticides, hydrocarbures aromatiques polycycliques, micropolluants organiques et minéraux) *in situ* à une échelle régionale. Différentes métriques diatomiques ont été analysées, telles que la présence de formes tératologiques, l'augmentation ou la diminution de certaines formes de vie, la diversité taxonomique, la présence de taxons remarquables, l'abondance de taxons colonisateurs et enfin les classes de salinité de Van Dam. Pour les pollutions industrielles en sortie de soudières nous recommandons d'utiliser les classes de salinité de Van Dam et d'approfondir les connaissances relatives aux formes tératologiques. Pour les contaminations en monomère, ainsi que par les pesticides nous conseillons d'analyser l'évolution de l'abondance des formes de vie. Enfin, en ce qui concerne les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les micropolluants organiques aucune tendance n'a pu être dégagée pour les métriques analysées, alors que l'analyse des classes de taille s'est révélée être une métrique à retenir pour les micropolluants minéraux. En conclusion, des nouvelles métriques, telles que les formes de vie ou les formes tératologiques, semblent être prometteuses pour analyser les effets de toxiques.

## **MOTS CLES**

Pollution aquatique, bio-indication, micropolluants, diatomées

## **SUMMARY**

The goal of this study was to establish a diagnostic of the water quality in contaminated contexts by using the diatoms as biological tool. We have studied the effects of different contaminations at various study scales: a monomere (methyl methacrylate) contamination in mesocosmes, an *in situ* contamination (salt and micropollutants) at the scale of a salt industry and a contamination of different pollutants (pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, organic and mineral micropollutants) *in situ* at a regional scale. Diverse diatom metrics have been studied, such as the presence of teratologic forms, the increase or decrease of certain life forms, the taxonomic diversity and the presence of remarkable species, the abundance of colonising species and the classes of salinity of Van Dam. In presence of industrial pollution downstream salt factories we recommend to use the salinity classes of Van Dam, to search for teratologic forms and to analyse the abundance of colonising taxons. For monomere and pesticide contaminations we suggest to analyse the evolution of the abundance of life forms. Finally, no trend has been observed for polycyclic aromatic hydrocarbons or organic micropollutants, but the analysis of the cell size has to be retained for mineral micropollutants. In conclusion, new metrics, such as life forms or teratologic forms, seem to be promising to analyse toxic effects.

## **KEY WORDS**

Aquatic pollution, bio-indication, micropollutants, diatoms



## SOMMAIRE

<b>1. Préambule</b>	<b>114</b>
<b>2. Matériel et Méthodes</b>	<b>116</b>
2. 1. Outils de bio-indication basés sur les diatomées.....	116
2. 2. Méthode d'échantillonnage et traitement au laboratoire.....	116
2. 3. Calcul des métriques.....	117
2.3.1. L'IPS et IBD.....	118
2.3.2. Diversité diatomique.....	118
2.3.3. Les classes de salinité de Van Dam et al. (1994).....	119
2.3.4. Les formes tératologiques.....	119
2.3.5. Abondance de différents traits biologiques.....	120
2.3.6. Abondance de taxons colonisateurs.....	122
2.3.7. Classes de taille.....	123
<b>3. Exemple d'application n°1 : Pollution par un monomère. Etude en mésocosme.</b>	<b>124</b>
3.1. Objectifs de cette étude.....	124
3.2. Introduction.....	124
3.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude.....	124
3.3.1. Plan expérimental.....	124
3.3.2. Analyses statistiques.....	125
3.4. Résultats.....	127
3.4.1. Analyse globale de l'effet de la pollution.....	127
3.4.2. Test de nouvelles métriques.....	130
3.4.2.1. Formes de vie.....	130
3.4.2.3. Diversité diatomique.....	131
3.4.2.4. Formes tératologiques.....	131
3.5. Conclusions de cette étude.....	131
<b>4. Exemple d'application n°2 : La pollution par les soudières. Etude <i>in situ</i> à l'échelle d'un site industriel</b>	<b>133</b>
4.1. Objectifs de cette étude.....	133
4.2. Introduction.....	133
4.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude.....	134
4.3.1. Le site d'étude.....	134
4.3.2. Présentation des stations étudiées.....	135
4.4. Résultats.....	136
4.4.1. L'IPS.....	136
4.4.2. Diversité taxonomique.....	137
4.4.3. Classes de salinité.....	138
4.4.4. Formes tératologiques.....	141
4.4.5. Traits biologiques.....	142
4.4.6. Abondance des taxons colonisateurs/ubiquistes.....	143
4.5. Conclusions de cette étude.....	144
<b>5. Exemple d'application n°3 : La pollution par les micropolluants : étude <i>in situ</i> à l'échelle régionale des rivières du Rhin-Meuse</b>	<b>145</b>
5.1. Objectifs de cette étude.....	145
5.2. Introduction.....	145
5.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude.....	146
5.3.1. Base de données diatomées.....	146
5.3.2. Base de données physico-chimique.....	147
5.3.3. Les indices du SEQ testés.....	147
5.3.4. Analyses statistiques.....	148
5.3.4.1. Analyses discriminantes.....	148
5.3.4.2. Box Plot.....	149

5.3.4.3. Comparaisons multiples de moyenne .....	149
5.4. Résultats .....	149
5.4.1. Analyses discriminantes .....	149
5.4.2. Box-plots et comparaisons multiples .....	153
5.4.2.1 Indice PEST.....	153
5.4.2.2. Indice HAP sédiment.....	161
5.4.2.3. Indice MPOR .....	164
5.4.2.4. Indice MPMI.....	165
5.4.2.5. Indices PHOS et MOOX.....	167
5.5. Conclusions de cette étude.....	168
<b>6. Conclusion finale</b>	<b>170</b>
<b>7. Bibliographie</b>	<b>172</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>175</b>

## 1. PREAMBULE

Dans le cadre de son programme 2007, R.E.C.O.R.D. a confié à l'Institut National pour la Recherche Agronomique (INRA) de Thonon les Bains le projet n°3-12, intitulé « Surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels par les diatomées dulçaquicoles ».

Ce projet vise à évaluer le potentiel d'indices biotiques basés sur les diatomées dans le but d'obtenir un diagnostic concernant l'état écologique de milieux aquatiques soumis à des rejets d'effluents aqueux de sites industriels.

Les pollutions d'origine industrielle contribuent à dégrader la qualité de l'eau et sont généralement liées à l'énergie consommée (hydrocarbures), aux matériaux transformés (minerais) ou encore aux procédés de fabrication utilisés (solvants et autres produits toxiques). Aujourd'hui le diagnostic de la qualité de l'eau peut se faire de différentes façons : soit par analyse directe de différents paramètres physico-chimiques tels que le pH, la température, les toxiques présents dans l'eau, soit par analyse biologique. En complément à l'analyse physico-chimique de l'eau, la bio-indication est aujourd'hui considérée comme une voie privilégiée pour évaluer la qualité non seulement de l'eau mais aussi des milieux aquatiques. La grande biodiversité des diatomées, leur sensibilité envers une multitude de polluants, leur cycle de vie rapide et leur faible mobilité font qu'elles sont considérées comme d'excellents bio-indicateurs de la qualité de l'eau (Round 1991). Ainsi, des nombreux pays en Europe ont développé des indices basés sur la distribution des diatomées et leurs préférences écologiques, relatives au niveau saprobique ou trophique (Lange-Bertalot 1979 ; Watanabe *et al.* 1985 ; Sladeczek 1986 ; Watanabe *et al.* 1986 ; Schiefele and Schreiner 1991 ; Kelly and Whitton 1995 ) au pH (Renberg and Helberg 1982), à la salinité (Ziemann 1999) ou à un niveau de qualité globale, incluant divers paramètres tels que les matières organiques, les substances nutritives et la physicochimie (Cemagref 1982 ; Dell'Uomo and Tantucci 1996 ; Lenoir and Coste 1996). Ces indices diatomiques évaluent la perturbation anthropique en utilisant les abondances relatives des espèces identifiées, pondérées par leurs caractéristiques spécifiques de sensibilité à différents indicateurs d'eutrophisation. Pour d'autres impacts anthropiques, notamment les pollutions toxiques, tels que les métaux, les micropolluants, les pesticides etc, les indicateurs actuellement utilisés sont peu performants. C'est dans ce contexte que RECORD a engagé cette étude.

Après avoir réalisé, un état des connaissances sur la pertinence des diatomées pour la surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux de sites industriels (pour plus de détails se reporter au rapport intermédiaire de cette étude, mai 2008), nous avons retenu les pistes indicielles les plus prometteuses afin de les évaluer sur le terrain ou en situation expérimentale. Ainsi, nous avons choisi différentes métriques qui semblent offrir des perspectives intéressantes en terme de bio-indication par rapport aux pollutions toxiques, comme par exemple des caractéristiques morphologiques ou fonctionnelles.

**L'objectif global de cette étude** est de tester la pertinence des diatomées pour la surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux toxiques.

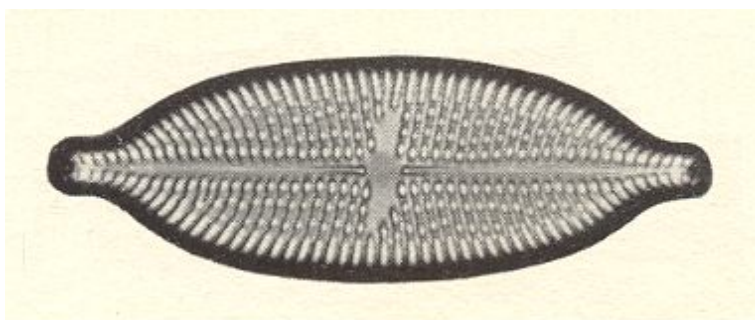
**Les objectifs spécifiques de l'étude** sont de tester la pertinence des diatomées :

1. pour la surveillance d'une pollution industrielle (methacrylate de methyle, experimentation en mésocosme) ;
2. pour une pollution industrielle saline (échantillonnage *in situ* à l'échelle d'un site industriel)
3. pour une pollution de type « pesticides », hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), micropolluants organiques et micropolluants minéraux (*in situ* à une échelle régionale). En ce qui concerne ce dernier point, il s'agit non seulement de pollution d'origine industrielle mais aussi de pollution agricole (pesticides). Le jeu de données disponible à l'échelle d'un grand bassin régional nous a permis de tester des hypothèses de bio-indication à plus large échelle.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2. 1. Outils de bio-indication basés sur les diatomées

Les diatomées sont l'un des outils utilisés pour diagnostiquer la qualité de l'eau. Ce sont des **algues unicellulaires** de couleur brune. Leur taille varie de quelques micromètres ( $\mu\text{m}$ ) à plus de 500  $\mu\text{m}$  (soit 0,5 mm). Ces algues ont la particularité de posséder un **squelette** externe siliceux appelé « frustule » (Fig. 1). C'est sur la base de la forme et de l'ornementation de ce frustule que la détermination des espèces est réalisée.



**Fig. 1** : Squelette siliceux (ou frustule) d'une diatomée, ici *Aneumastus tusculus* (Ehrenberg) D.G. Mann & Stickle (taille : 45  $\mu\text{m}$ ).

Les diatomées colonisent tous les milieux humides ; elles se développent en particulier dans les cours d'eau en **formant un biofilm sur les surfaces immergées**. Avec plus de 10.000 espèces connues (Norton *et al.* 1996; Poulin and Williams 1998), ces organismes présentent une biodiversité remarquable (pour plus de détails se reporter au rapport intermédiaire de cette étude, mai 2008).

### 2. 2. Méthode d'échantillonnage et traitement au laboratoire

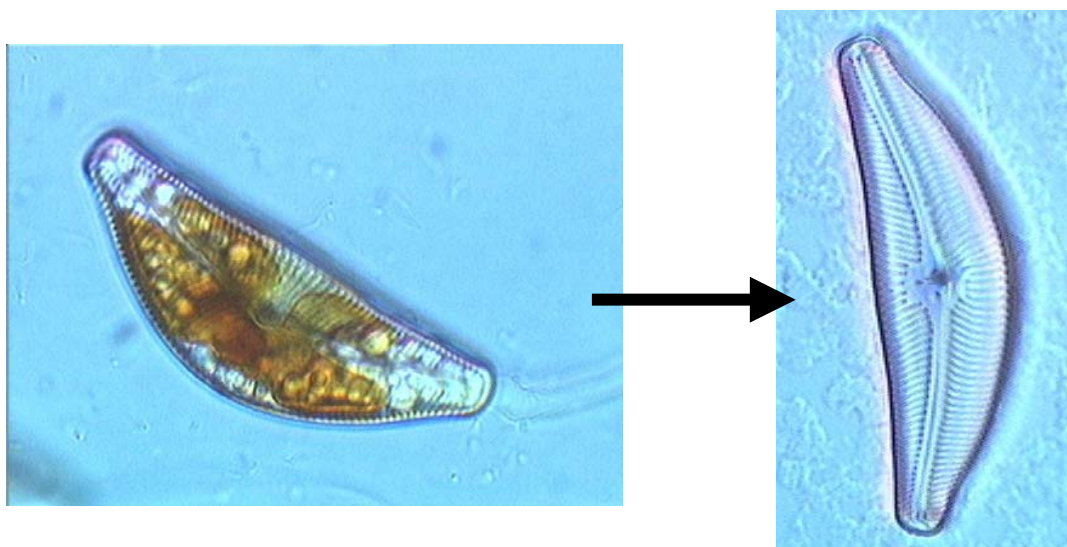
Les diatomées sont récoltées selon un protocole précis décrit dans la norme NF T 90-354 de détermination de l'IBD (AFNOR 2000, revue en 2007). L'échantillonnage se fait par grattage du biofilm (épilithon) sur des substrats durs au moyen d'une brosse à dents (Fig. 2).



**Fig. 2 :** Echantillonnage des diatomées au moyen d'une brosse à dents.

### **2. 3. Calcul des métriques**

Au laboratoire l'échantillon est préparé et analysé au microscope (100X immersion). Une fois les espèces diatomiques identifiées et comptées (Fig. 3), différentes métriques sont calculées.



**Fig. 3.** Le traitement de l'échantillon et le montage entre lame et lamelle d'une cellule vivante de *Encyonema* sp. (à gauche) permet d'identifier la cellule au niveau de l'espèce (*Encyonema tumida*, à droite).

Nous avons retenu comme indice de référence, l'Indice de Polluosensibilité Spécifique « **IPS** » (Cemagref 1982) pour la qualité générale de l'eau ou l'IBD (indice biologique diatomique, AFNOR 2000 et 2007). Les deux indices sont sensibles à différents types de pollution (essentiellement saprobique et trophique).






D'autres types d'outils basés sur les diatomées ont été utilisés dans ce rapport pour affiner le diagnostic de la qualité des cours d'eau investigués : classes de salinité de Van Dam, diversité

diatomique (indice de Shannon), présence de formes tératologiques, présence de formes de vie différentes (coloniales, planctoniques, etc) et abondance de taxons colonisateurs. Les différentes métriques sont expliquées plus en détails dans les paragraphes suivants. Ces métriques seront comparées à l'IPS ou à l'IBD pour évaluer leur capacité de bio-indication.

### 2.3.1. L'IPS et IBD

Les indices diatomiques, **IPS** (Cemagref 1982) et **IBD** (Lenoir and Coste 1996 ; AFNOR 2000 et 2007) utilisent la biodiversité des diatomées pour évaluer la **qualité de l'eau** des rivières, principalement la pollution organique (saprobie) et la concentration en nutriments (trophie). L'IPS est basé sur plus de 10000 espèces différentes, alors que l'IBD est basé sur 1488 espèces, chacune étant caractérisée par une préférence par rapport au niveau de pollution appelé « polluotolérance ». En évaluant l'abondance relative de chaque espèce et en connaissant sa polluotolérance, il est possible d'évaluer le niveau de pollution général du cours d'eau. C'est, de manière simplifiée, sur ce principe que sont conçus les indices diatomiques IBD et IPS.

Les valeurs de ces deux indices varient de 1 à 20 :

17	≤	très bonne qualité	≤	20	: couleur bleue	
13	≤	bonne qualité	<	17	: couleur verte	
9	≤	qualité moyenne	<	13	: couleur jaune	
5	≤	mauvaise qualité	<	9	: couleur orange	
1	≤	très mauvaise qualité	<	5	: couleur rouge	

### 2.3.2. Diversité diatomique

Une perturbation peut avoir des effets sur la structure de la communauté diatomique. En effet, certaines espèces disparaissent car elles ne tolèrent pas les nouvelles conditions et d'autres prolifèrent. **L'indice de Shannon-Weaver** (1949) est l'un des indices de biodiversité les plus connus par les spécialistes et utilisé au jour d'aujourd'hui:

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

Avec H' : indice de biodiversité de Shannon-Weaver ; i : une espèce du milieu étudié ; p<sub>i</sub> : proportion d'une espèce i par rapport au nombre total d'espèces dans le milieu ; s : nombre d'espèces

Les valeurs de la diversité H ont une signification différente :

H' est minimal (= 0) si tous les individus du peuplement appartiennent à une seule et même espèce, H' est également minimal si, dans un peuplement chaque espèce est représentée par un seul individu, excepté une espèce qui est représentée par tous les autres individus du peuplement. L'indice est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale sur toutes les espèces (Frontier 1983). De la même manière, l'indice de Shannon est d'autant plus élevé que le nombre d'espèces est

grand. Cet indice permet de quantifier la biodiversité d'un milieu d'étude et donc d'observer une évolution au cours du temps.

### 2.3.3. Les classes de salinité de Van Dam et al. (1994)

Les taxons de diatomées sont classés dans l'une des 4 classes citées ci-dessous selon leur affinité par rapport à la concentration en chlorures. Van Dam et al. (1994) donnent des valeurs de la concentration en chlorures et de la salinité pour les classes suivantes :

Salinité des eaux	Cl (mg.l <sup>-1</sup> )	Salinité (%)
Douces	< 100	< 0,2
Douces à légèrement saumâtres	< 500	< 0,9
Moyennement saumâtres	500 - 1000	0,9 - 1,8
Saumâtres	1000 - 5000	1,8 - 9

Le pourcentage de diatomées dans chacune des 4 classes est calculé au sein de l'échantillon. La classe la plus représentée caractérise la station.

### 2.3.4. Les formes tératologiques

Il s'agit de déformations du squelette (ou frustule) des diatomées. Ces déformations sont induites par différents types de stress lors de la formation du squelette. De nombreuses études montrent que ces déformations peuvent être liées à l'effet de produits toxiques<sup>1</sup> (Diatomania n°10) (Falasco *et al.* 2009) :

- métaux lourds : ex : Cu, Cd, Zn, Pb, As, Fe, Hg,
- hydrocarbures : ex : fluoranthène, huile anthracénique, trichloréthylène,
- radioactivité,
- pesticides,
- etc.

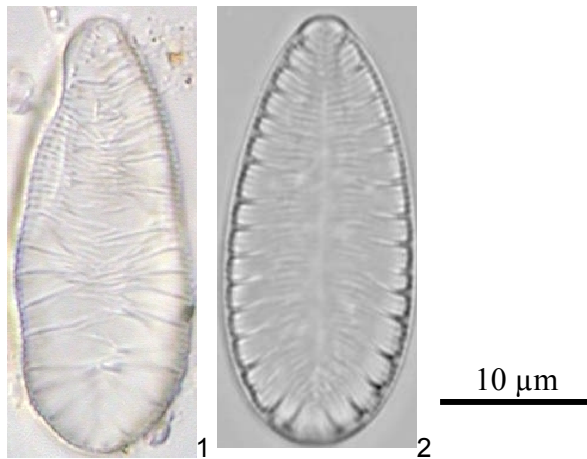
La présence des formes tératologiques est une donnée informant sur l'existence probable de substances toxiques dans l'eau. Pour l'étude sur site industriel, nous avons compté toutes les formes tératologiques observées lors du comptage (400 diatomées par lames par station). Cette information n'était pas disponible pour l'approche réalisée sur des données du bassin Rhin-Meuse.

Un exemple de forme tératologique est présenté en figure 4. Toutes les photographies de formes tératologiques présentées dans ce rapport proviennent des prélèvements réalisés par l'INRA de Thonon les Bains en 2008 autour du site Solvay.

---

<sup>1</sup> : Un inventaire détaillé des études corrélant les micropolluants toxiques aux formes tératologiques est disponible sur le bulletin de l'ADLaF (Association des Diatomistes de Langue Française) Diatomania n°10 (2006). Plusieurs expérimentations sont également décrites dans ce bulletin et montrent la relation entre micropolluants et formes tératologiques.





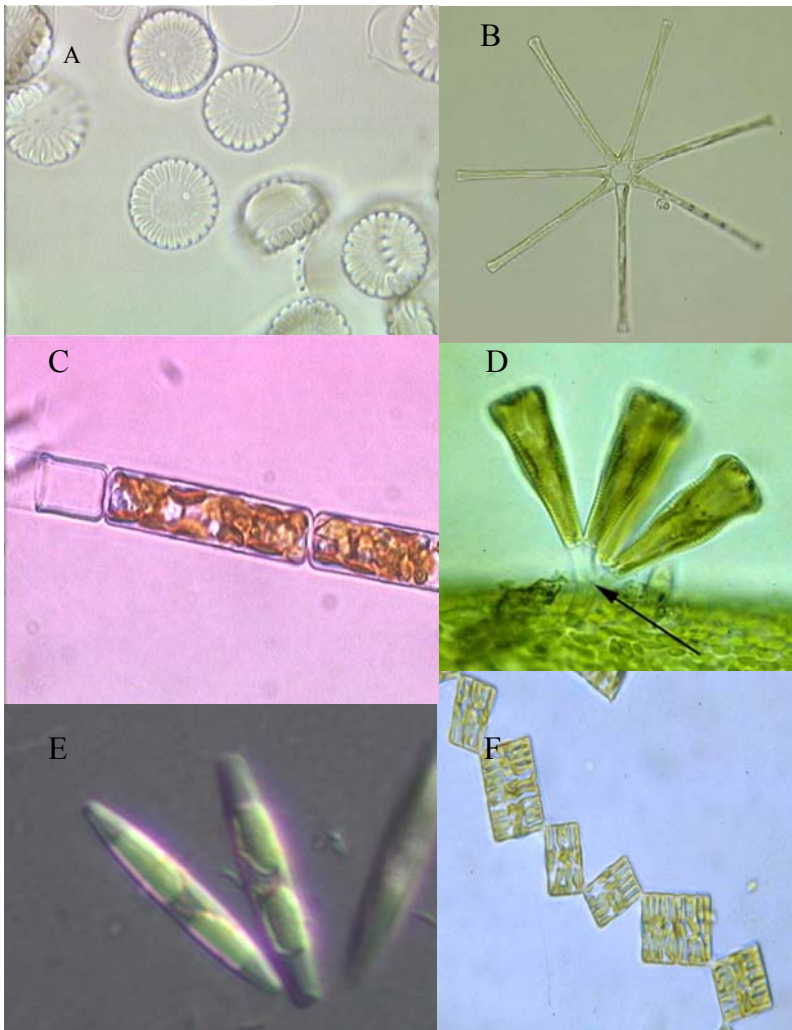
**Fig. 4 :** Photo 1 : forme tératologique de *Surirella brebissonii*, photo 2 : forme normale de *Surirella brebissonii* (Photos F. Rimet). La barre d'échelle représente 10  $\mu\text{m}$ .

### ***2.3.5. Abondance de différents traits biologiques***

Les différents taxons de diatomées peuvent être regroupés selon des traits biologiques c'est-à-dire des variables décrivant des caractéristiques morphologiques, physiologiques ou comportementales.

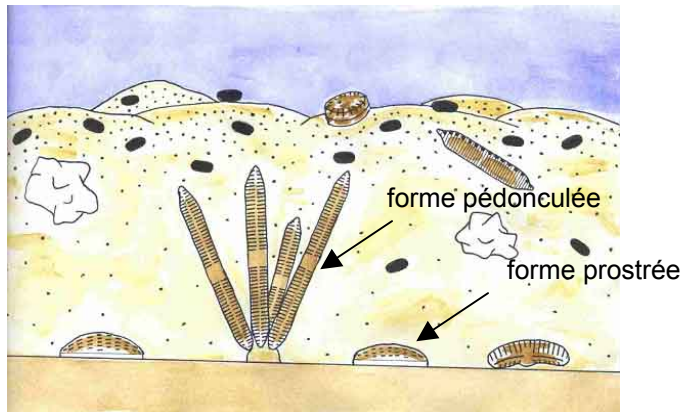
#### **1 Utilisation des formes de vies :**

Les diatomées vivent soit sous forme de cellules isolées soit sous forme de colonies aux formes très variables : en chaînette, en ruban ou en étoile (Fig. 5). Au sein d'un échantillon, chaque taxon identifié peut donc être caractérisé par ces différents paramètres, ce qui permet de classer les échantillons selon les abondances des différentes formes de vie.



**Fig. 5.** Différentes formes de vie de diatomées. A : *Cyclotella meneghiniana*, cellules isolées planctonique ; B : *Asterionella formosa*, colonie étoilée planctonique ; C : *Melosira varians*, filamenteuse benthique ; D : *Gomphonema truncatum*, var. *capitatum*, des cellules regroupées, attachées par un pédoncule (flèche) ; E : *Nitzschia palea*, cellules isolées mobiles benthique ; F : *Tabellaria flocculosa*, colonie rubanée planctonique ou benthique.

Leur forme (rapport surface/volume), leur dimension et leur mode de vie (colonie ou pas) peuvent avoir des conséquences écologiques importantes pour la survie et la croissance d'une espèce (Potapova and Snoeijs 1997) et des conséquences sur leur exposition aux toxiques. Par exemple, au sein d'un biofilm (diatomées benthiques) les formes attachées (érigées ou pédoncules) sont plus isolées de l'eau environnant que les formes filamenteuses, par leur position au sein de la matrice (Burkholder *et al.* 1990). On peut donc supposer que les formes attachées sont plus protégées des toxiques contenus dans l'eau que les formes filamenteuses (Fig. 6).



**Fig. 6.** Différentes formes de vie de diatomées au sein d'un biofilm (pédonculée ou prostrée). Dessin d'après M.G. Kelly.

## 2 Utilisation de guildes écologiques :

Une guilda écologique est un ensemble de taxons qui coexistent dans un même milieu et qui peuvent posséder des adaptations différentes aux facteurs abiotiques (Devito et al. 2004). Nous avons donc utilisés les appariements de modes de vie déterminés par Passy (2007) et basés sur le potentiel des espèces à utiliser les ressources en nutriments et à résister aux perturbations physiques (courant). 3 guildes sont définies et ont été modifiées afin d'intégrer de nouveaux genres non présents dans la publication de Passy :

- Les espèces « low profile » : Ce sont des espèces capables de vivre dans des milieux aux faibles ressources en nutriments et capables de résister aux perturbations physiques du milieu. Ce groupe rassemble des espèces de petites tailles, accrochées directement au substrat par la valve entière ou prostrées (« prostrate »), accrochées par l'apex et disposée parallèlement au substrat (« adnate ») ou accrochées perpendiculairement (érigées, « erect »), des espèces centriques solitaires et des espèces se déplaçant lentement.
- Les espèces « high profile » (HP) : Elles peuvent proliférer dans des milieux pollués (riches en nutriments, matières organiques) mais sont sensibles aux perturbations physiques : espèces de plus grandes tailles érigées, filamenteuse, branched, formant des chaines, formant des tubes, pédonculées et des centriques coloniales.
- Les espèces « motile » : Elles prolifèrent dans des milieux riches en nutriments et sont capables de se déplacer rapidement.

L'abondance de ces guildes a été utilisée dans le cadre de l'étude menée près de l'Usine de Solvay.

### 2.3.6. Abondance de taxons colonisateurs

Certains taxons de diatomées sont reconnus pour être des espèces pionnières ayant la capacité de coloniser des environnements dénudés de façon plus rapide que d'autres espèces. De façon plus générale, ce sont des diatomées de petite taille. La faible taille cellulaire limite la surface exposée au stress toxique (par exemple, métallique) et par conséquent l'assimilation du toxique par la cellule (Koshmanesh et al. 1997). De façon similaire, Kinross et al. (Kinross et al. 1993) suggèrent que les

communautés diatomiques, soumises à un stress chimique (par exemple, acidification) vont avoir tendance à être dominées par des diatomées de petite taille, pour lesquelles le taux de croissance maximal est inversement corrélé au diamètre de la cellule (Raven and Geider 1988).

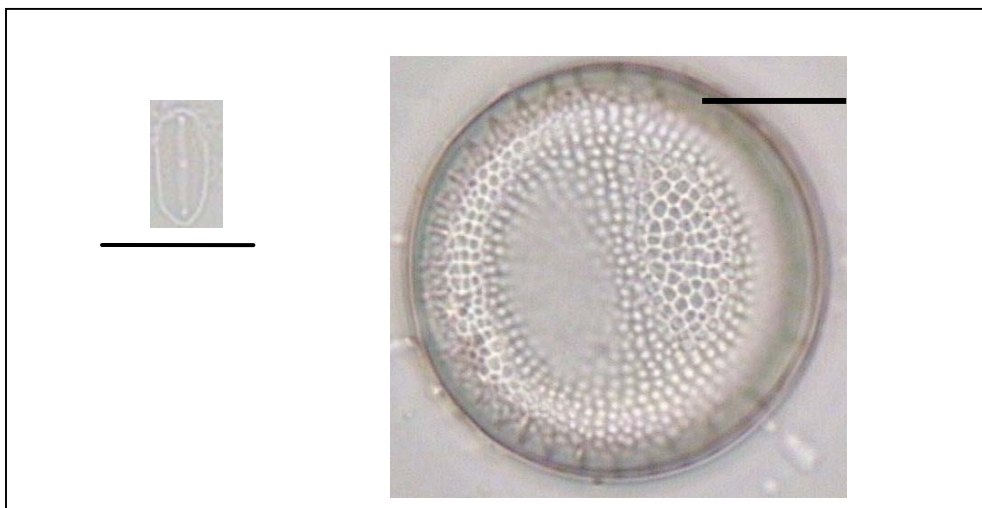
Un exemple de taxon colonisateur est *Achnanthydium minutissimum* qui peut coloniser de façon rapide un espace libre après une diminution de la compétition inter-spécifique (Rodriguez 1994 ; Sabater 2000). Stevenson et Bahls (2002) suggèrent d'utiliser l'abondance de taxons colonisateurs tel que *Achnanthydium minutissimum* afin d'évaluer l'intensité d'une perturbation. Nous avons considérés 2 taxons colonisateurs pour cette étude : *Amphora pediculus* et *Achnanthydium minutissimum*.

### 2.3.7. Classes de taille

Plusieurs études montrent des relations entre la taille des cellules des diatomées et le niveau de pollution des cours d'eau (Passy 2007 et 2008). Afin de tester l'impact des toxiques sur cette métrique, les taxons rencontrés ont été classés en 5 classes de biovolume :

- Classe 1 : 0 à 99  $\mu\text{m}^3$ , (ex. *Mayamaea permitis*, Fig. 7)
- Classe 2 : 100 à 299  $\mu\text{m}^3$ ,
- Classe 3 : 300 à 599  $\mu\text{m}^3$ ,
- Classe 4 : 600 à 1499  $\mu\text{m}^3$ ,
- Classe 5 : 1500  $\mu\text{m}^3$  et plus. (ex. *Thalassiosira bramaputrae*, Fig. 7)

Pour l'étude sur le bassin Rhin-Meuse (§ 5), 42 taxons sont dans la classe 1, 60 dans la classe 2, 49 dans la classe 3, 40 dans la classe 4 et 29 dans la classe 5.



**Fig. 7.** Microphotographie de deux taxons de diatomées présentant des biovolumes différents : de *Mayamaea permitis* (à gauche) et de *Thalassiosira bramaputrae* (à droite). La barre d'échelle représente 10  $\mu\text{m}$ .

### 3. EXEMPLE D'APPLICATION N°1 : POLLUTION PAR UN MONOMERE. ÉTUDE EN MESOCOSMES.

#### 3.1. Objectifs de cette étude

L'objectif de cette étude en mésocosmes lotiques est d'analyser la pertinence des diatomées face à une exposition au méthacrylate de méthyle (MAM) en milieu aquatique. Les données ont été fournies par TOTAL et on déjà fait l'objet d'une publication (Coffinet *et al.* 2008).

#### 3.2. Introduction

Le méthacrylate de méthyle est un monomère du polyméthacrylate de méthyle et est utilisé pour la production d'ester d'acides méthacryliques et différents types de polymères. Le MAM est utilisé par l'industrie chimique et dans d'autres domaines tels que la médecine (prothèses). La toxicité de MAM pour la vie aquatique (oligochètes, invertébrés benthiques, diatomées) a été mise en évidence par Coffinet *et al.* (2008) et par d'autres auteurs (Hanson *et al.* 2002). Il nous a semblé intéressant de tester différents indices diatomiques face à cette molécule d'origine industrielle perturbant les milieux aquatiques.

#### 3.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude

##### 3.3.1. Plan expérimental

10 rivières artificielles caractérisées par des concentrations différentes en MAM ont été échantillonnées pour les diatomées (Fig.8). Les concentrations de MAM testées sont des multiples de la NOEC et de la PNEC officielles ( $NOEC_{daphnie\ 21j} = 35\text{mg/L}$  ;  $PNEC = 0,74\text{mg/L}$ ) et sont plus précisément : 0 (control), 0,74 (=PNEC), 7 (=10 X PNEC), 22 (=30 X PNEC), 37 (=NOEC) et 148 (= 4 X NOEC) mg/L. Les mésocosmes, le protocole expérimental de la contamination et l'échantillonnage ont été décrits de façon détaillée par Coffinet *et al.* (2008). Les résultats que nous allons exposer ici se réfèrent aux échantillonnages de diatomées effectués à  $t = 15$  jours et à  $t = 30$  jours. L'échantillonnage a été fait par grattage sur des plaques de verre immergées, et les identifications taxonomiques ont été effectuées par Michel Coste (Cemagref).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
cc mg/l	0,74	148		37			0	0,74		0	37		7		22	0
cc	PNEC	4NOEC		NOEC				PNEC			NOEC		10 PNEC		30 PNEC	

**Fig. 8.** Les 10 mésocosmes pris en compte dans cette étude : les canaux témoins sont en bleus (7, 10 et 16) et les canaux pollués sont en jaunes (1, 2, 4, 8, 11, 13, 15).

Les données taxonomiques sur les diatomées ont été étudiées globalement dans un premier temps pour évaluer l'effet de la pollution, et hiérarchiser les différents facteurs contrôlés susceptibles de modifier la diversité (le temps et la concentration en polluant). De nouvelles métriques ont été ensuite testées sur ce jeu de données.

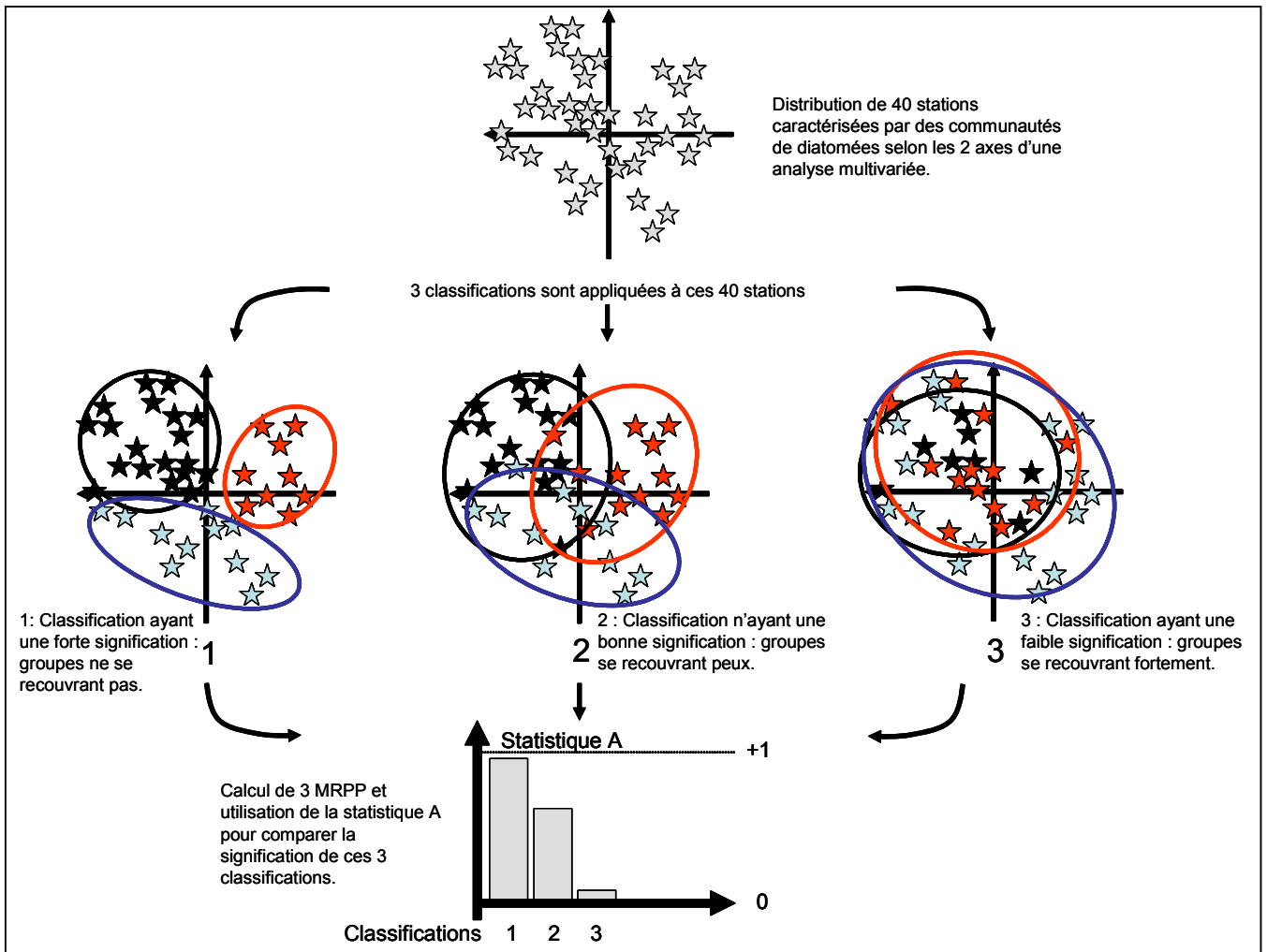
### **3.3.2. Analyses statistiques**

Une analyse de DCA (« detrended correspondance analysis », (Hill and Gauch 1980)) a été effectuée sur l'ensemble des données avec l'aide du logiciel PcOrd (McCune and Mefford 2006).

Une analyse complémentaire par MRPP (« Multi-Response Permutation Procedures », (Biondini *et al.* 1985 ; Zimmermann *et al.* 2009) a été effectué également à l'aide du logiciel PcOrd (McCune and Mefford 2006) pour évaluer l'importance relative du temps, de la contamination et du gradient de contamination. La MRPP est une procédure non paramétrique qui permet de tester l'hypothèse de la non-différence entre deux ou plusieurs groupes, ici composés de communautés de diatomées. L'analyse MRPP permet le calcul de la statistique A. La statistique A, descripteur de l'homogénéité inter-groupes, est comparée à ce qui est attendu aléatoirement :

- si la statistique A est élevée et proche de 1, les groupes sont très différents, et dans notre cas, les groupes seront composés de communautés de diatomées très différentes.
- si la statistique A est proche de 0, les groupes sont peu différents, et dans notre cas, les groupes seront composés de communautés de diatomées proches.

La figure 9 donne une explication schématique de l'analyse MRPP.



**Fig. 9.** Explication schématique de l'utilisation des MRPP et de la statistique A calculée lors de l'analyse MRPP pour analyser les facteurs expliquant la distribution de différents échantillons de diatomées.

Pour cette étude, nous avons testé sur les communautés diatomiques les effets :

- du temps selon 2 dates d'échantillonnage : t15 ou t30
- de la contamination selon deux modalités : pollué ou non pollué
- de la concentration en polluant : 0,74 mg/L, 7 mg/L, 22 mg/L, 37 mg/L, 148 mg/L.

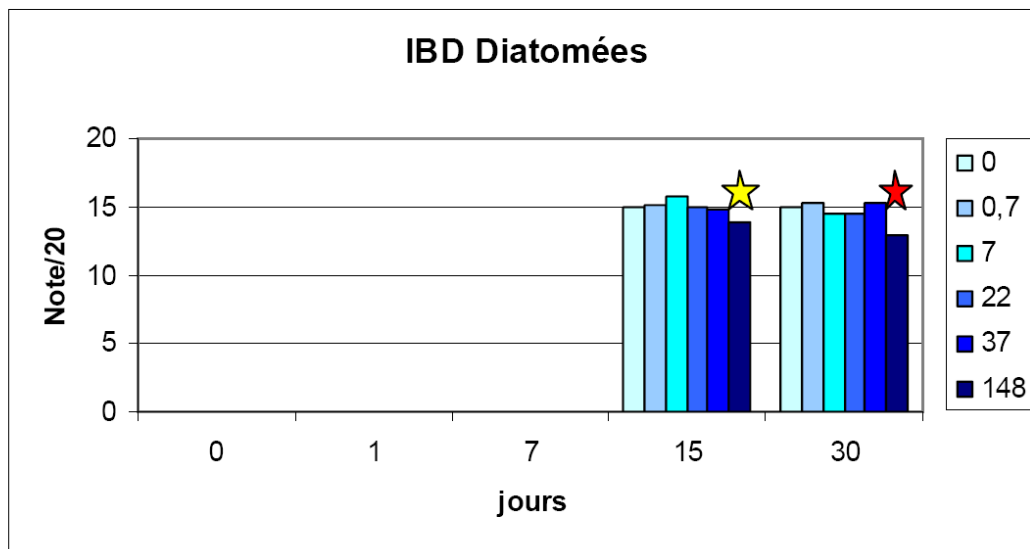
Une analyse des taxon indicateurs (Indval analysis) : L'analyse Indval de Dufrêne & Legendre (Dufrêne and Legendre 1997) -ou méthodes de l'analyse des espèces indicatrices- permet de détecter les taxons indicateurs de groupes préalablement définis. Cette méthode combine l'abondance du taxon dans un groupe et sa fidélité dans le groupe. La signification des espèces indicatrices est testée (test de randomisation de Monte-Carlo).

Cette analyse a été réalisée par détecter les taxons indicateurs des canaux pollués vs non-pollués (en mélangeant les dates de prélèvement).

### 3.4. Résultats

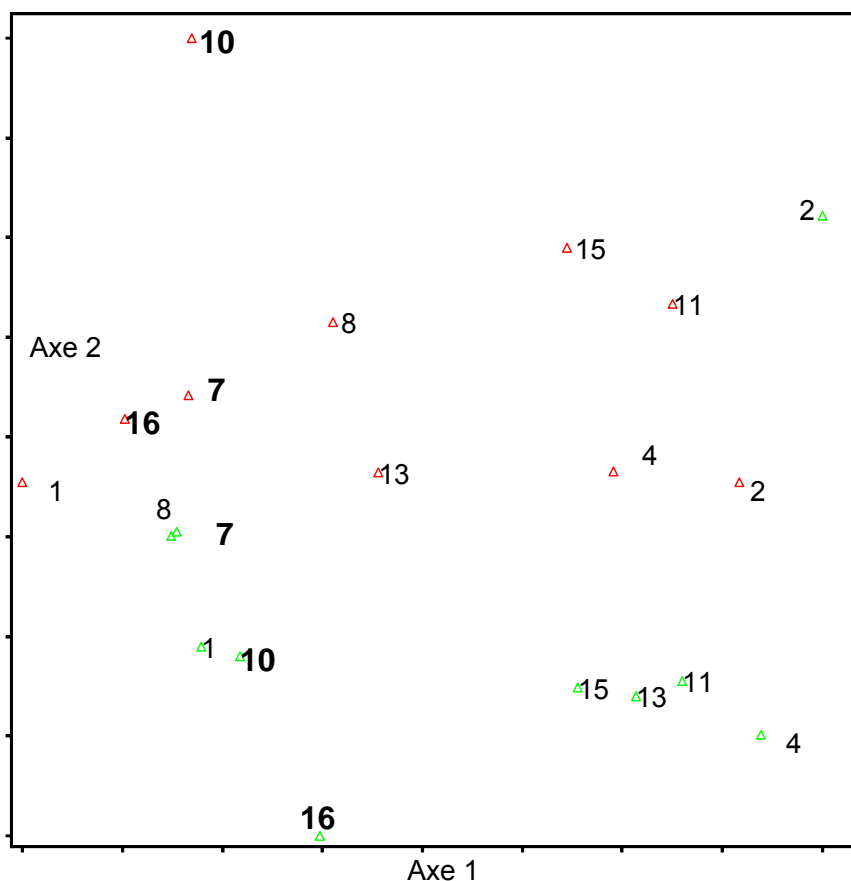
#### 3.4.1. Analyse globale de l'effet de la pollution

132 espèces au total ont pu être identifiées lors des échantillonnages dans les 10 mésocosmes à t15 et à t30. Le calcul de l'IBD montre une influence légère du gradient de la concentration en toxique sur les diatomées, surtout pour les concentrations les plus fortes (Fig. 10, données confidentielles, TOTAL). Ce résultat est renforcé par l'analyse de correspondance DCA, effectuée sur l'ensemble des données et qui met en évidence non seulement une influence importante du temps d'échantillonnage (t15 et t30) (Fig. 11) et de la pollution (pollué ou non pollué) sur les communautés diatomiques.



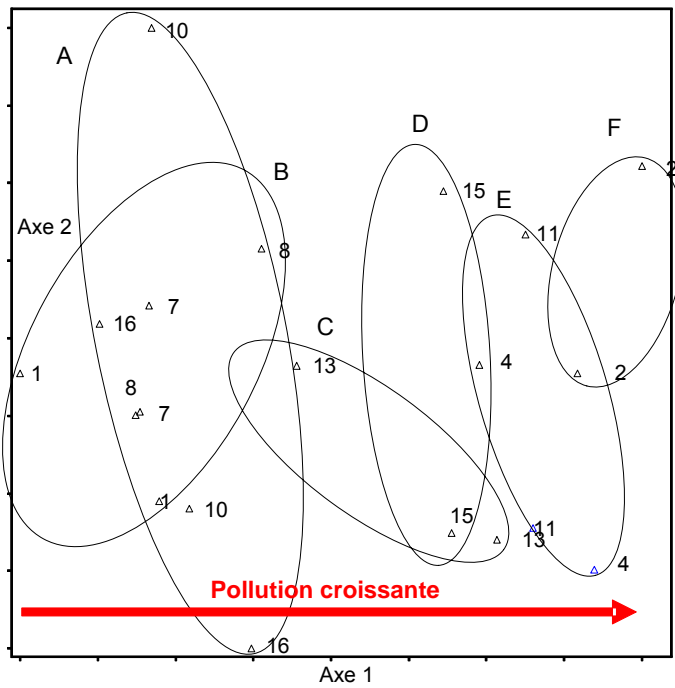
**Fig. 10.** Evolution de l'effet du MAM sur la réponse « Indice IBD » des diatomées, en fonction de la concentration en mg/L et du temps en comparant les mésocosmes exposés par rapport aux témoins (étoile jaune :  $\leq 0,05$  ; étoile rouge :  $\leq 0,001$ ). Données confidentielles de TOTAL.





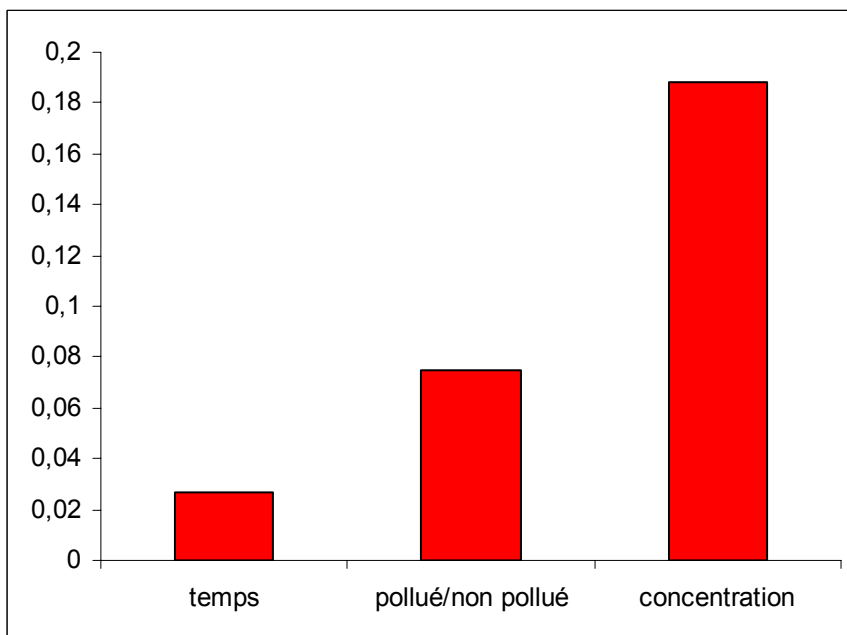
**Fig. 11.** La représentation graphique de l'analyse de correspondance DCA illustre ici l'influence du temps (t15 : rouge, t30 : vert) et de la pollution (en gras les canaux non pollués). Le coefficient de détermination pour les corrélations entre l'espace d'ordination et les distances avec l'espace original à n-dimensions est 0,84 pour les deux axes.

La forte dépendance du gradient de polluant sur la distribution des communautés diatomiques issues des différents canaux est illustrée par la figure 12. Sur cette figure, les canaux se trouvant sur la partie gauche de la représentation graphique, sont caractérisés par des concentrations nulles ou faibles, alors que les canaux les plus fortement pollués se trouvent à droite. La contribution des espèces expliquant la distribution des canaux de l'analyse DCA est représentée en annexe.



**Fig. 12.** La représentation de l'analyse de correspondance DCA illustre ici l'influence du gradient de contamination (cercle A : canaux témoins ; cercle B : 0,74 mg/L ; cercle C : 7 mg/L ; cercle D : 22 mg/L ; cercle E : 37 mg/L ; cercle F : 148 mg/L).

Nous avons ensuite effectué des analyses MRPP sur l'ensemble des points et des groupes établis (temps, gradient de pollution, pollué ou non pollué). Ces analyses mettent clairement en évidence que l'effet temps est plus faible que l'effet pollution (pollué/non pollué) et que ces deux effets sont plus faibles que l'effet concentration (Fig. 13).

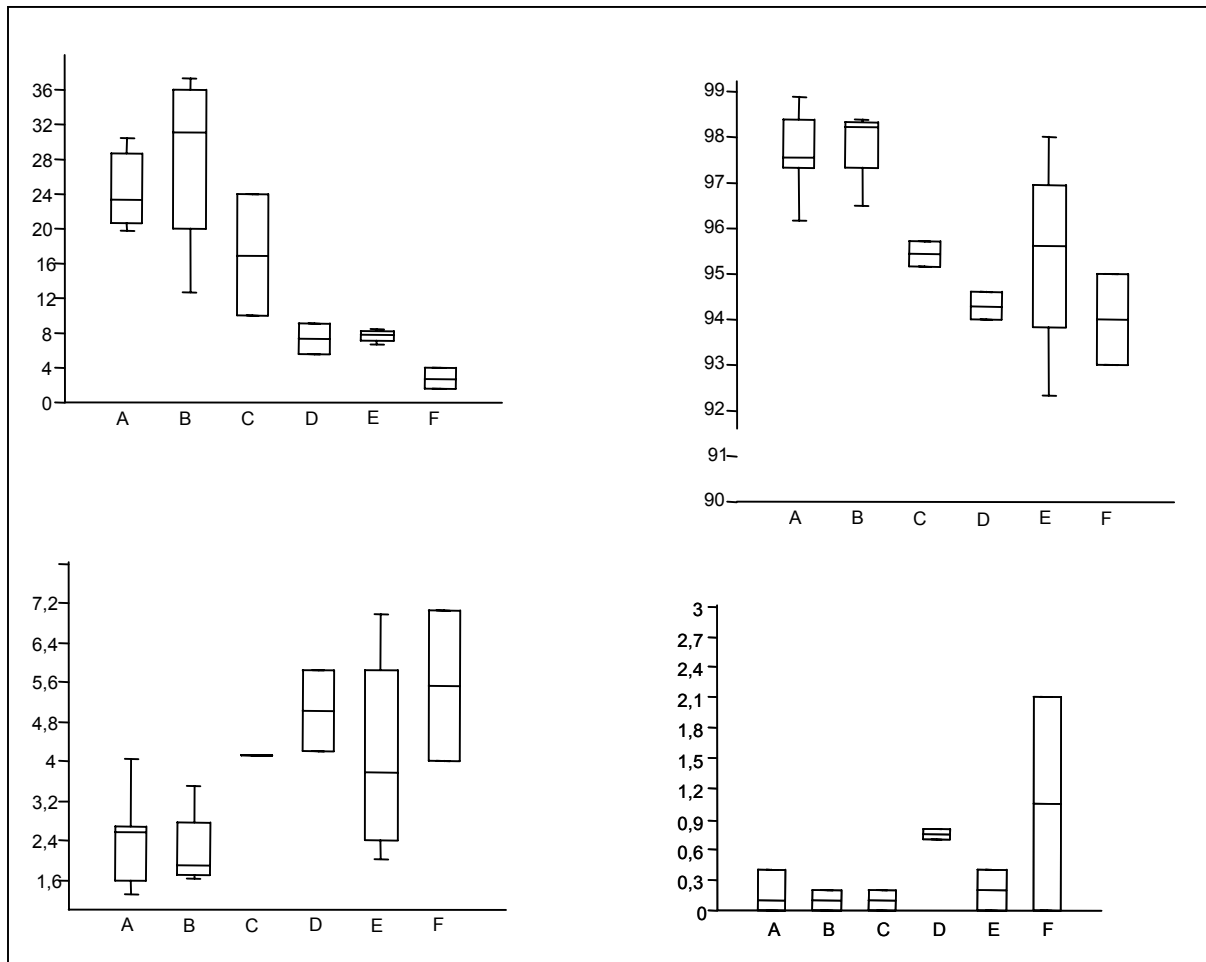


**Fig. 13.** Analyses MRPP comparant les effets sur les communautés de diatomées de la concentration en toxique par rapport à l'effet temps et à l'effet pollué/non pollué (valeur de la statistique A).

### 3.4.2. Test de nouvelles métriques

#### 3.4.2.1. Formes de vie

Les diatomées ont été ensuite regroupées dans différents groupes en fonction de leur forme de vie (colonisatrices, coloniales, mobiles). Les diatomées dites colonisatrices sont caractérisées par une prédominance d'*Achnanthydium minutissimum*, les mobiles par *Achnanthydium minutissimum*, *Cocconeis placentula*, *Encyonema minutum*, *Gomphonema minutum*, *Nitzschia fonticola*, *Mayamaea atomus* var. *permitis*, et enfin les coloniales par *Melosira varians*, *Diatoma ehrenbergii*, *D. mesodon*, *D. vulgare*, *Fragilaria arcus*, *F. capucina* var. *vaucheriae*, *Ulnaria ulna*. Quand l'on analyse la relation de ces trois groupes en fonction de la concentration en toxique, on s'aperçoit que l'abondance des colonisateurs et des mobiles diminue avec une augmentation de la concentration, alors que l'abondance des espèces coloniales augmente avec une augmentation de la concentration en toxique (Fig. 14).



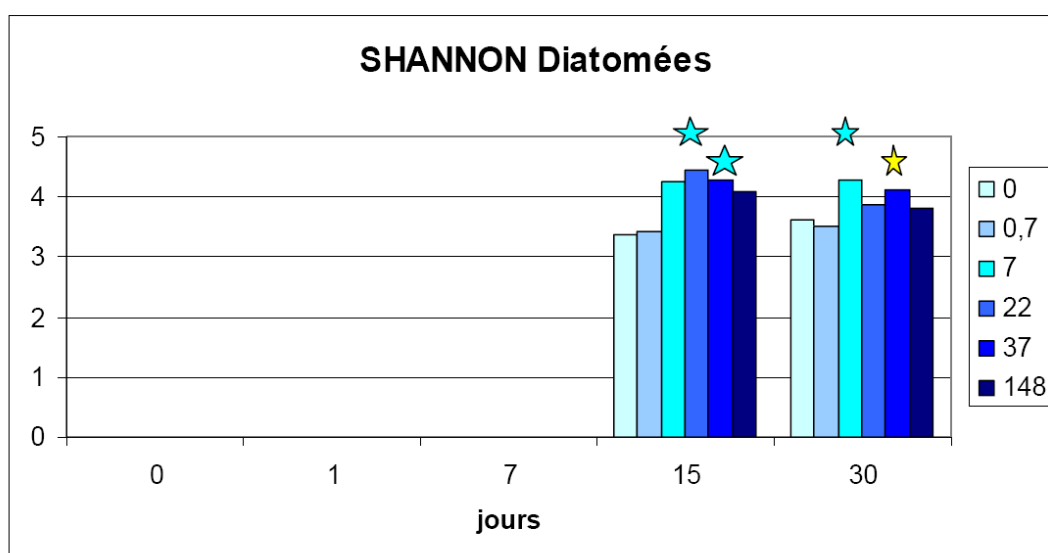
**Fig. 14.** Abondance des taxons colonisateurs (en haut à gauche), mobiles (en haut à droite) et coloniaux (en bas à gauche) et abondance des formes tératologiques (en bas à droite) en fonction de la concentration en MAM (A : 0 mg/L ; B : 0,74 mg/L ; C : 7 mg/L ; D : 22 mg/L ; E : 37 mg/L et F : 148 mg/L).

#### 3.4.2.2. Analyse des taxons indicateurs (Indval analysis)

Une analyse plus détaillée de la liste des taxons particulièrement abondants dans un contexte soit pollué soit non pollué a mis en évidence des taxons indicateurs pour chacune des situations. Pour les deux dates confondues (t15 et t30), on remarque une prédominance de *Nitzschia archibaldii* (espèce polluosensible) et *Gomphonema minutum* (taxon ubiquiste) au sein des mésocosmes témoin et une prédominance de *Amphora pediculus*, *Encyonema silesicum*, *Navicula catalanogermanica*, *N. cryptocephala*, *Nitzschia dissipata*, *N. fonticola*, *N. palea* dans les canaux pollués. Ces deux dernières espèces sont connues pour être des taxons polluo-tolérants (espèces polluo-tolérantes).

### 3.4.2.3. Diversité diatomique

La diversité diatomique, calculée au moyen de l'indice de Shannon, augmente pour certaines concentrations de toxique, comparée à la diversité observée pour des plus faibles concentrations (Fig. 15, Données confidentielles de TOTAL). La diversité diatomique semble donc être affectée par le toxique étudié.



**Fig. 15.** Evolution de l'effet du MAM sur la réponse « indice de Shannon » des diatomées, en fonction de la concentration en mg/L et du temps en comparant les mésocosmes exposés par rapport aux témoins (étoile jaune :  $\leq 0,05$  ; étoile bleu :  $\leq 0,01$ ). Données confidentielles de TOTAL.

### 3.4.2.4. Formes tératologiques

Sur l'ensemble des comptages, 10 espèces ont montré des déformations valvaires (dont *Achnantheidium minutissimum* Kutzing Czarneci, *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Diatoma ehrenbergii* Kutzing ...etc...). L'évolution de leur abondance est présentée en figure 14. Les plus fortes abondances sont observées pour les concentrations en polluant les plus élevées.

## 3.5. Conclusions de cette étude

Cette étude a confirmé la sensibilité des diatomées au toxique MAM. Parmi les métriques testées, plusieurs les formes de vie différentes semblent être un bon indicateur de la contamination par le

MAM. Il est apparu que l'abondance des taxons colonisateurs et des taxons mobiles diminue lorsque la concentration en MAM augmente, alors qu'une relation inverse est notée pour les taxons coloniaux.

Nous pouvons supposer :

- Une sélection de taxons vivant dans des biofilms épais au sein des canaux les plus pollués (taxons coloniaux et certains taxons mobiles type *Nitzschia*).
  
- Qu'en canal pollué il y ait disparition des taxons colonisateurs, plutôt présents sur les supports décapés et présentant des biofilms fins (cf. *Achnanthydium minutissimum*).

D'autre part, on observe une augmentation de l'abondance des formes tératologiques pour les niveaux en polluant les plus élevés.

## 4. EXEMPLE D'APPLICATION N°2 : LA POLLUTION PAR LES SOUDIÈRES. ÉTUDE IN SITU A L'ÉCHELLE D'UN SITE INDUSTRIEL

### 4.1. Objectifs de cette étude

L'objectif global de cette étude est d'établir un diagnostic de la qualité des eaux du Sânon et de la Meurthe, à l'aval des usines Solvay et Esco sans faire appel à des analyses physico-chimiques mais en utilisant les diatomées comme outil biologique. Nous avons testé ici la pertinence des diatomées à différencier les différents types de pollution présents (pollution par le sel, les micropolluants, rejet d'eau chaude) lors de deux campagnes de prélèvements en juin 2008 et 2009.

### 4.2. Introduction

Les usines Solvay et Esco se situent dans le bassin de la Meurthe, à la confluence de la Meurthe et du Sânon à 17 km en amont de Nancy (Fig. 16 et 17). Bien qu'une partie non négligeable de la salinité soit d'origine naturelle du fait de la géologie particulière de la région, la grande majorité de la salinité mesurée dans le tiers aval de la rivière est due aux rejets des industries lorraines liées au sel. Plusieurs types de perturbations au sein de ces eaux peuvent être citées et qui sont en liaison avec la présence des usines : perturbations chimiques (du calcium, des chlorures et des micropolluants) et physiques (chaleur).

Nous avons jugé pertinent de réaliser une étude précise de la qualité des eaux de la Meurthe et du Sânon au moyen du bio-indicateur diatomée. Les diatomées en effet sont connues être sensibles au sel (Servant-Vildary and Roux 1990 ; Roux *et al.* 1991), à la température de l'eau (Pienitz *et al.* 1995 ; Bloom *et al.* 2003) et aux micropolluants (Torres *et al.* 2000 ; Djomo *et al.* 2004).

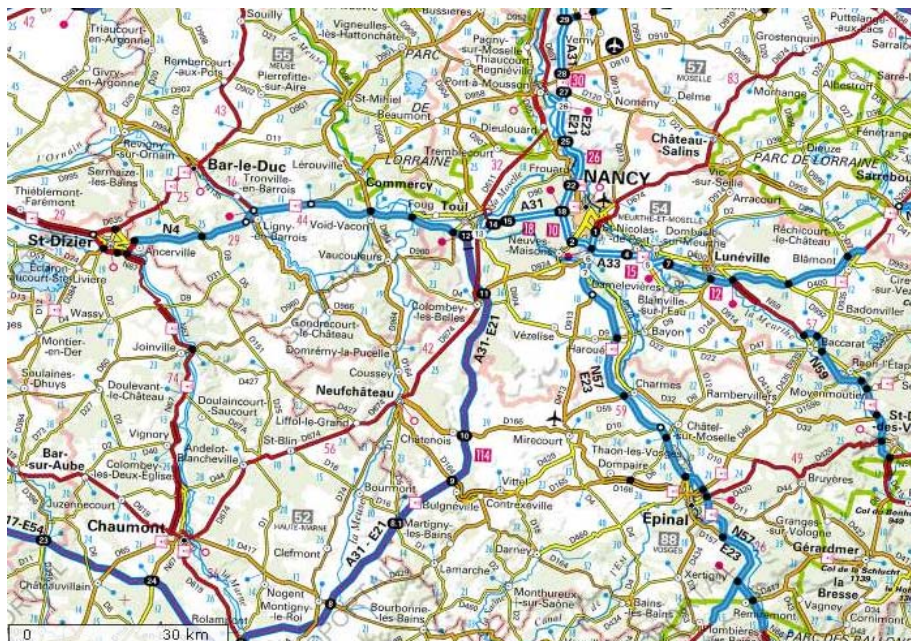


Fig. 16 : Localisation géographique du site d'étude.

### 4.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude

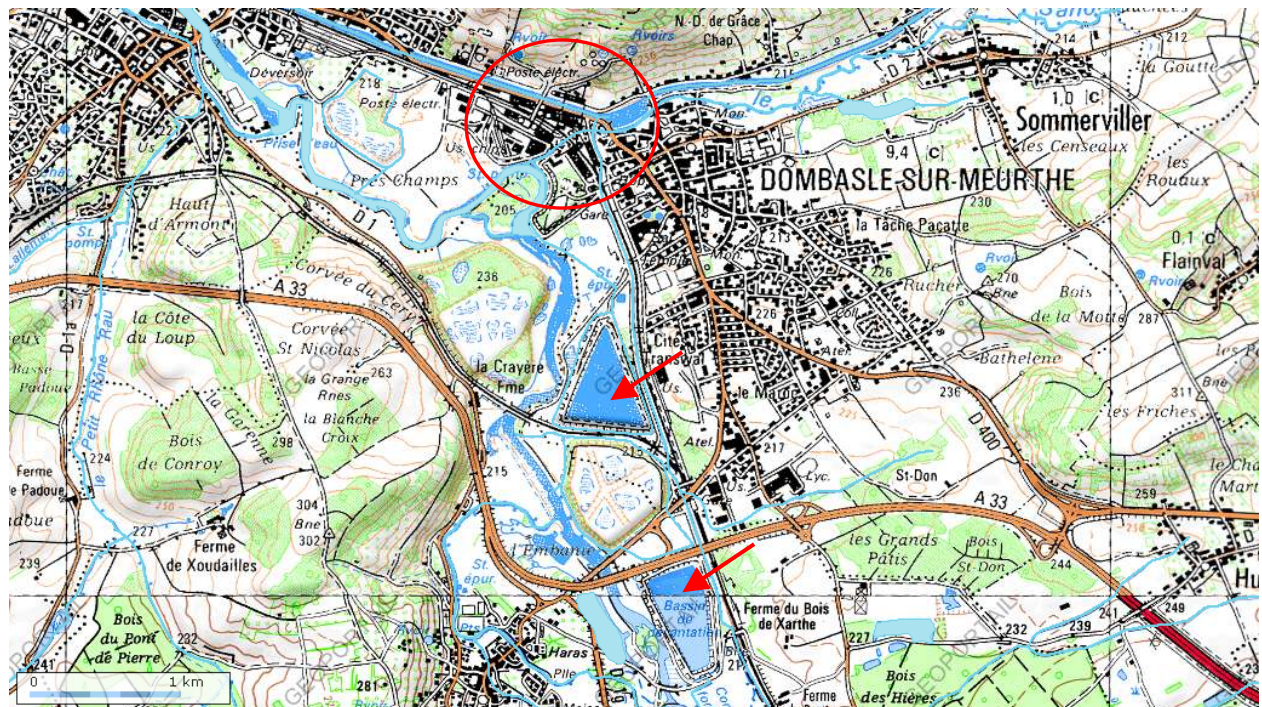
#### *4.3.1. Le site d'étude*

L'usine Solvay (Fig. 17 et 18) est un centre important de production de carbonate de soude et de bicarbonate de soude. Dans les soudières, le sel et le calcaire sont combinés afin de produire du carbonate de soude ( $2 \text{NaCl} + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{CaCl}_2$ ). Cette fabrication génère un sous-produit, le chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ), qui n'est pas économiquement valorisable et qui constitue un rejet salin. Ces chlorures de calcium sont rejetés dans la Meurthe en fonction des débits de la rivière. Des bassins de décantation et de modulation permettent de conserver les rejets en période d'étiage. Ils sont vidés de manière automatique en fonction du débit et de la salinité de la rivière. Par ailleurs, ces industries sont également à l'origine d'une augmentation de la concentration en micropolluants et de la température de l'eau.



**Fig. 17.** Vue générale du site de Solvay à Dombasle-sur-Meurthe.

(<http://www.solvay.fr/solvayenfrance/implantations/dombasle/>)

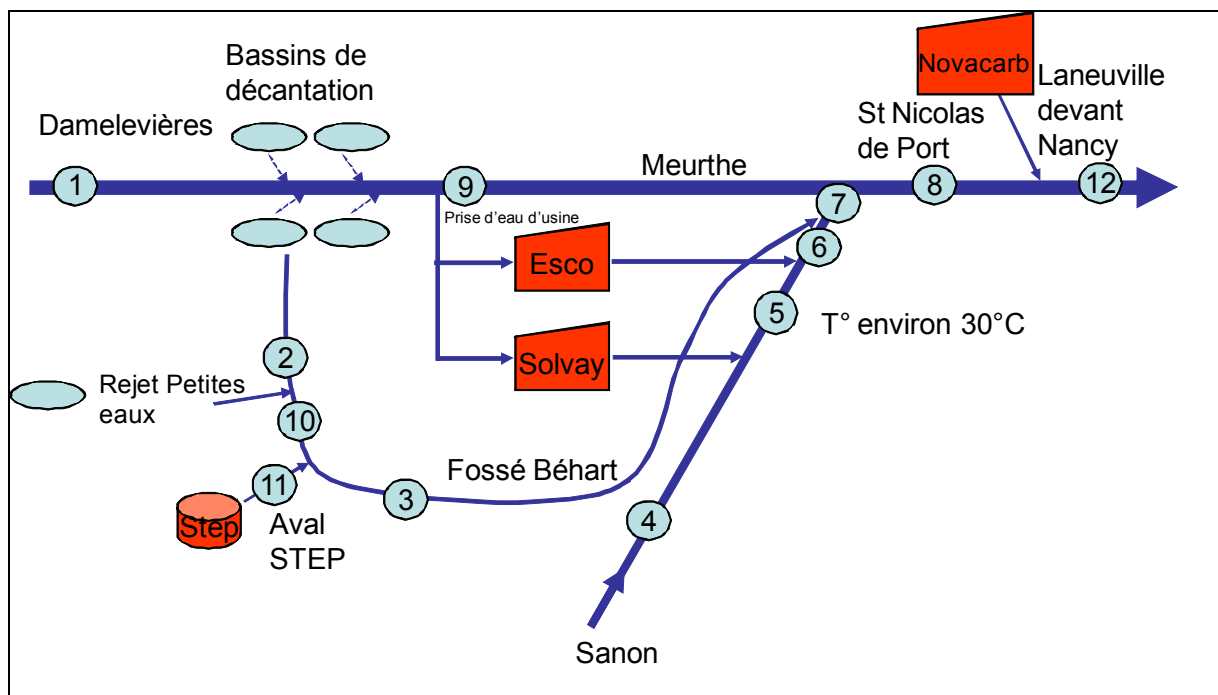


**Fig. 18.** Vue du site géographique de Solvay et Esco à Dombasle-sur-Meurthe : les usine Solvay et Esco (cercle) et les bassins de décantation (flèches).

#### 4.3.2. Présentation des stations étudiées

Pour cette étude, les 12 stations suivantes ont été échantillonnées le 23 juin 2008 et le 18/06/2009 (Fig. 19) :

- 4 stations le long de la Meurthe. La première station (1) se situe en amont du site industriel au niveau de Damelevières. La station suivante (9) se trouve à l'aval de la prise d'eau par les usines et à l'aval des bassins de décantation. Une troisième station (8) se trouve à l'aval de la confluence avec le Sânon au niveau de St. Nicolas de Port. La dernière (12) se trouve à Laneuveville devant Nancy à l'aval de Saint Nicolas de Port et des rejets salins de l'autre soudeuse lorraine (NOVACARB), cette station a été prélevée uniquement en 2009.
- 4 stations le long du Sânon. La première station (4) se situe en amont du site industriel. La deuxième (5) se trouve à l'aval des rejets du site de Solvay et en amont des rejets de Esco. La troisième (6) se trouve à l'aval des rejets des usines Solvay et Esco et enfin la dernière (7) se situe à l'aval de la confluence du fossé Béhart et avant la confluence du Sânon avec la Meurthe.
- 3 autres stations ont été définies le long du fossé Béhart. La première station (2) se situe en amont d'une station d'épuration (STEP) et en amont des rejets « petites eaux ». Vient ensuite la station 10 qui se trouve en amont de la STEP mais à l'aval des rejets « petites eaux ». Enfin, la station 3 se trouve en aval des rejets « petites eaux » et de la STEP. Ces stations ont été prélevées uniquement en 2008.
- 1 station (11) à l'aval direct de la station d'épuration, cette station a été prélevée uniquement en 2009.



**Fig. 19.** Localisation des stations d'échantillonnage prises en compte lors de cette étude. Step : Station d'épuration.



#### 4.4. Résultats

##### 4.4.1. Indice de Polluosensibilité Spécifique IPS

La figure 20 présente la qualité biologique de l'eau obtenue à partir de l'IPS sur l'ensemble des stations, ainsi que les valeurs en chlorures et valeurs de pH mesurées (données communiquées oralement par G. Depelsenaire et M. Hottier le 23/06/08).

Les commentaires généraux suivants peuvent être donnés sur la base des valeurs de l'indice IPS :

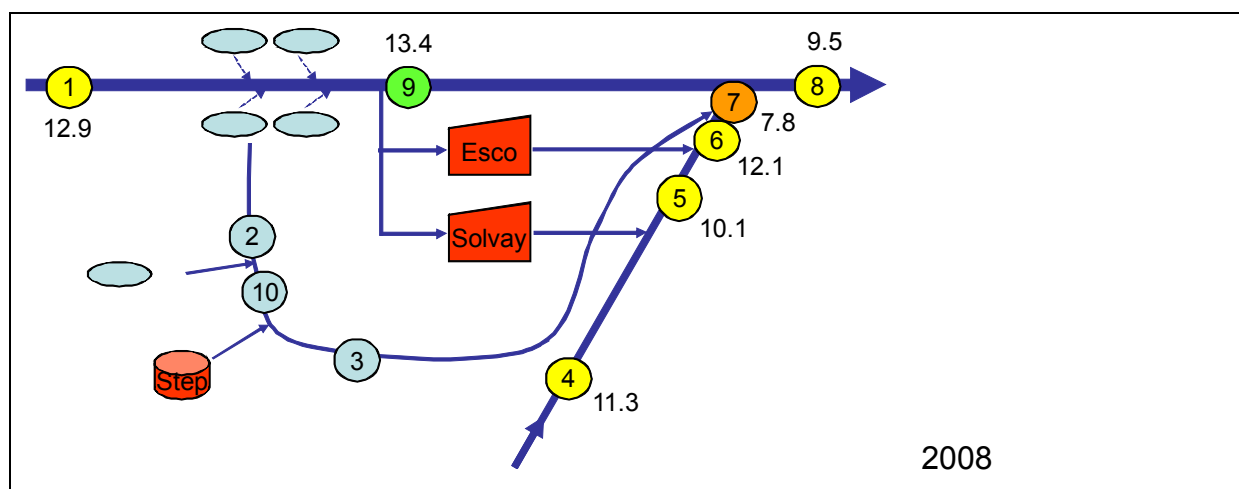
1- La Meurthe : Elle présente une qualité « bonne » à « moyenne ».

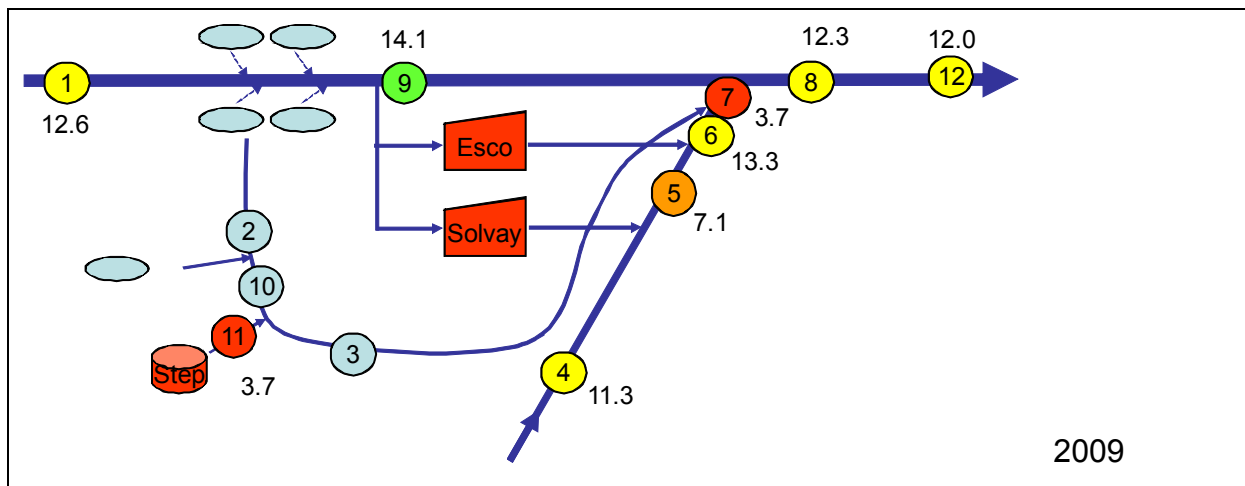
Nous pouvons constater une chute significative de la qualité à l'aval de la confluence avec le Sânon (valeur qui chute de 13,4 à 9,5 en 2008 et de 14,1 à 12,3 en 2009). Les valeurs de l'IBD entre Laneuville devant Nancy et Saint Nicolas de Port sont sensiblement les mêmes.

2- Le Sânon : Il présente une qualité d'eau « moyenne » à « très mauvaise ». L'origine de la pollution est essentiellement due au rejet dans le Sânon du fossé Béhart (diminution de l'IPS de 12,1 à 7,8), mais également à la pollution liée à la STEP (se rejetant dans le fossé Béhart) ; en effet les mêmes taxons polluo-tolérants sont retrouvés (ex : *Navicula veneta*). On note également une diminution de la qualité entre 2008 et 2009 pour la station à l'aval du rejet de Solvay.

3- Le fossé Béhart : La qualité de l'eau du fossé Béhart n'a pas pu être analysée étant donné l'absence de diatomées au sein de cette eau. Cette absence de diatomées peut être reliée aux valeurs élevées de pH (pH de 11) et aux fortes concentrations de sel.

4- La station en aval immédiat de la STEP est de très mauvaise qualité et les taxons dominants (*Navicula veneta*, *Nitzschia palea*, *N. capitelata*) dans cette station sont caractéristiques de pollutions organiques accusées.



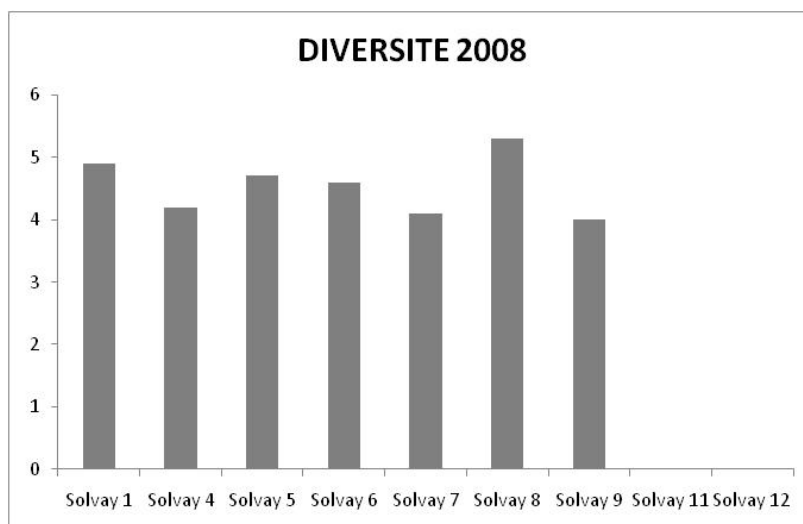


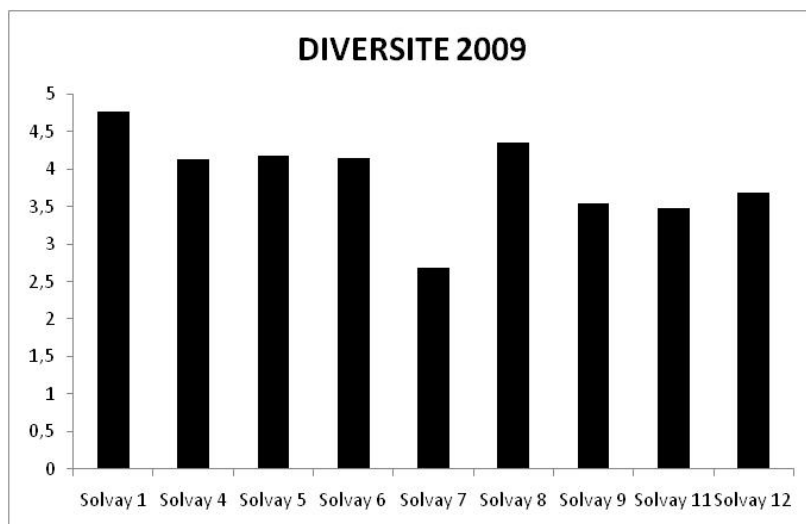
**Fig. 20.** Valeurs de l'IPS pour les différentes stations échantillonnées en 2008 et 2009.

#### 4.4.2. Diversité taxonomique

L'indice de diversité de Shannon est présenté en figure 21 pour les années 2008 et 2009. Suivant l'hypothèse initiale de Connell (1978), appelée « Intermediate Disturbance Hypothesis » qui postule qu'un écosystème atteint une diversité maximale en espèces lorsqu'il est soumis à un régime de perturbations de fréquence et d'intensité moyennes, on aurait pu s'attendre à des diversités différentes. Hors, les résultats obtenus ne montrent pas de changement significatif de la diversité pour l'ensemble des stations étudiées pour l'année 2008.

Par contre pour l'année 2009 cette hypothèse semble mieux s'appliquer : on observe une plus faible diversité pour la station 7, qui est à la fois impactée par des rejets salins et également qui semble influencée par les rejets de la STEP. En effet, des taxons halophiles (*Navicula erifuga*, *N. salinicola*) et des taxons polluo-tolérant et polysaprobe (*Navicula veneta*) sont présents de manière abondante. En 2008, cette station n'était dominée que par des taxons halophiles (*Navicula erifuga*, *N. salinicola*, *Nitzschia aurariae*).





**Fig. 21.** Représentation graphique des indices de Shannon-Weaver pour chaque station d'échantillonnage pour 2008 et 2009 (les stations 2, 10 et 3 prélevées en 2008 ne sont pas présentées car elle ne présentaient pas de diatomées).

#### 4.4.3. Classes de salinité

Les mesures de concentration en chlorures (Fig. 20) mettent clairement en évidence un gradient de salinité le long des trois stations investiguées de la Meurthe avec une salinité qui passe de 15 mg/l (station 1) à 300 mg/l (station 9) puis à 800 mg/l (station 8). Cette augmentation est attribuable aux infiltrations du sel provenant des bassins de décantation d'une part et à la confluence du Sânon d'autre part. Le Sânon a une salinité comprise entre 15 mg/l et 1,5 g/l selon les rejets des usines.

On note que de nombreux taxons de diatomées rencontrés de façon dominante au niveau du site 7 sont typiques de milieux saumâtres (ex : *Entomoneis paludosa*, *Nitzschia sigma*, *Navicula erifuga*, *Navicula salinicola* et *Nitzschia aurariae*) (Fig.22).

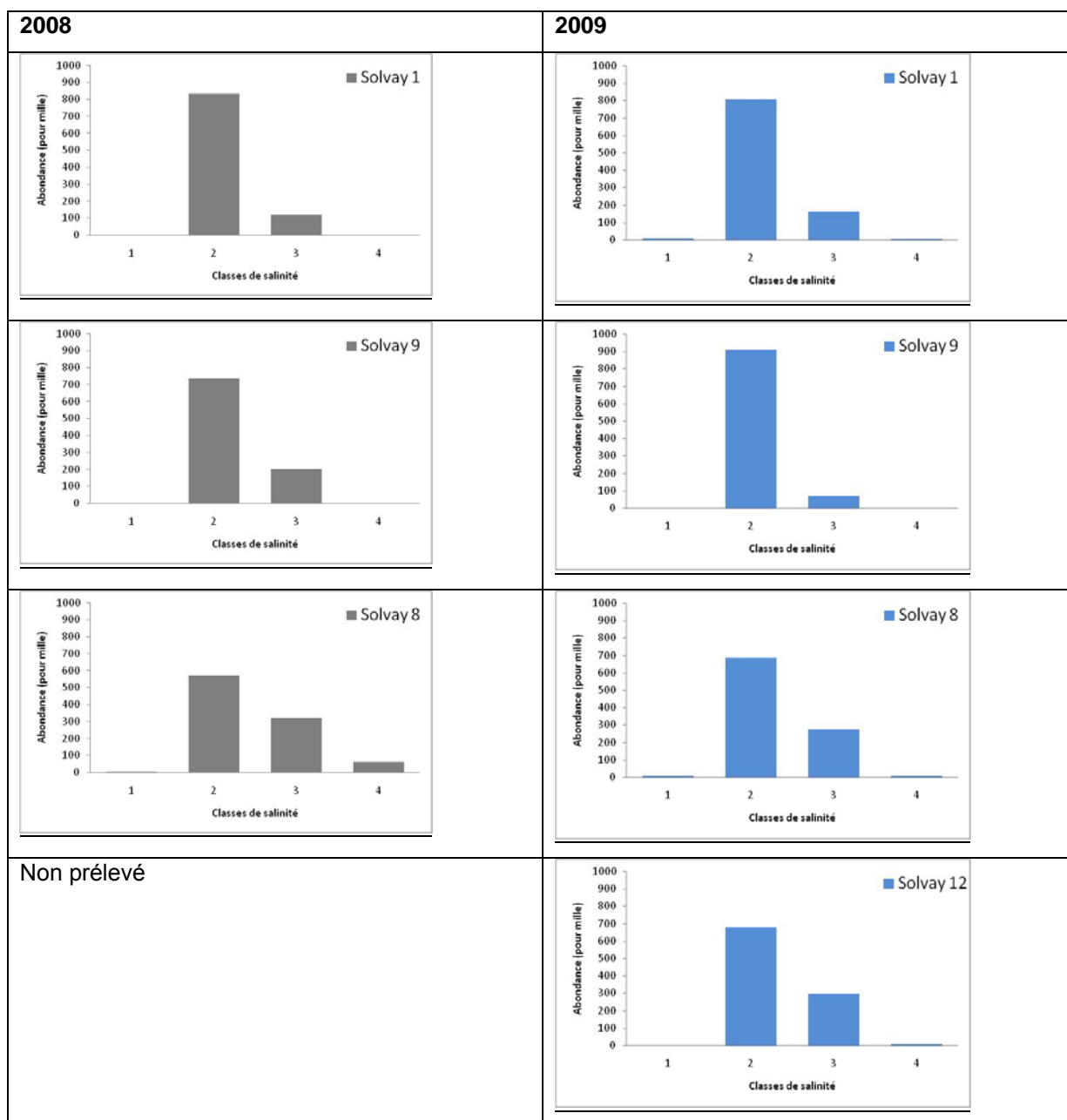


**Fig. 22.** Deux exemples d'espèces caractéristiques de milieux saumâtres échantillonnés au cours de cette étude : *Entomoneis paludosa* à gauche et *Nitzschia sigma* à droite (la barre d'échelle représente 10 µm).

## Meurthe

Les stations d'échantillonnage 1 (amont) et 9 sur la Meurthe présentent des peuplements de diatomées similaires selon la classification de la salinité de Van Dam avec une prédominance de diatomées d'eau douce à légèrement saumâtres, les proportions sont stables entre 2008 et 2009. La station 8, qui se trouve à l'aval de l'affluence du Sânon (et donc à l'aval de rejets salins en provenance des usines) montre un changement de la communauté avec l'apparition de diatomées de milieu saumâtres (Fig. 23). Cette tendance est la même pour 2008 et 2009.

La station 12, prélevée en 2009, présente des proportions de chacune des classe semblable à la station 8.

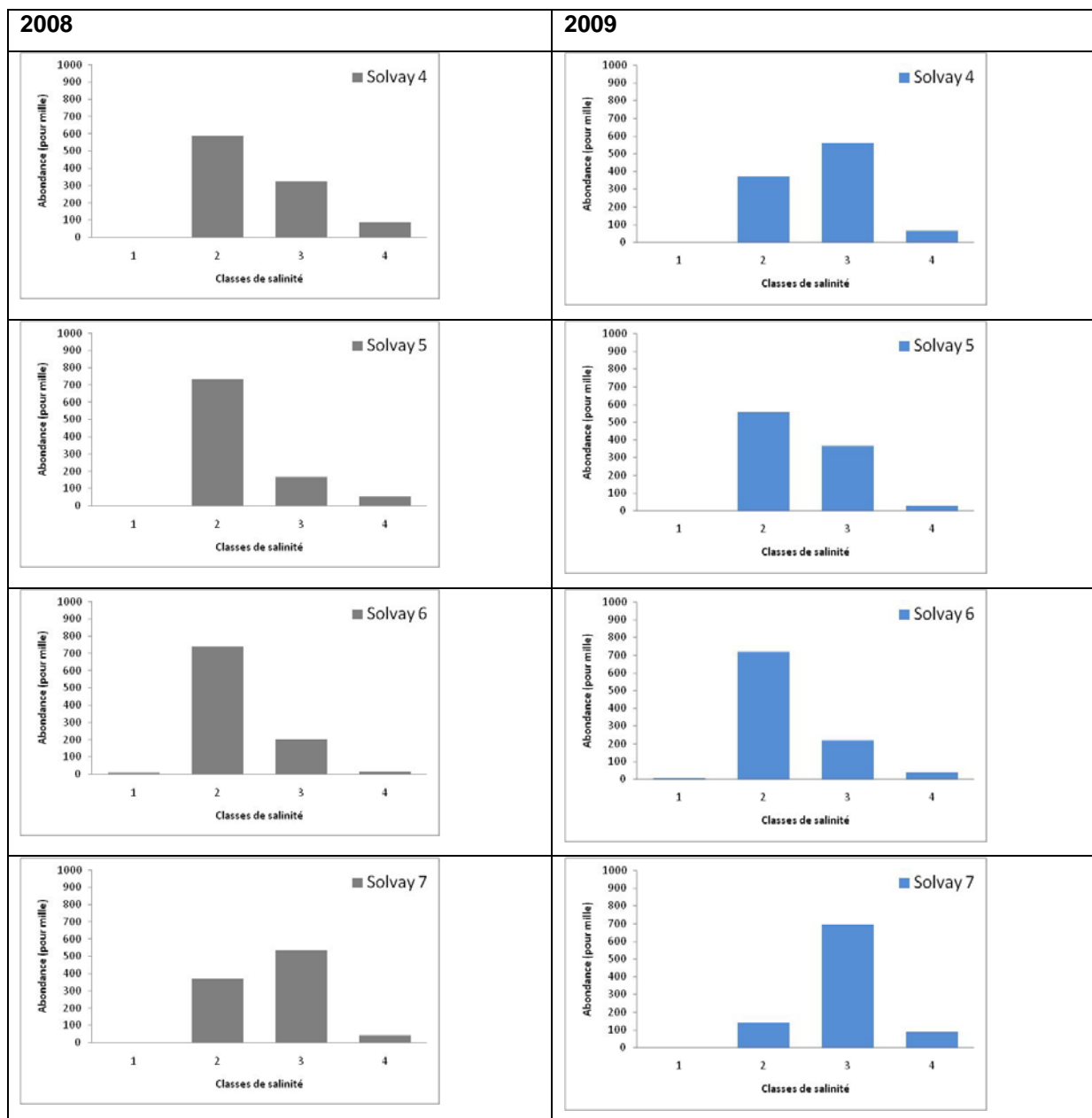


**Fig. 23.** Nombre de diatomées (en pour mille) pour chaque classe de salinité de Van Dam et al. (van Dam *et al.* 1994) pour les stations d'échantillonnage 9, 1 et 8.

## Sânon

La station 4, la plus en amont, présente une majorité des taxons dans les classes douces à légèrement saumâtre et moyennement saumâtre. On note que pour les années 2008 et 2009, la proportion des taxons dans la classe moyennement saumâtre est supérieure aux stations 5 et 6, en effet ces deux stations sont à l'aval d'effluent des Usines Solvay et Esco qui rejettent de l'eau pompée dans la Meurthe, cette eau présente par nature une conductivité inférieure à celle du Sânon.

Enfin, la station 7, située à l'aval du fossé Béhart, présente une dominance, pour les années 2008 et 2009, des taxons pour la classe moyennement saumâtre, ainsi qu'une proportion importante de taxons saumâtres, assez inhabituels en eau douce.



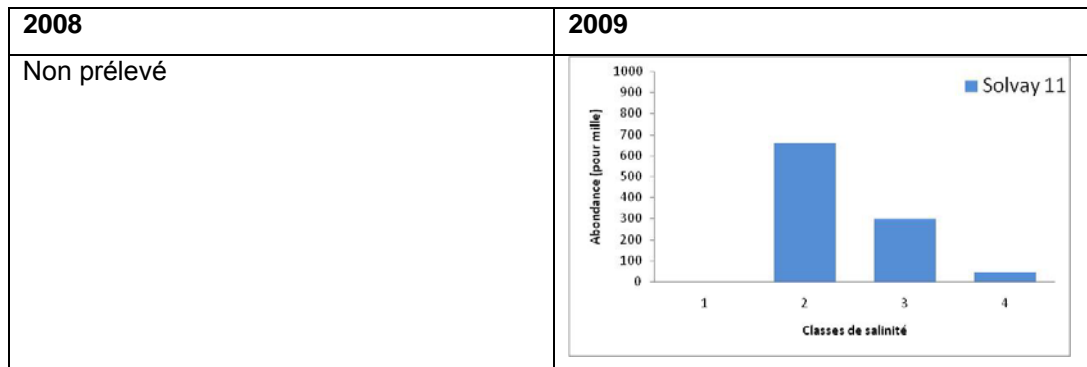
**Fig. 24.** Nombre de diatomées (en pour mille) pour chaque classe de salinité de Van Dam et al. (1994) pour les stations d'échantillonnage 4, 5, 6 et 7.

### Le fossé Béhart

Les classes de salinité selon Van Dam n'ont pas pu être analysées étant donné l'absence totale de diatomées au sein de ce cours d'eau.

### Aval direct de la STEP

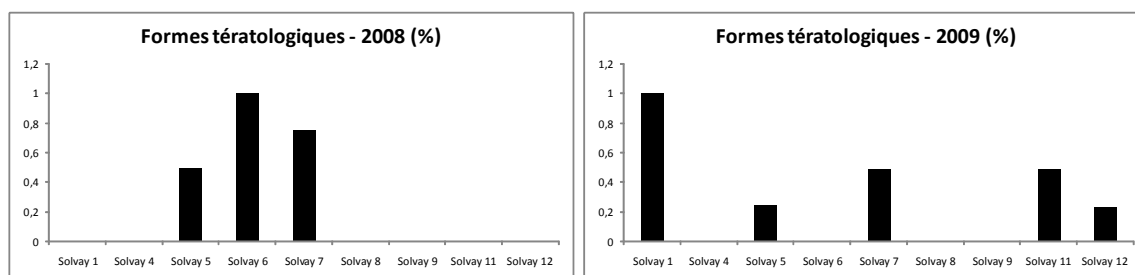
Les taxons présents à l'aval de la STEP sont principalement caractéristiques de forte pollution, mais certains sont également résistants à de fortes conductivités (classe moyennement saumâtre : *Navicula veneta*, *N. gregaria*), et certains, plus rares, sont caractéristiques d'eaux saumâtres (*Nitzschia capitellata*).



#### **4.4.4. Formes tératologiques**

Pour l'année 2008, les stations 5 (aval Solvay), 6 (aval Esco) et 7 (aval fossé Béhart) présentent des formes tératologiques appartenant à différentes espèces (Fig. 25). Pour l'année 2009, les stations 5 et 7 présentent toujours des formes tératologiques à des abondances inférieures. La station 11 (aval de la STEP) présente également des formes tératologiques. On note également que sur la Meurthe, les stations 1 (Meurthe à Damelevières et donc en amont des rejets de sel) et 12 (Meurthe à Laneuille devant Nancy) présente aussi des formes tératologiques.

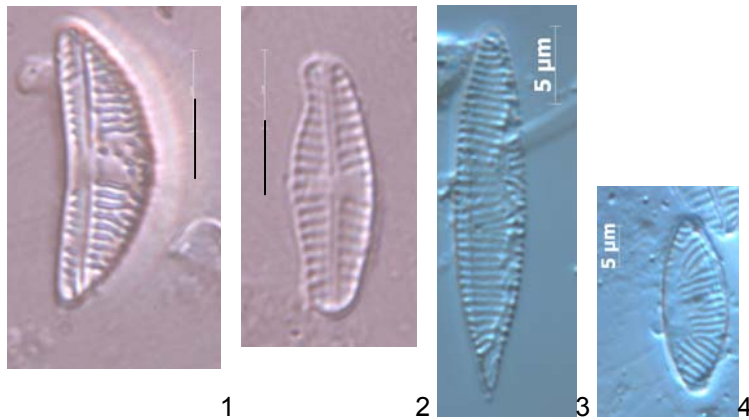
Les formes tératologiques sont classiquement associées à la présence de produits toxiques (cf. revue bibliographique de Falasco *et al.* 2009).



**Fig. 25.** Pourcentage de formes tératologiques par station d'échantillonnage.

Pour l'année 2008, des malformations valvaires ont été trouvées au niveau de la station d'échantillonnage n° 5 (*Amphora copulata* et *Eolimna subminuscula*), au niveau de la station n° 6 (*Nitzschia paleacea*, *Planothidium frequentissimum* et *Amphora pediculus*) et de la station n° 7 (*Navicula erifuga*) (Fig. 26). Pour l'année 2009, des malformations ont été observées pour la station 1

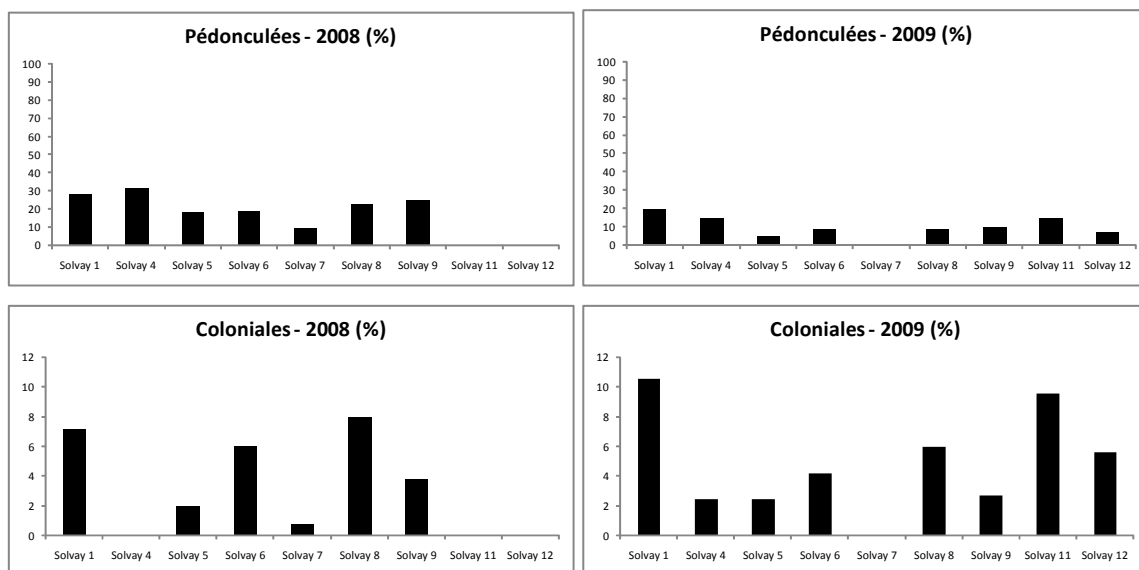
(*Eolimna minima*, *Nitzschia inconspicua*, *Planothidium frequentissimum*), la station 5 (*Nitzschia frustulum*), la station 7 (*Navicula salinicola*, *Nitzschia inconspicua*), la station 11 (*Gomphonema parvulum*, *Nitzschia frustulum*), la station 12 (*Nitzschia frustulum*).

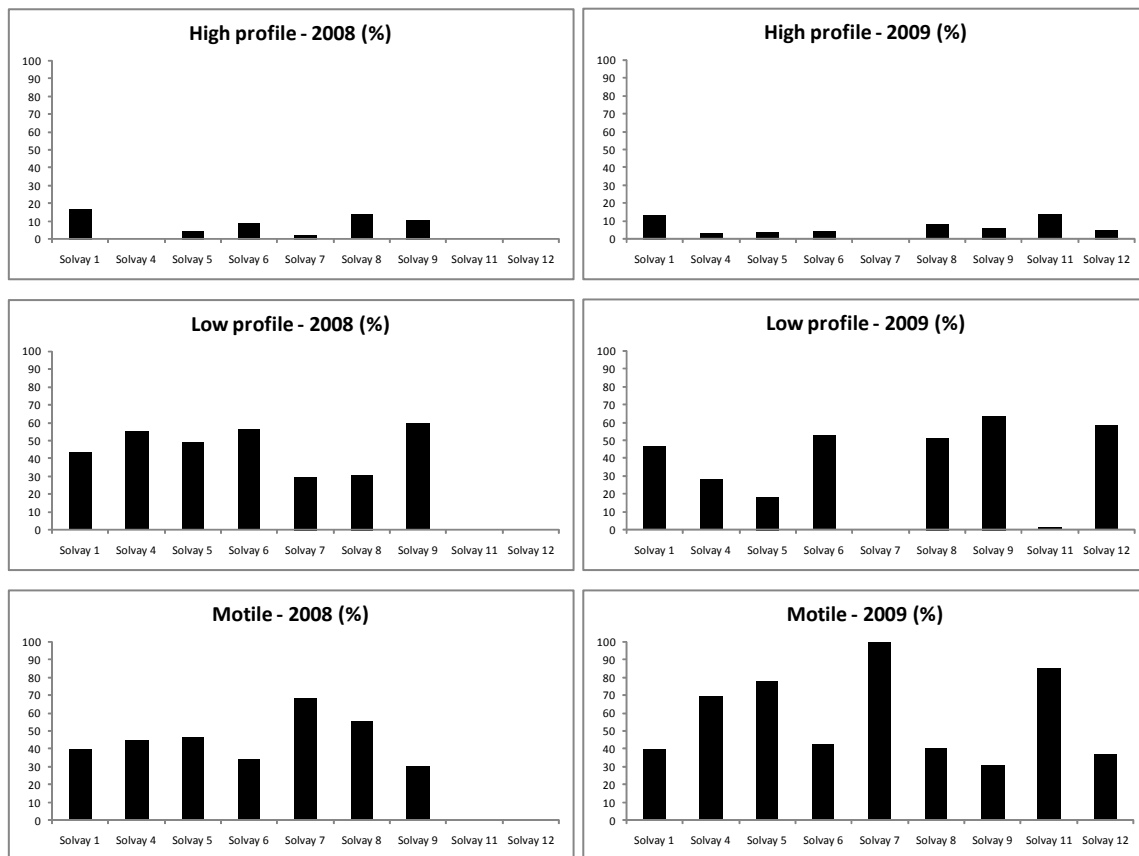


**Fig. 26.** Formes anormales de *Planothidium frequentissimum* (1) et *Amphora copulata* (2) (la barre d'échelle représente 5µm) observées sur le Sânon au niveau des stations 5 et 6 respectivement pour l'année 2008. Formes anormales de *Nitzschia frustulum* (3) et *Navicula salinicola* (4) pour l'année 2009.

#### 4.4.5. Traits biologiques

L'abondance de différents traits biologiques est présentée en figure 27. On note que comparativement aux stations 5 et 6, la station 7 présente une abondance plus faible pour les formes de vie pédonculées et coloniales ainsi que pour la guilde « low profile ». Par contre on observe une augmentation de la guilde « motile » pour la station 7. L'évolution de ces guildes traduit bien une augmentation de la teneur en nutriments et en matière organique dans la station 7. Globalement, les résultats obtenus avec les guildes semblent être assez bien corrélés à ceux de l'indice diatomique IPS.

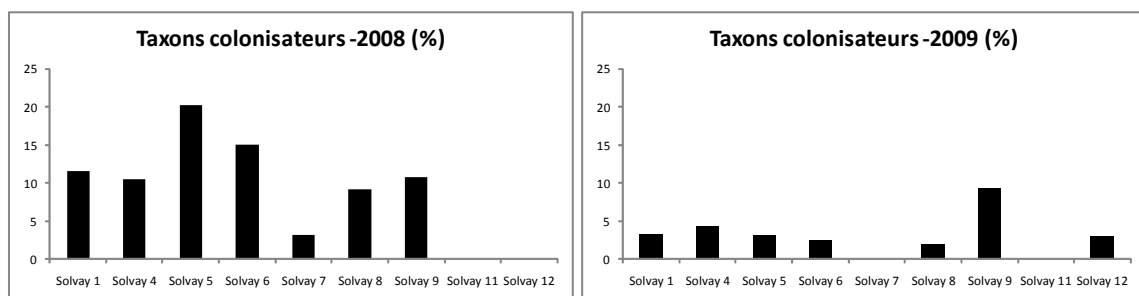




**Fig. 27.** Pourcentage de diatomées à forme de vie pédonculée, coloniale et les guildes écologiques (motile, low profile, high profile) par station d'échantillonnage pour les années 2008 et 2009.

#### 4.4.6. Abondance des taxons colonisateurs/ubiquistes

Nous voulions tester si l'abondance des taxons colonisateurs augmentait avec le niveau de perturbation du milieu. Ce type d'analyse a mis en évidence une augmentation des taxons colonisateurs pour les stations 5 et 6 qui reçoivent les eaux en sortie des usines pour l'année 2008 (Fig. 28), cette tendance n'est pas retrouvée pour l'année 2009. La station 7 qui reçoit en plus les eaux très perturbées du fossé Béhart, ne montre pas plus de taxons colonisateurs, ceci s'explique principalement par le fait que cette station est peuplée de taxons d'eau saumâtres, pour lesquels on ne dispose pas de connaissances sur leur capacité colonisatrice.



**Fig. 28.** Pourcentage de taxons colonisateurs (*Amphora pediculus*, *Achnanthydium minutissimum*) pour chaque station d'échantillonnage.



#### **4.5. Conclusions de cette étude**

Cette étude a permis d'établir un diagnostic de la qualité des eaux du Sânon et de la Meurthe, à l'aval des usines à sel Solvay et Esco sans faire appel à des analyses physico-chimiques mais en utilisant les diatomées comme outil biologique. De façon générale, nous avons mis en évidence une chute de l'IPS liée à une chute de la qualité biologique générale des eaux de la Meurthe à l'aval de la confluence avec le Sânon, et donc à l'aval des usines. En utilisant d'autres métriques, telles que les classes de salinité de Van Dam ou l'analyse des formes tératologiques, nous avons pu mettre en évidence d'autres types de pollution :

- les fortes conductivités mises en évidence par la présence de taxons caractéristiques de milieux légèrement saumâtres à saumâtres :

Ce type de pollution est essentiellement causé par les usines et dans une moindre mesure par la géologie particulière de la région. Les stations directement impactées par les usines sont la station 8 (Meurthe, aval de l'affluence du Sânon) et la station 7 à l'aval des usines sur le Sânon juste avant sa confluence avec la Meurthe. Enfin, l'absence totale de diatomées au sein du fossé Béhart peut être attribuée à un pH de 11 et à une très forte concentration en sel en provenance des bassins de décantation.

- les pollutions toxiques (type micropolluant) mises en évidence par les formes tératologiques :

Parmi les 12 stations, plusieurs ont présenté des formes tératologiques : les stations 1, 5, 6, 7, 11 et 12. Les stations 5, 6 et 7 se trouvent sur le Sânon et reçoivent respectivement les rejets d'eau de l'usine de Solvay, de l'usine de Esco et les eaux du fossé Béhart. La station 11 est en aval direct de la STEP. Les stations 1 et 12 sont situées sur la Meurthe respectivement à Damelevières et à Laneuville devant Nancy. La présence de ces formes est classiquement reliée à la présence de substances toxiques dans le milieu (cf. revue bibliographique de Falasco et al. 2009). Il faut cependant souligner que les abondances observées sont faibles.

Par contre, nous n'avons pas pu mettre en évidence les effets de la pollution thermique qui existe à l'aval des rejets des usines Esco et Solvay. Ces rejets entraînent en effet une augmentation significative de la température de l'eau à leur aval direct. On aurait pu s'attendre à l'apparition de taxons tropicaux comme cela peut l'être à l'aval de rejet d'eaux chaudes de sites nucléaires. Cependant aucune espèce de ce type n'a été observée.

En conclusion, nous recommandons d'utiliser les classes de salinité de Van Dam. L'analyse des formes tératologiques pourrait être préconisée après approfondissement, il serait cependant nécessaire d'établir des abondances seuil permettant d'alerter sur un risque toxique.

## 5. EXEMPLE D'APPLICATION N°3 : LA POLLUTION PAR LES MICROPOLLUANTS : ETUDE IN SITU A L'ECHELLE REGIONALE DES RIVIERES DU BASSIN RHIN-MEUSE

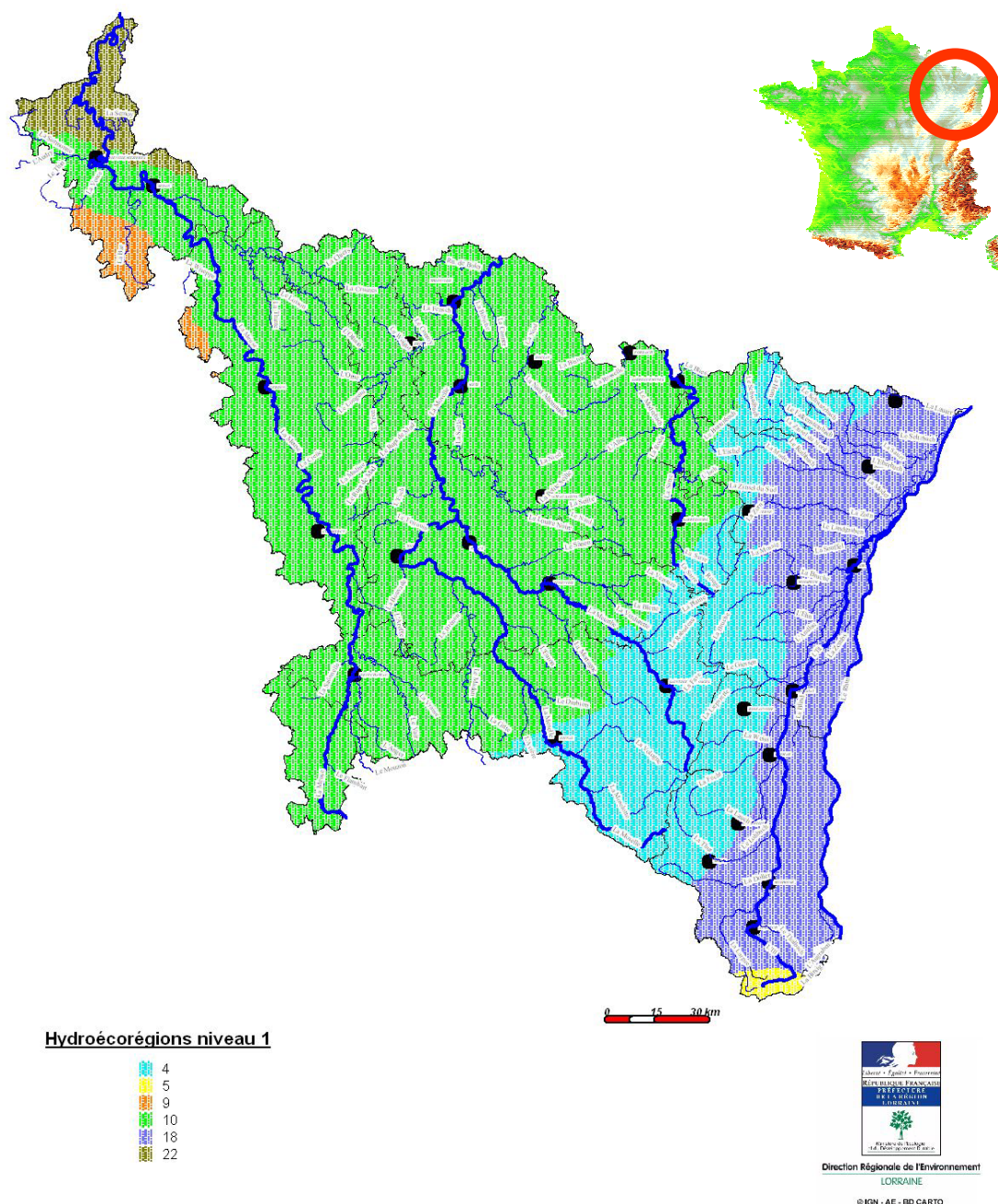
### **5.1. Objectifs de cette étude**

L'objectif de cette étude est de tester sur un nombre important de données l'impact des micropolluants sur différentes métriques mesurées à partir des diatomées. Les données sur lesquelles a porté cette étude proviennent du réseau de contrôle de surveillance des rivières du bassin Rhin-Meuse (de 2000 à 2005). Les indices du SEQ-eau (Système d'Evaluation de la Qualité de l'eau) PEST (Pesticide), HAP, MPOR (micropolluants organiques), MPMI (micropolluants minéraux) ont été utilisés comme proxy des pollutions toxiques. D'autres indices du SEQ-eau tels que MOOX (matières organiques oxydables) et PHOS (matières phosphorées) ont également été testés sur ce jeu de donnée afin de comparer l'impact de pollutions plus connues sur les diatomées à l'impact de pollutions toxiques (pesticides, HAP, micropolluants organique et minéraux).

### **5.2. Introduction**

Le bassin Rhin-Meuse se situe au nord-est de la France. Cinq hydro-écorégions sont présentes sur cette aire d'étude :

- Les Ardennes (HER 22 sur la figure 29) : massif montagneux, de géologie cristalline. Cette écorégion est dominée par la forêt et l'agriculture.
- Les Côtes calcaires et tables calcaires (HER 9 et 10) : plaines et coteaux de géologie sédimentaire (majoritairement calcaire). Cette écorégion est dominée par l'agriculture dans la vallée de la Meuse et par l'industrie dans la vallée de la Moselle.
- Les Vosges (HER 4) : massif montagneux, de géologie cristalline. Cette écorégion est dominée par la forêt, l'agriculture et une activité industrielle dans les vallées.
- La Plaine d'Alsace (HER 18) : plaine de géologie sédimentaire, avec de nombreux cours d'eau phréatiques. Cette écorégion est dominée par l'agriculture et également l'industrie.



**Fig. 29** : Localisation géographique de l'aire d'étude. 4 : Vosges, 5 : Jura et Préalpes du Nord, 9 : Tables calcaires, 10 : Plateaux calcaires, 18 : Plaine d'Alsace, 22 : Ardennes.

### **5.3. Matériel et Méthodes spécifiques à cette étude**

#### ***5.3.1. Base de données diatomées***

Cette base de données est constituée de 996 échantillons de diatomées prélevés de 2000 à 2005 sur les bassins Meuse, Moselle Sarre et Rhin. Il s'agit de prélèvements estivaux réalisés en conformité avec la norme NF-T 90-354 de l'IBD.

Un total de 689 taxons a été identifié. Pour des raisons de limitations des outils informatiques utilisés, une sélection des 220 taxons de diatomées les plus abondants a été réalisée pour ensuite effectuer les analyses statistiques.

### 5.3.2. Base de données physico-chimique

Associé à ces 996 échantillons de diatomées, des mesures physico-chimiques ont été collectées. De cette manière, le rang de Strahler (qui détermine l'ordre d'un cours d'eau et qui peut être utilisé comme proxy de sa taille), ainsi que les classes des indices SEQ-eau correspondant à l'année d'échantillonnage diatomée ont été collectées à partir du Système d'Information sur l'Eau de l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse. Les valeurs des indices étant parfois manquantes, nous avons préféré travailler sur les classes de ces indices SEQ-eau.

Les échantillons de diatomées pour lesquels les données physico-chimiques étaient manquantes n'ont pas été utilisés.

### 5.3.3. Les indices du SEQ testés

Le SEQ-Eau (Système d'évaluation de la Qualité de l'Eau) permet d'évaluer la qualité de l'eau et son aptitude à assurer certaines fonctionnalités : maintien des équilibres biologiques, production d'eau potable, loisirs et sports aquatiques, etc ... Ce système d'évaluation prend en compte 156 paramètres de qualité d'eau, regroupés en 15 indicateurs : matières organiques oxydables (MOOX), matières phosphorées (PHOS), pesticides (PEST), micropolluants organiques (HAP, PCB), micropolluants minéraux (Zn, Cu, Cd, As...), température, minéralisation, acidification, etc ...

Le tableau 1 reprend les données disponibles pour les différents indices du SEQ-eau lorsqu'elles sont croisées aux échantillons de diatomées. Le nombre de stations différentes concernées est également donné.

Tableau 1 : Nombre de données disponibles correspondant aux échantillons de diatomées pour chacun des indices SEQ-eau étudiés. Le nombre de stations différentes concernées est également donné.

Intitulé de l'indice	Nombre de données disponibles	Nombre de stations
PEST eau	174	84
MPMI	243	101
MPOR	265	182
HAP sur eau brute	59	57
HAP sur sédiments	65	40
MOOX	744	278
PHOS	744	278

Pour cette étude, nous nous sommes attachés aux indices micropolluants PEST, HAP, MPMI et MPOR car ce sont ceux qui présentaient le plus de données correspondant aux échantillonnages diatomées. Les indices MOOX et PHOS ont également été testés afin de comparer l'effet des

micropolluants à des types de pollutions plus connus (l'indice PHOS correspondant à un niveau trophique et l'indice MOOX correspondant à un niveau saprobique).

Un bref descriptif de ces indices est donné ci-dessous :

- PEST eau (SEQ-Eau v2) :
  - Indice Pesticides sur eau brute
  - Prend en compte 74 pesticides (dont atrazine, DDT, Alachlore ...)
  - Des classes de qualité sont définies pour chaque paramètre, le paramètre le plus déclassant donne la valeur de l'indice
- HAP (SEQ-Eau v2) :
  - Indice HAP et Indice HAP sédiments, l'indice HAP n'a pas été retenu car il ne présentait que 2 classes de qualité sur notre aire d'étude (qualité moyenne ou mauvaise) : ceci représente un gradient insuffisant pour observer des évolutions d'abondance des formes de vie en fonction des classes de qualité.
  - Prennent en compte 16 HAP (ex: fluoranthène, pyrène ...)
  - Paramètre le plus déclassant
- MPOR (SEQ-Eau v2) :
  - Indice micropolluants organiques sur eau brute,
  - Prend en compte des hydrocarbures (PCB, HAP, phénols...), ne prend pas en compte les pesticides
  - Paramètre le plus déclassant
- MPMI (SEQ-Eau v2) :
  - Indice micropolluants minéraux sur eau brute
  - Prend en compte 9 métaux lourds (Cd, Cr, Ni, etc...)
  - Paramètre le plus déclassant
- MOOX (SEQ-Eau v1) :
  - Indice Matières organiques et oxydables (eau brute).
  - Prend en compte les paramètres suivants : Oxygène dissous, O<sub>2</sub>%, DBO, DCO, KMnO<sub>4</sub>, COD, NH<sup>4+</sup>, NKJ
  - Paramètre le plus déclassant
- PHOS (SEQ-Eau v1) :
  - Indice Matières phosphorées (eau brute)
  - Prend en compte les paramètres suivants : Phosphore total, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>
  - Paramètre le plus déclassant.

### ***5.3.4. Analyses statistiques***

#### **5.3.4.1. Analyses discriminantes**

Afin de tester l'impact d'un type de pollution (pesticides, HAP, matière organique oxydable ou matières phosphorées) sur les différentes métriques mesurées sur les diatomées, des analyses discriminantes

ont été calculées pour chaque indice (PEST, HAP, MPOR, MPMI, MOOX et PHOS). Ces analyses permettent d'évaluer quelle métrique discrimine le mieux les classes de qualité estimées par chacun de ces indices.

#### 5.3.4.2. Box Plot

Pour les métriques présentant les réponses les plus fortes selon les analyses discriminantes, des box-plots ont été représentés pour évaluer le sens de la relation (augmentation de l'abondance de la forme de vie, ou diminution lorsque le niveau de pollution augmente).

#### 5.3.4.3. Comparaisons multiples de moyenne

Pour les métriques présentant les réponses les plus fortes selon les analyses discriminantes, des ANOVA sont réalisées (si les données ne sont pas normales, un test de Kruskal-Wallis est calculé). Si l'ANOVA montre une différence significative entre les classes de qualité, des comparaisons multiples sont calculées (Méthode de Dunn).

### **5.4. Résultats**

#### ***5.4.1. Analyses discriminantes***

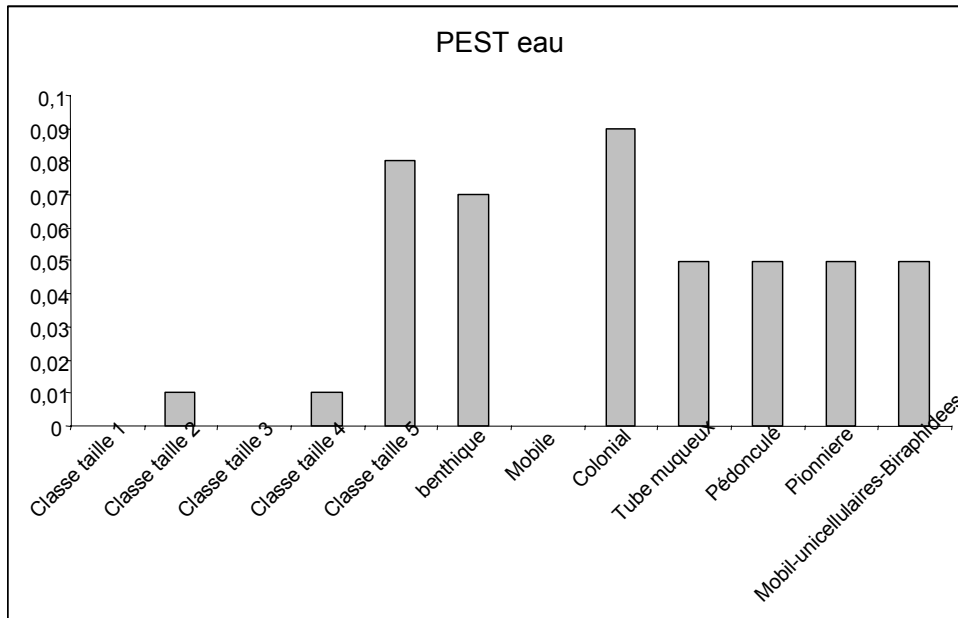
6 analyses discriminantes ont été calculées sur les 6 indices séparément :

- |                  |         |
|------------------|---------|
| - PESTeau,       | - MPOR  |
| - HAP sédiments, | - MOOX  |
| - MPMI,          | - PHOS, |

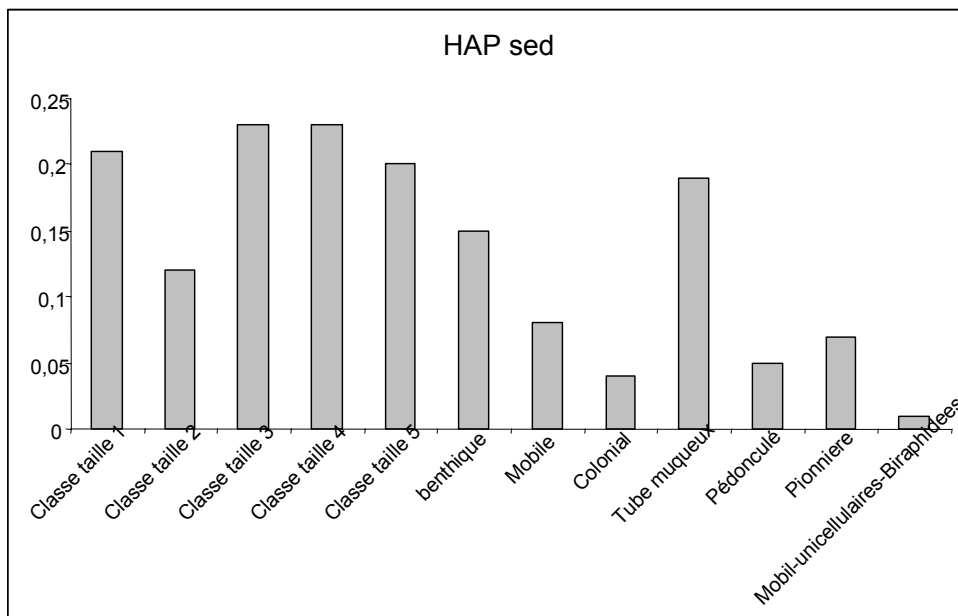
12 formes de vie ont été testées :

- classes de taille 1, 2, 3, 4, 5
- benthique,
- mobile,
- colonial
- tube muqueux
- pédonculé
- pionnière
- mobile unicellulaire biraphidée

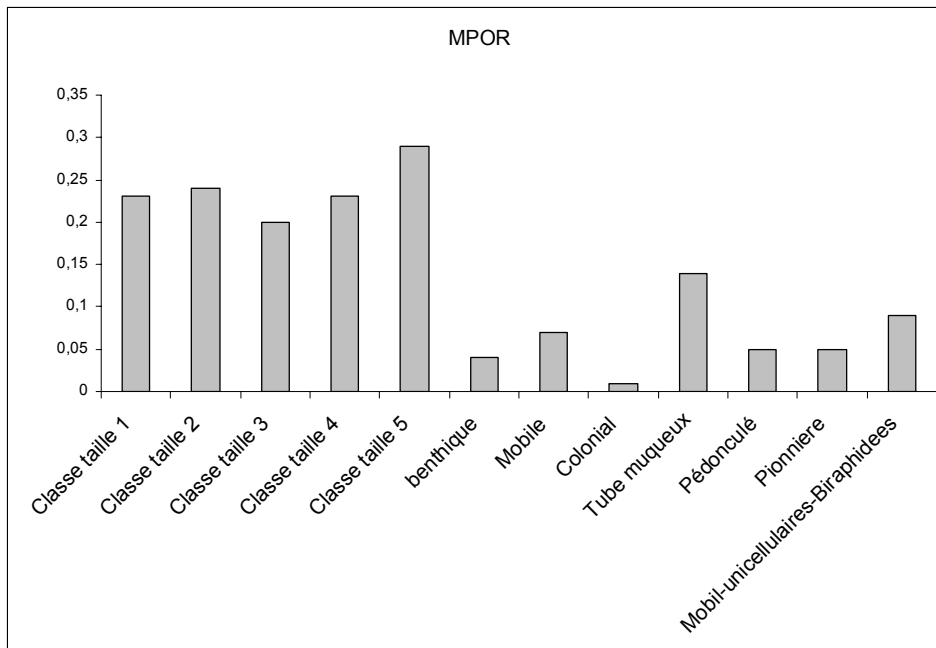
Les figures 30 à 35 donnent les résultats de ces analyses. Plus la valeur absolue du coefficient canonique de la métrique sur le premier axe (en ordonné) est élevée, plus cette métrique permet de discriminer les classes de qualité de l'indice testé.



**Fig. 30.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice PEST eau. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice PEST eau.

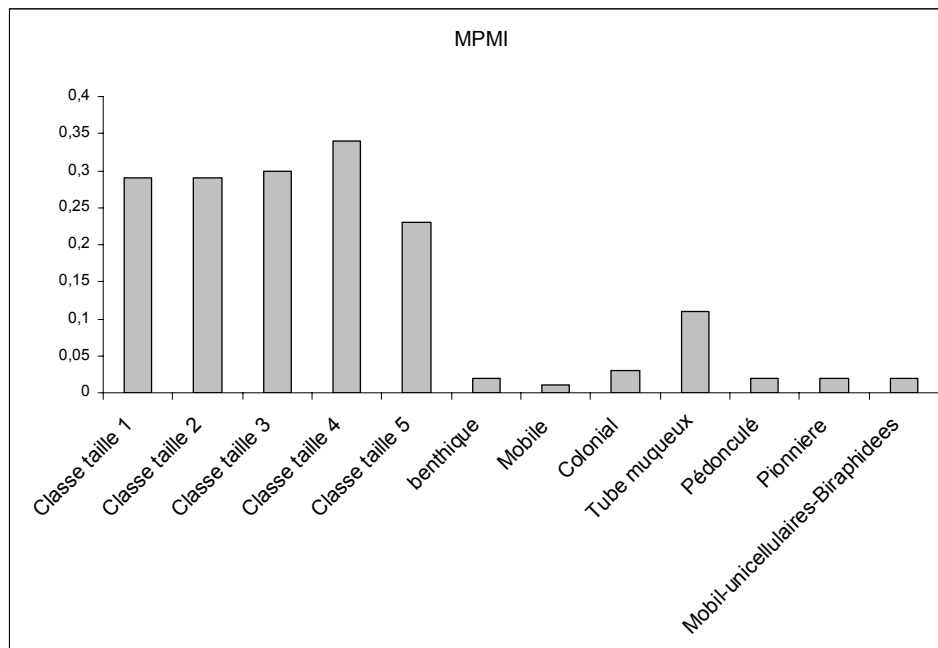


**Fig. 31.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice HAP sédiments. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice HAP sédiments.

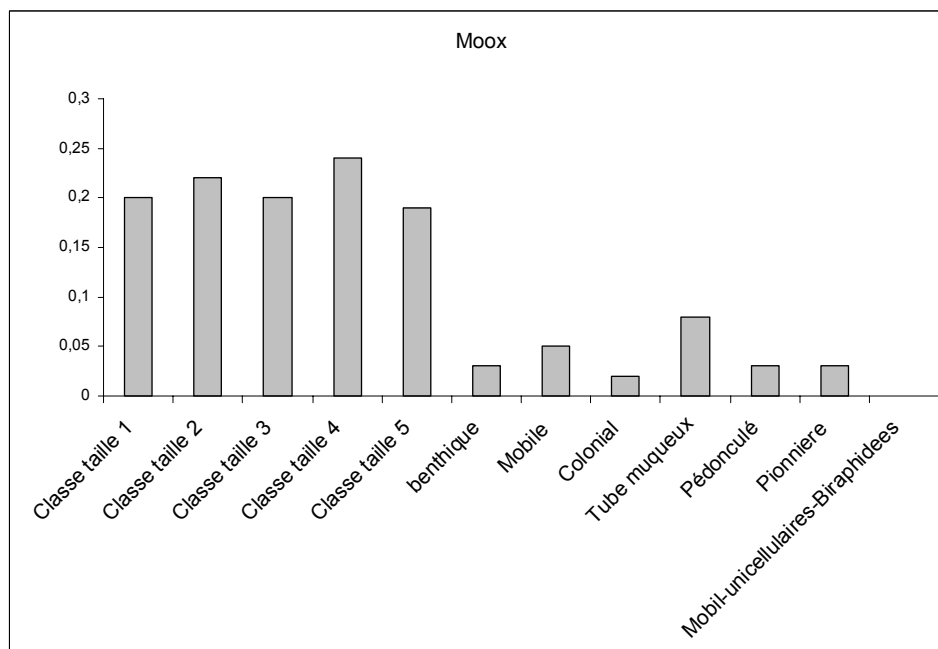


**Fig. 32.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice MPOR. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice MPOR.

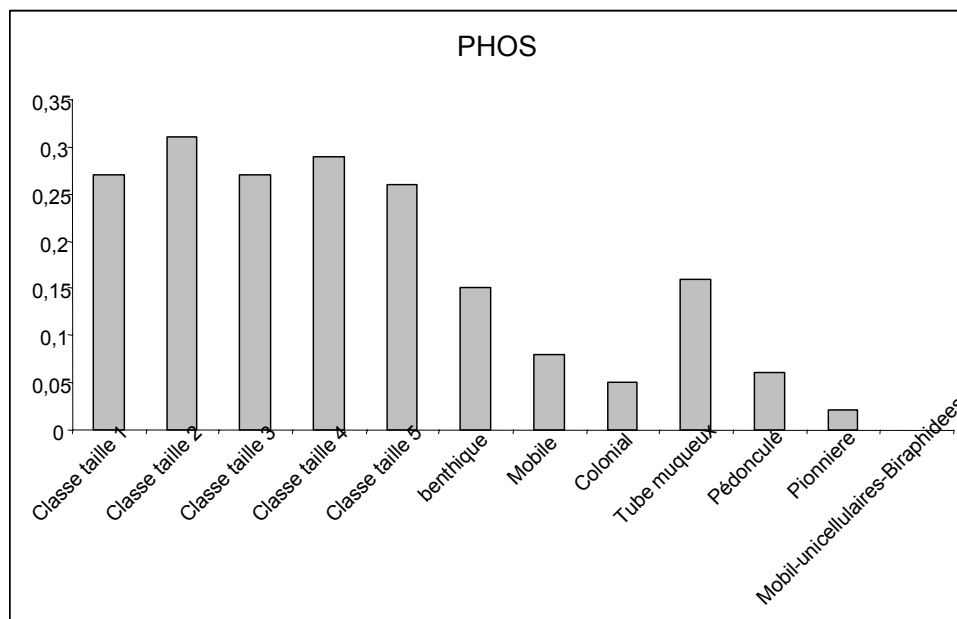




**Fig. 33.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice MPMI. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice MPMI.



**Fig. 34.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice MOOX. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice MOOX.



**Fig. 35.** Analyse discriminante réalisée sur l'indice MOOX. Les valeurs absolues du coefficient canonique de chaque métrique sont représentées sous forme de bâton. Une valeur élevée indique que la métrique discrimine bien les classes de qualité de l'indice MOOX.

#### 5.4.2. Box-plots et comparaisons multiples

##### 5.4.2.1 Indice PEST (Pesticides sur eau brute)

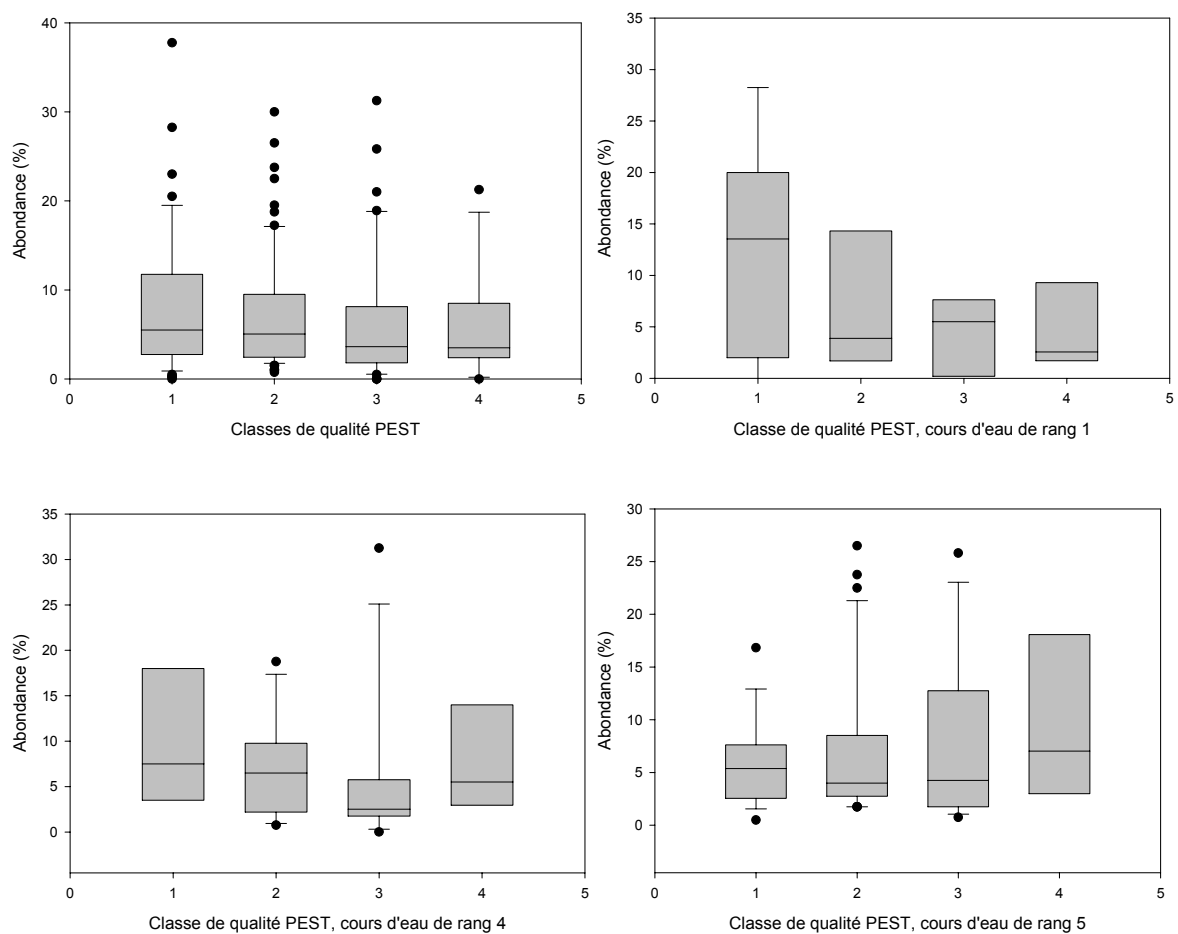
Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice PEST, 7 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice PEST) supérieure aux autres. Par conséquent, les box plot de ces formes de vie (classe de taille 5, benthique, colonial, tube muqueux, pédonculé, pionnière) ont été représentées aux figures 36 à 41 (forme de vie mobile unicellulaire biraphidée non représentée).

Les communautés de diatomées changent naturellement de l'amont vers l'aval d'un cours d'eau (« downstream effect », (Potapova and Charles 2002)). Afin de réduire cet effet amont-aval, nous avons étudié l'évolution de l'abondance des formes de vie par taille de cours d'eau. De cette façon, pour chaque taille de cours d'eau, 4 box plot sont représentés :

- un box plot regroupant tous les ordres de cours d'eau (du rang 1 au rang 6) (174 échantillons répartis sur 80 stations différentes)
- un box plot pour les cours d'eau de rang 1 (31 échantillons répartis sur 19 stations différentes)

- un box plot pour les cours d'eau de rang 4 (42 échantillons répartis sur 16 stations différentes)
- un box plot pour les cours d'eau de rang 5 (42 échantillons répartis sur 16 stations différentes)

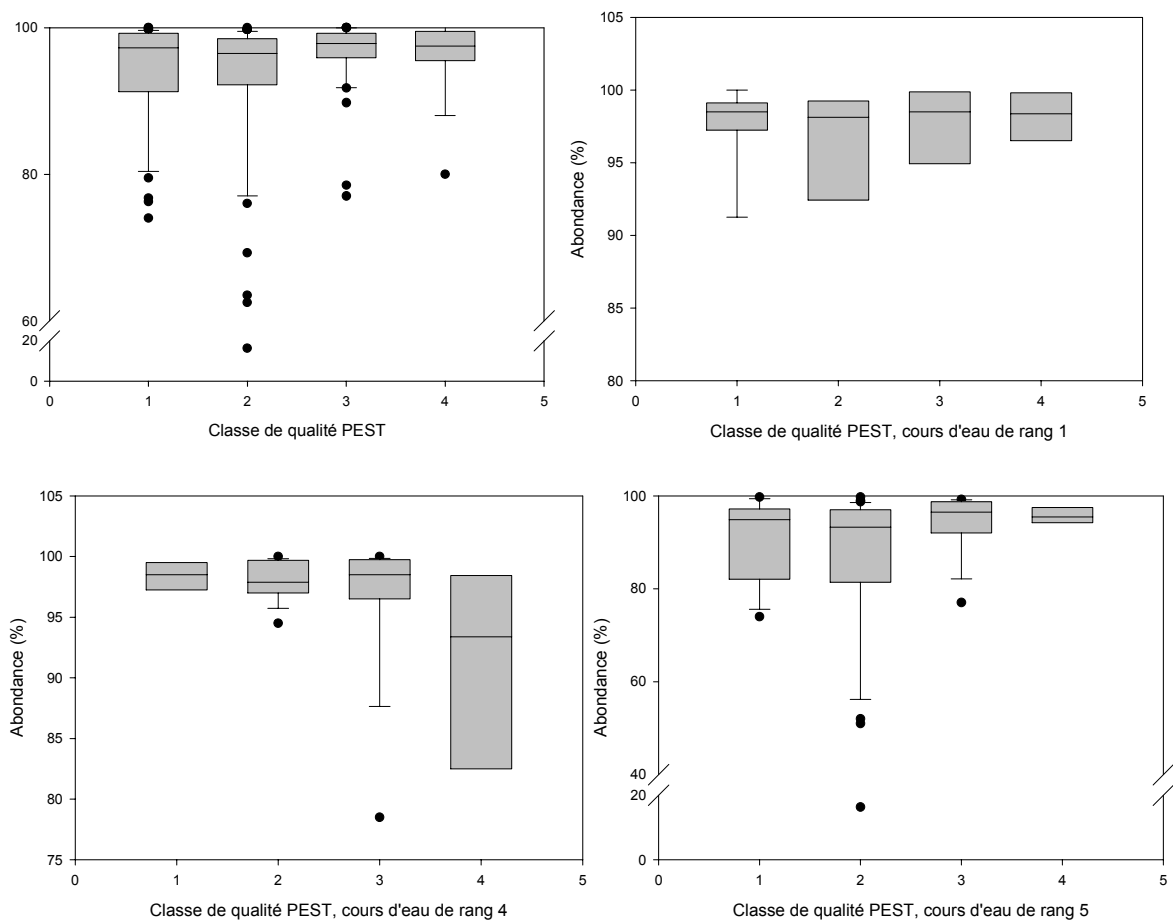
Les cours d'eau de rangs 2 (3 échantillons), 3 (20 échantillons), et 6 (13 échantillons) présentaient un nombre de données insuffisant pour réaliser des représentations.



**Fig. 36.** Abondance des taxons de la classe de taille 5 en fonction des classes de qualité PEST (1: bonne qualité, 2: moyenne qualité, 3: mauvaise qualité, 4: très mauvaise qualité) pour les cours d'eau tous rangs de Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les classes de qualité lorsque les cours d'eau de tous rangs sont comparés, ni lorsque les cours d'eau sont séparés par rangs (1, 4 et 5).

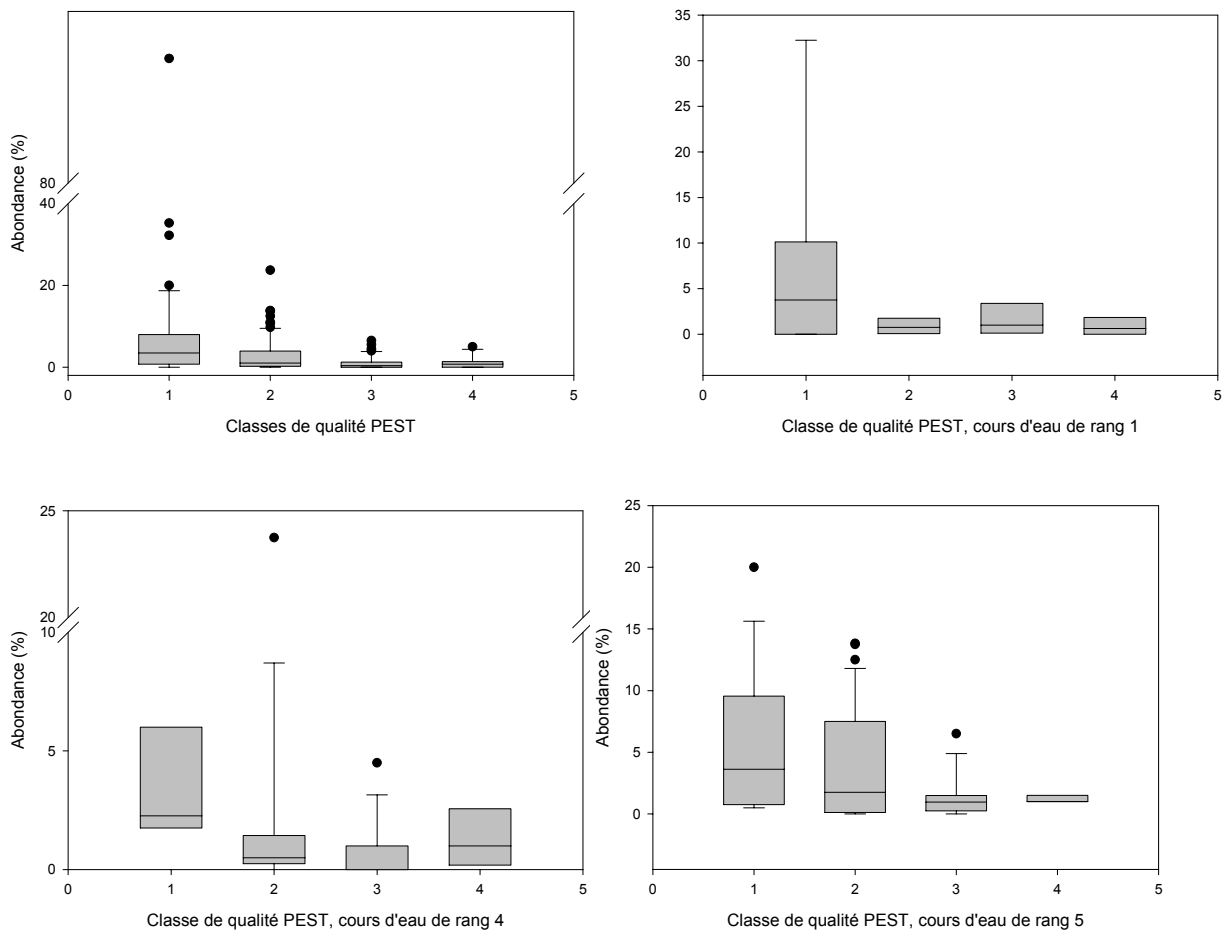
On remarque cependant que les tendances sont plus marquées lorsque les cours d'eau sont pris par rangs séparés, ces tendances peuvent être opposées : baisse de l'abondance des diatomées de taille 5 dans les petits cours d'eau (rang 1), et à l'opposé, augmentation de leur abondance dans les grands cours d'eau (rang 5).



**Fig. 37.** Abondance des taxons de type benthique en fonction des classes de qualité PEST (1 : bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité, 4 : très mauvaise qualité) pour les cours d'eau tous rangs de Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il n'y a pas de différence significativement entre les classes de qualité, ni lorsque les cours d'eau sont séparés par rangs (1, 4 et 5).

On note cependant une très légère augmentation de l'abondance des taxons benthiques lorsque le niveau de pollution par les pesticides augmente, sauf dans le cas des cours d'eau de rang 4. Cette tendance à la diminution pour les cours d'eau de rang 4 est cependant à pondérer du fait du faible nombre de données pour la classe de qualité rouge (seulement 4 échantillons). Un nombre supérieur de données serait requis pour confirmer cette tendance pour les cours d'eau de rang 4.

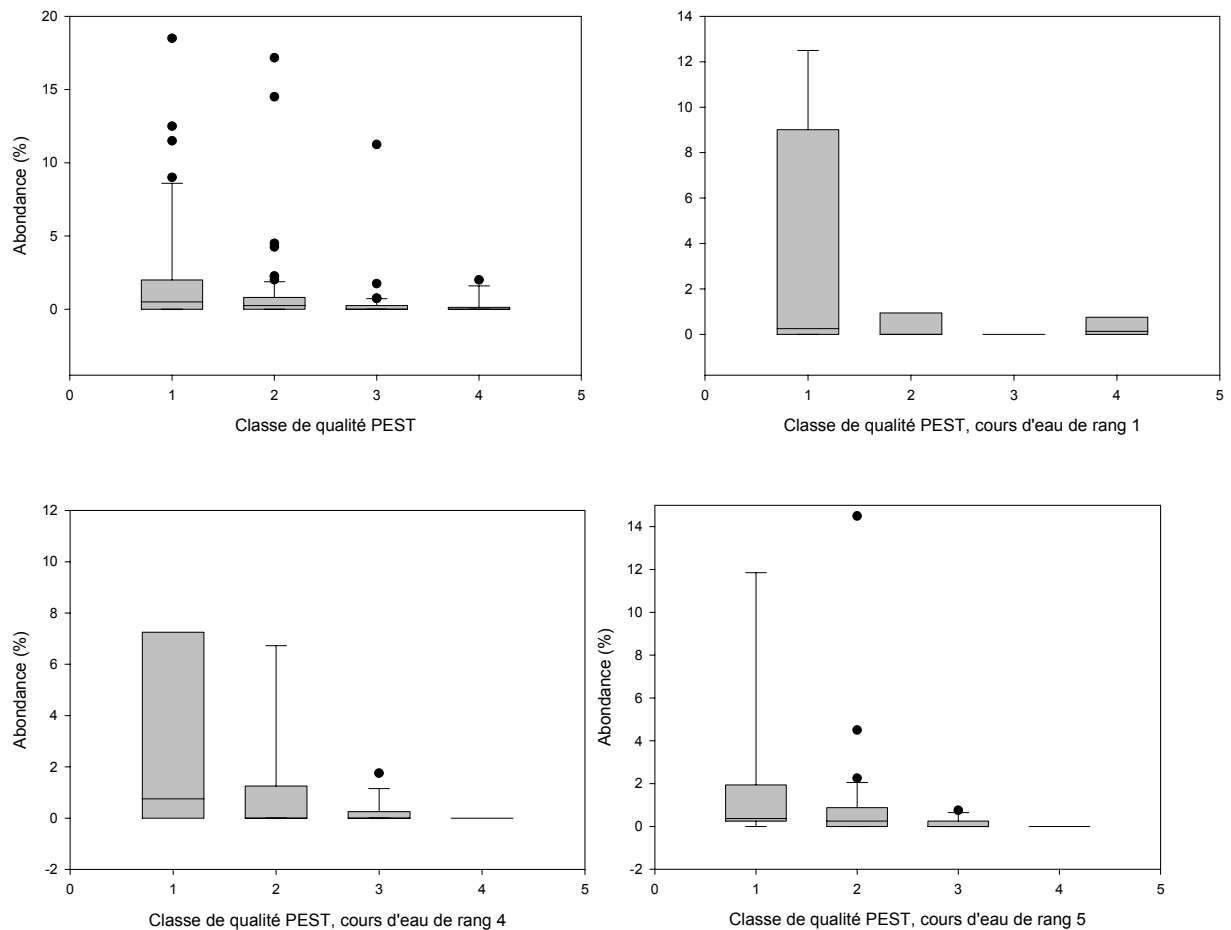


**Fig. 38.** Abondance des taxons de type colonial en fonction des classes de qualité PEST (1 : bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité, 4 : très mauvaise qualité) pour les cours d'eau tous rangs de Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il y a des différences significatives entre les classes de qualité. En particulier, l'abondance des formes coloniales en classe de bonne qualité est supérieure à celles des autres classes. Par contre, on n'observe pas de différences entre les classes de qualité moyenne, mauvaise et très mauvaise (méthode de Dunn).

Pour les cours d'eau de rang 1 et 5, aucune différence significative n'est observée. Par contre pour les cours d'eau de rang 4 présentant une bonne qualité du point de vue des pesticides, l'abondance des taxons coloniaux est significativement supérieure (méthode Dunn) à celles des cours d'eau présentant des qualités moyennes à très mauvaises.

Globalement, on note une baisse de l'abondance de taxons coloniaux avec l'augmentation de la pollution par les pesticides pour tous les types de cours d'eau.

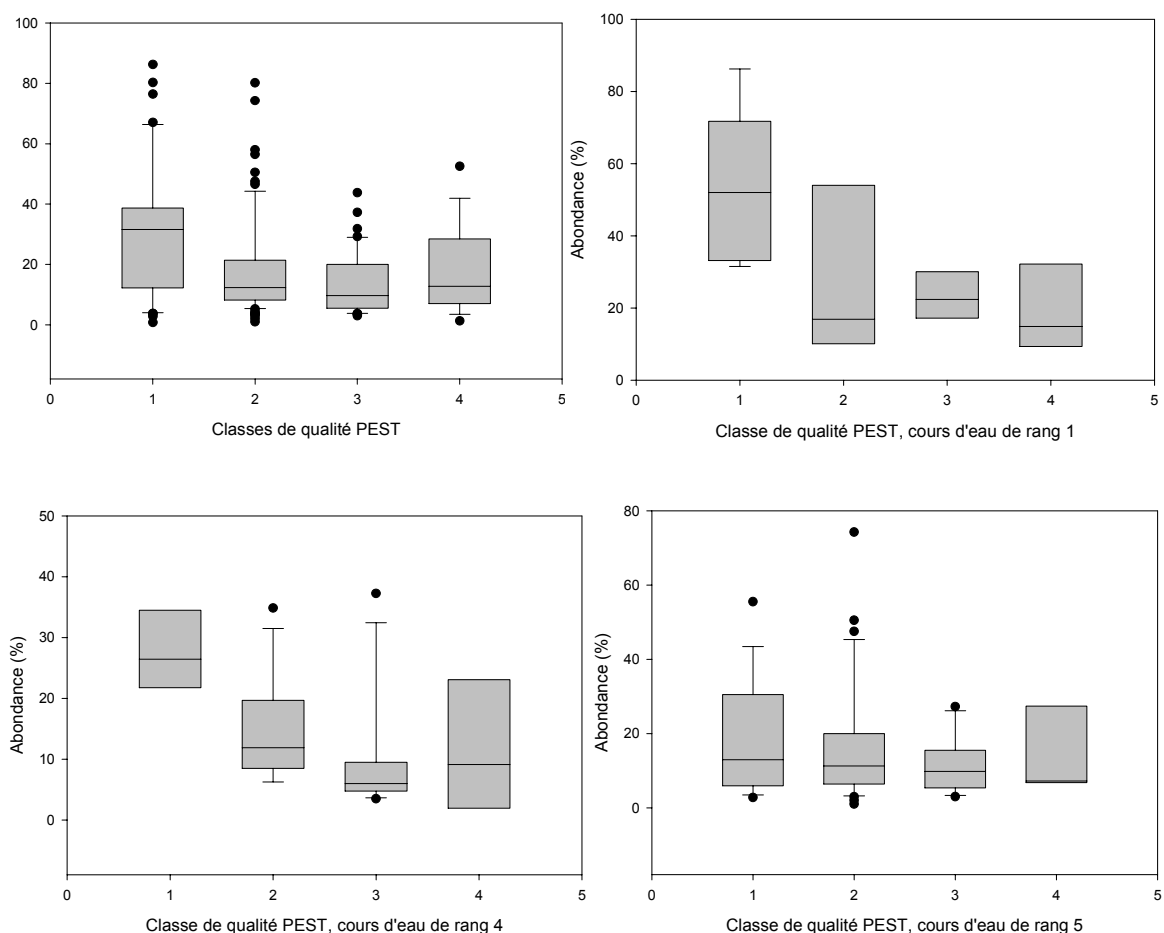


**Fig. 39.** Abondance des taxons vivant en tube muqueux en fonction des classes de qualité PEST (1 : bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité, 4 : très mauvaise qualité) pour les cours d'eau

tous rangs de Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il y a des différences significatives entre les classes de qualité lorsque les cours d'eau sont comparés tous rangs confondus et pour les cours d'eau de rang 5. Les cours d'eau de bonne qualité présentent une abondance significativement supérieure aux cours d'eau de mauvaise et très mauvaise qualité (comparaisons multiple selon la méthode de Dunn).

Les ANOVA calculées pour les cours d'eau des autres rangs (1 et 4) ne montrent pas de différences significatives. On note cependant toujours une baisse de l'abondance des taxons vivant en tube muqueux lorsque le niveau de pollution par les pesticides augmente.

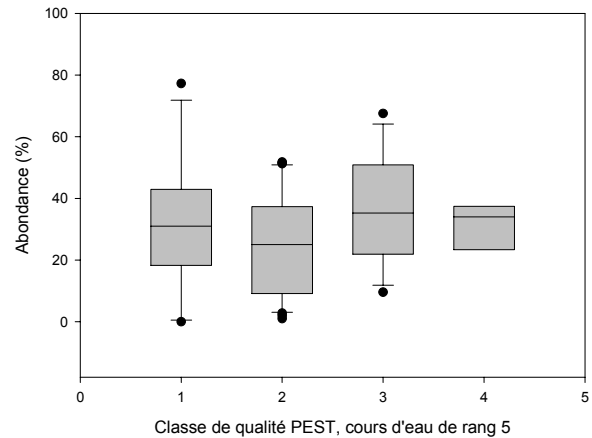
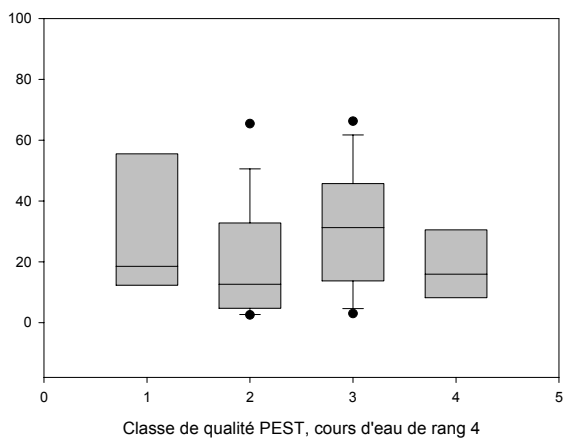
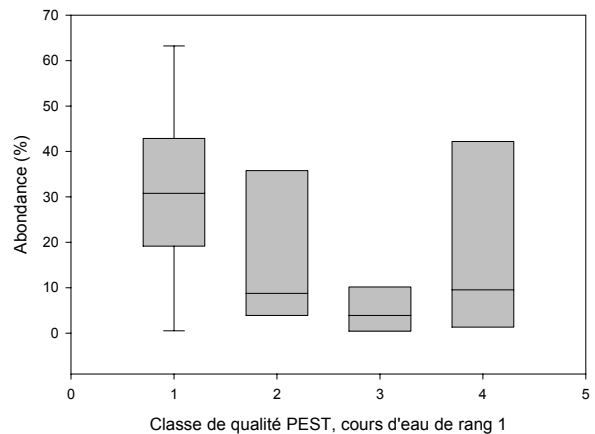
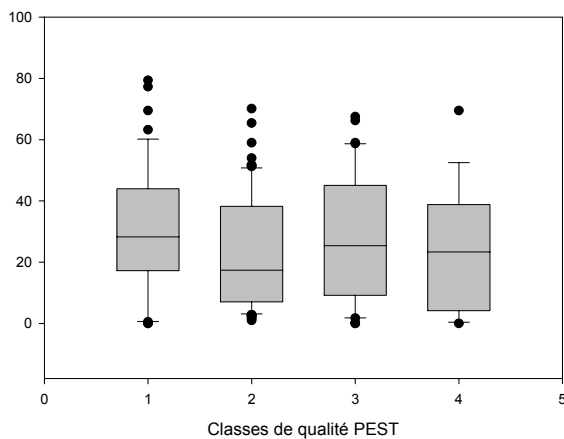


**Fig. 40.** Abondance des taxons pédonculés en fonction des classes de qualité PEST (1 : bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité, 4 : très mauvaise qualité) pour les cours d'eau tous rangs de

Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il y a des différences significatives entre les classes de qualité lorsque les cours d'eau sont comparés tous rangs confondus et pour les cours d'eau de rang 1. Lorsque sont comparés les cours d'eau tous rang confondus et les cours d'eau de rang 1 de bonne qualité, ils présentent des abondances en taxons pédonculés significativement supérieures au cours d'eau de qualité moyenne et mauvaise (comparaisons multiple selon la méthode de Dunn) et également très mauvaise pour les cours d'eau de rang 1.

Globalement on observe une réduction de l'abondance des taxons pédonculés lorsque le niveau de pollution par les pesticides augmente (la classe de qualité rouge pour les cours d'eau de rang 5 n'est représentée que par 3 échantillons, cette valeur est donc à relativiser).





**Fig. 41.** Abondance des taxons de type pionnier en fonction des classes de qualité PEST (1 : bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité, 4 : très mauvaise qualité) pour les cours d'eau tous rangs de Strahler confondus (en haut à gauche), pour les cours d'eau de rang 1 (en haut à droite), de rang 4 (en bas à gauche) et de rang 5 (en bas à droite).

L'ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), montre qu'il n'y pas a de différence significative entre les classes de qualité lorsque les cours d'eau sont comparés tous rangs confondus ni pour les cours d'eau de rang 4 et 5.

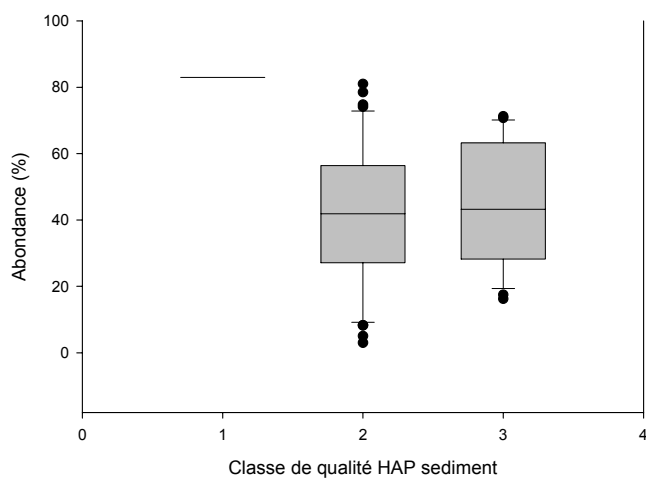
Seuls les cours d'eau de rang 1 présentent des différences significatives. Les cours d'eau de bonne qualité présentent des abondances de taxons pionniers supérieures aux cours de qualité moyenne à mauvaise. Les autres cours d'eau ne présentent pas de tendance nette.

#### 5.4.2.2. Indice HAP sédiment

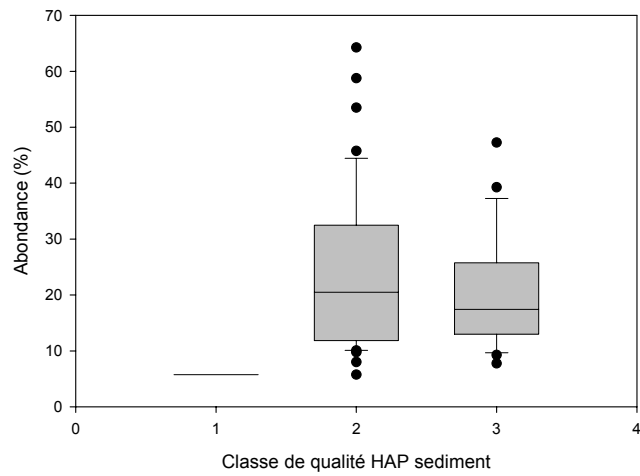
L'indice HAP ne présente que deux classes de qualité (moyenne et mauvaise) sur l'aire d'étude, ce qui pose un problème par le manque de gradient (gradient trop réduit) et par le manque de référence. Cet indice a donc été écarté de cette étude.

L'indice HAP sédiment présente le même inconvénient à un niveau moindre, seule un échantillon est de bonne qualité, les 64 autres se distribuent soit dans la classe de qualité moyenne ou mauvaise. Cet indice a donc été conservé pour représenter les box plots. Seul les box plot regroupant tous les cours d'eau indépendamment de leur rang de Strahler ont été représentés car le nombre d'échantillons (65 échantillons) ne permettait pas de faire des représentations par taille de cours d'eau séparés.

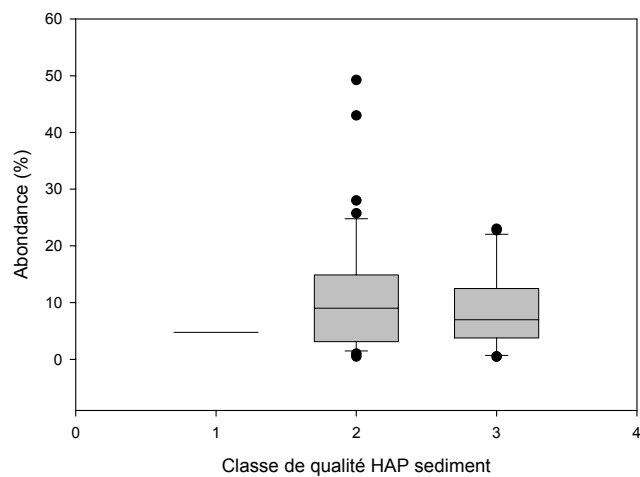
Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice HAP sédiment, 5 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice HAP sédiment) supérieure aux autres. Par conséquent, les box plots pour ces formes de vie (classe de taille 1, 3, 4, 5 et tube muqueux) sont donnés au figures 42 à 46.



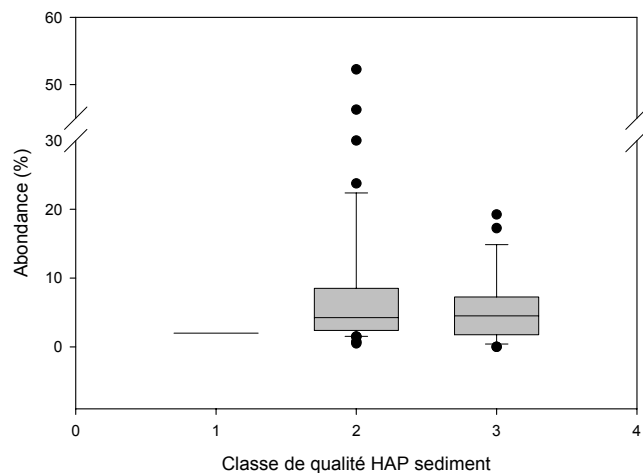
**Fig. 42.** Abondance des taxons de classe de taille 1 en fonction des classes de qualité (1 : très bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité).



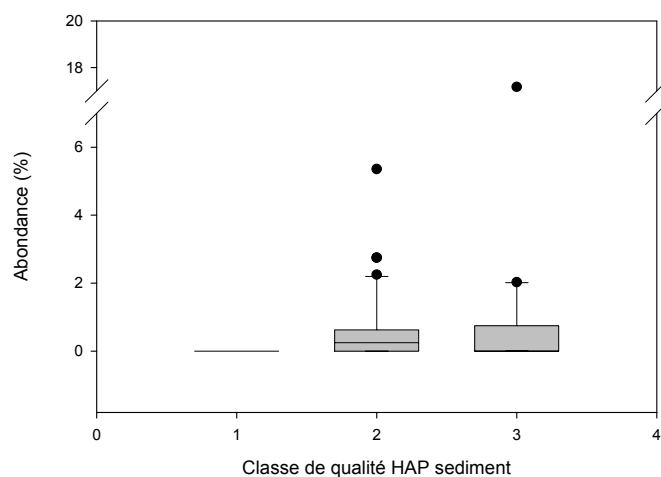
**Fig. 43.** Abondance des taxons de classe de taille 3 en fonction des classes de qualité HAP sédiment (1 : très bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité).



**Fig. 44.** Abondance des taxons de classe de taille 4 en fonction des classes de qualité (1 : très bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité).



**Fig. 45.** Abondance des taxons de classe de taille 5 en fonction des classes de qualité (1 : très bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité).



**Fig. 46.** Abondance des taxons vivant en tube muqueux en fonction des classes de qualité (1 : très bonne qualité, 2 : moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité).

Les ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), calculées pour les différentes formes de vie (représentés aux figures 42 à 46) montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre les classes de qualité. Ceci peut s'expliquer par le faible nombre de données disponibles et par le manque de gradient pour cette indice (seulement 3 classes de qualité, dont une représentée par un seul échantillon (bonne qualité)).

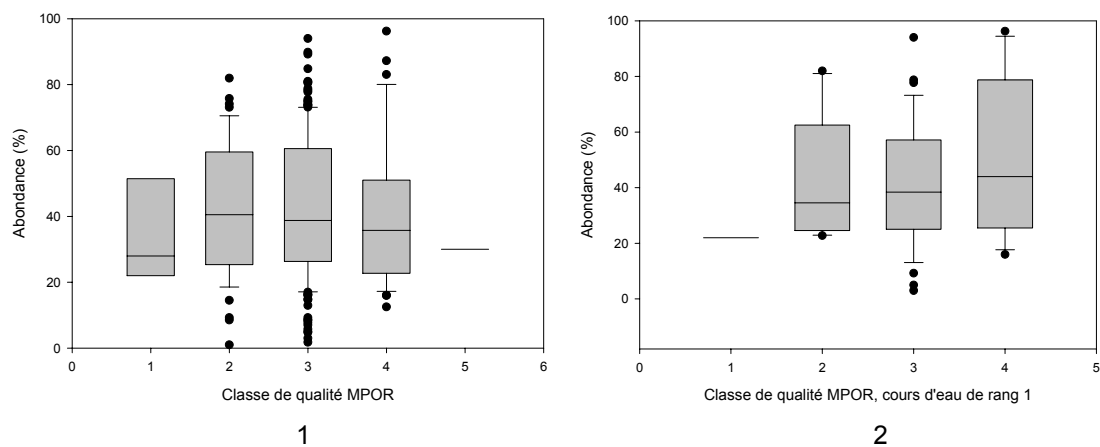
Il semble nécessaire, avant de continuer ce type d'étude, de collecter plus de données. L'effort devrait être mis pour échantillonner des stations non ou faiblement polluées par les HAP et également des stations présentant de plus fortes pollutions par les HAP.

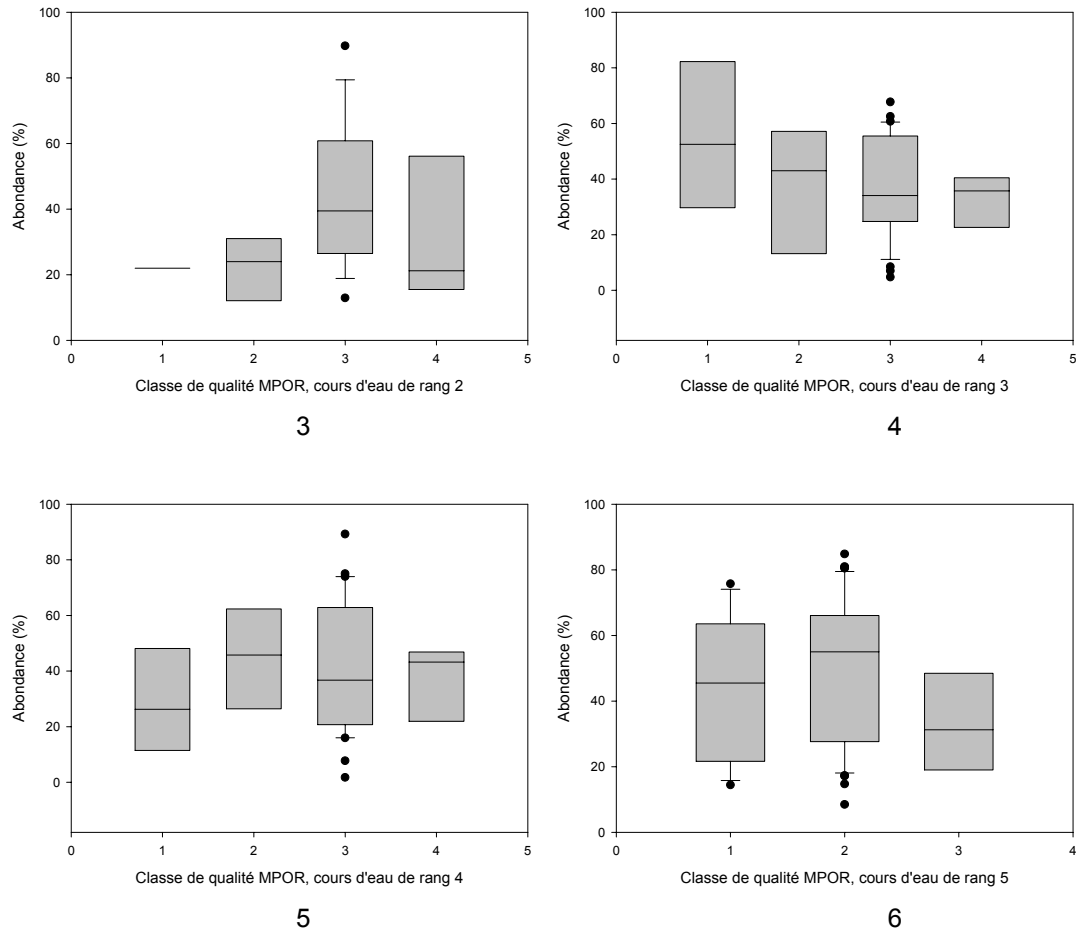
### 5.4.2.3. Indice MPOR (micropolluants organiques sur eau brute)

Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice MPOR, 6 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice MPOR) supérieure aux autres. Par conséquent, l'évolution de l'abondance de ces formes de vie (classe de taille 1 à 5 et forme de vie en tube muqueux) a été étudiée en fonction des classes de qualité.

Cependant, les ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), calculées entre les différentes formes de vie et les classes de qualité de MPOR montrent qu'il n'y a pas de différences significatives.

D'autre part, les différentes formes de vie ne montrent pas d'évolution évidente de leurs abondances en fonction de l'augmentation du niveau de pollution par les MPOR, par conséquent les box plots ne sont pas présentés. Seul un exemple est donné pour les diatomées de classe de taille 1 et les différents rangs de Strahler pour illustrer l'absence de relation (Fig. 47).

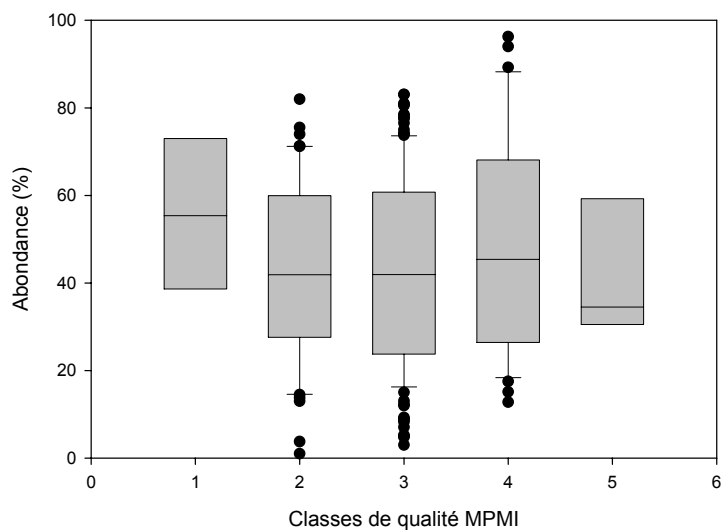




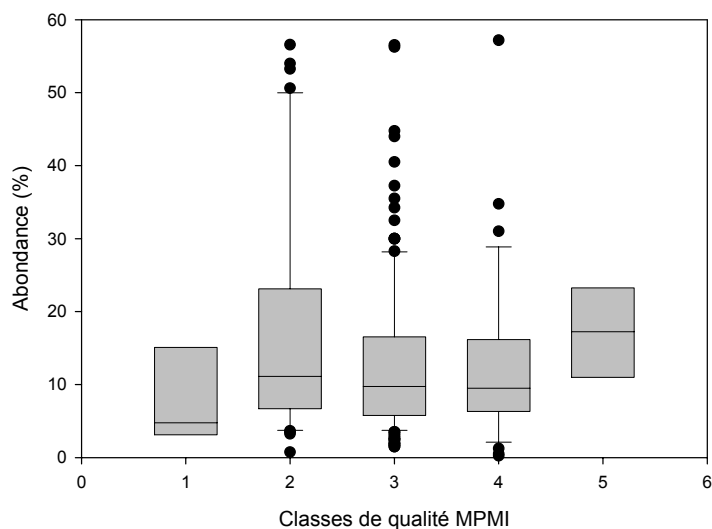
**Fig. 47.** Abondance des taxons de classe de taille 1 en fonction des classes de qualité. 1 : tous les rangs de Strahler (1: très bonne qualité, 2 : bonne qualité, 3: moyenne qualité, 4: mauvaise qualité, 5 : très mauvaise qualité), 2 à 5 : rangs de Strahler 1 à 4 (1: très bonne qualité, 2: bonne qualité, 3: moyenne qualité, 4 : mauvaise qualité), 6 : rang de Strahler 5 (1: bonne qualité, 2: moyenne qualité, 3 : mauvaise qualité)

#### 5.4.2.4. Indice MPMI (micropolluants minéraux sur eau brute)

Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice MPMI, 6 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice MPMI) supérieure aux autres. Par conséquent, les évolutions en fonction du niveau de pollution par MPMI pour ces formes de vie (classe de taille 1 à 5 et forme de vie en tube muqueux) ont été étudiées (Fig. 48 et 49).



**Fig. 48.** Abondance des taxons de classe de taille 1 en fonction des classes de qualité (1: très bonne qualité, 2 : bonne qualité, 3: moyenne qualité, 4: mauvaise qualité, 5 : très mauvaise qualité).



**Fig. 49.** Abondance des taxons de classe de taille 2 en fonction des classes de qualité (1: très bonne qualité, 2 : bonne qualité, 3: moyenne qualité, 4: mauvaise qualité, 5 : très mauvaise qualité).

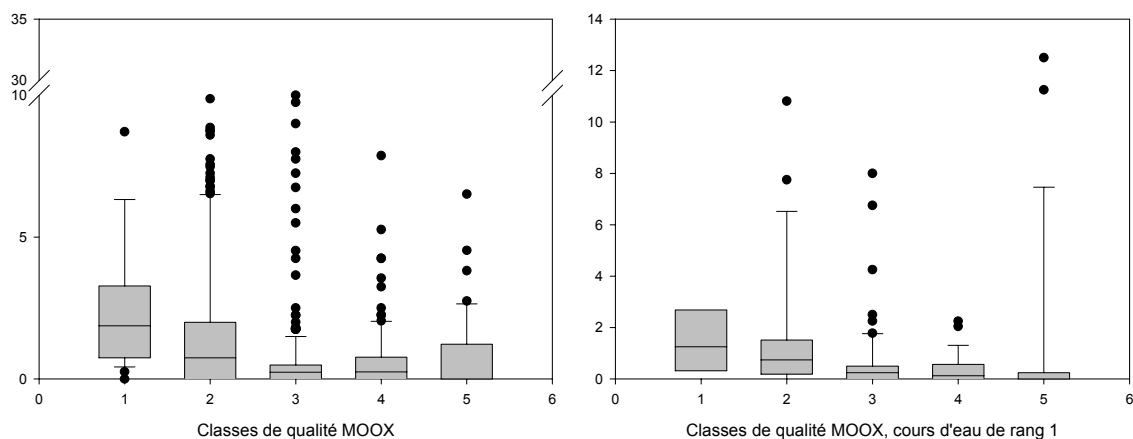
Les ANOVA (Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks), calculés pour les différentes formes de vie et les classes de qualité de MPMI montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre les classes de qualité.

Les classes de taille 3 et 4 ainsi que la forme de vie en tube muqueux ne présentent pas d'évolution évidente de leurs abondances en fonction de l'augmentation du niveau de pollution par les MPMI, par conséquent les box plots ne sont pas représentés.

On remarque cependant qu'il y a une tendance à la diminution des diatomées de très petite taille (classe de taille 1) lorsque le niveau de MPMI augmente (Fig. 48). Inversement, les diatomées de petite taille (classe de taille 2) tendent à augmenter lorsque le niveau de MPMI augmente (Fig. 49).

#### 5.4.2.5. Indices PHOS (Matières phosphorées) et MOOX (Matières organiques et oxydables)

Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice MOOX, 6 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice MOOX) supérieures aux autres. A titre d'exemple l'évolution de l'abondance des diatomées vivant en tube muqueux selon le niveau des MOOX est donné à la figure 50.

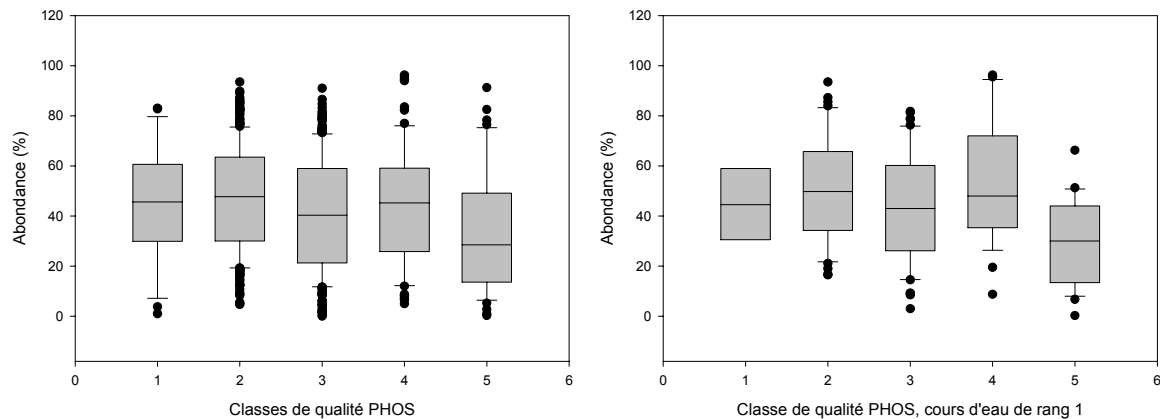


**Fig. 50.** Abondance des taxons vivant en tubes muqueux en fonction de MOOX (1 : très bonne qualité, 2 : bonne qualité, 3 : moyenne qualité, 4 : mauvaise qualité, 5 : très mauvaise qualité) pour les cours tous rangs de Strahler confondus (à gauche), et pour les cours d'eau de rang 1 (à droite).

On observe une claire diminution de cette forme de vie lorsque le niveau en MOOX augmente. D'autres relations niveaux en MOOX/formes de vie ont été observées (non présentées dans le rapport) : baisse de l'abondance des pédonculées pour les niveaux de MOOX élevés, augmentation des pionnières pour des niveaux de MOOX intermédiaires,

Selon l'analyse discriminante réalisée sur l'indice PHOS, 7 formes de vie présentent une discrimination des classes de qualité (selon l'indice PHOS) supérieure aux autres. A titre d'exemple l'évolution de l'abondance des diatomées de taille 1, selon le niveau en PHOS est donnée.





**Fig. 51.** Abondance des taxons de classe de taille 1 en fonction de l'indice PHOS (1: très bonne qualité, 2 : bonne qualité, 3: moyenne qualité, 4: mauvaise qualité, 5 : très mauvaise qualité) pour les cours tous rangs de Strahler confondus.

On observe une régression de l'abondance des très petites tailles de diatomées lorsque le niveau en PHOS est élevé. Ce type de relation est assez classiquement observé lorsque le niveau en nutriment augmente (Passy 2007, 2008). D'autres relations ont été observées lorsque le niveau en PHOS augmente : augmentation de l'abondance des classes de taille 3, réduction de l'abondance des coloniales, des pionnières, des diatomées vivant en tubes muqueux.

### **5.5. Conclusions de cette étude**

Cette étude a permis de tester l'effet discriminant des plusieurs métriques pour les classes de qualité de plusieurs micropolluants. Les principales observations sont résumées ci-dessous.

1- Pour les Pesticides :

Plusieurs métriques semblent bien discriminer les classes de qualité de l'indice PEST lorsque le niveau de pollution augmente :

- Baisse de l'abondance des taxons benthiques, cette relation reste à confirmer pour les cours d'eau de rang 4 (nombre données assez faible pour certaines classes de qualité)
- Baisse de l'abondance des taxons coloniaux
- Baisse de l'abondance des taxons vivant en tubes muqueux
- Baisse de l'abondance des taxons pédonculés

2- Pour l'indice HAP :

Aucune métrique ne présente une évolution claire. Ceci est principalement causé par le faible nombre de données et par le gradient de pollution trop restreint (la classe de qualité bonne est représentée par un

seul échantillon, les autres échantillons se répartissent dans seulement 2 classes de qualité : moyenne ou mauvaise).

3- Pour l'indice MPOR (micropolluants organiques) :

Malgré un nombre de données qui semble être suffisant, aucune tendance claire pour les différentes métriques étudiées n'a pu être identifiée en fonction de l'augmentation du niveau de pollution par les micropolluants organiques.

4- Pour l'indice MPMI (micropolluants minéraux) :

Malgré le grand nombre de données seules deux métriques semblent présenter des tendances :

- légère diminution des très petites tailles (classe de taille 1) et légère augmentation des petites tailles (classe de taille 2) lorsque le niveau de pollution en micropolluants minéraux augmente.
- Les autres métriques étudiées ne présentent pas de tendances identifiables pour une augmentation du niveau de pollution par les micropolluants minéraux.

Le faible nombre de tendances détectées entre les formes de vie et les indices micropolluants (MPOR et MPMI) peut être lié à plusieurs raisons :

- la réponse des diatomées à ces micropolluants n'est effectivement pas détectable,
- les indices du SEQeau appliquent la règle du paramètre le plus déclassant. Cette règle n'est peut-être pas la mieux adaptée pour évaluer les relations micropolluants / diatomées. Il serait peut-être intéressant de travailler sur des indices plus graduels, basés sur une somme des micropolluants mesurés dans le milieu plutôt que basés sur le principe du paramètre le plus déclassant.

Des relations entre les abondances des formes de vie et les indices MOOX ou PHOS ont été observées de façon plus claire et plus fréquemment qu'avec les indices micropolluants (PEST, HAP, MPOR, MPMI).

La raison peut-être double :

- le nombre de données à notre disposition pour les indices MOOX et PHOS est nettement supérieur que pour les indices micropolluants
- les paramètres entrant dans le calcul des indices MOOX et PHOS sont plus autocorrélés que les paramètres entrant dans le calcul des indices micropolluants : par exemple pour l'indice MOOX lorsque la DBO est élevée la DCO a de fortes probabilité d'être aussi élevée, de la même façon les paramètres phosphore total et  $\text{PO}_4^{3-}$ , entrant dans le calcul de l'indice PHOS, sont fortement corrélés. Ceci n'est pas forcément le cas pour les 9 métaux lourds entrant dans le calcul de l'indice MPMI ; leurs concentrations ne sont probablement pas aussi corrélées. La même remarque pourrait être faite pour les concentrations en PCB, HAP, phénols pour l'indice MPMO.

## 6. CONCLUSION FINALE

Au-delà des indices normalisés (IBD, IPS) utilisés pour la surveillance des milieux naturels, nous avons évalué les capacités de bio-indication des diatomées pour la surveillance des impacts environnementaux d'effluents aqueux toxiques. Pour cela différentes métriques ont été testées : classes de taille des diatomées, abondance des formes de vie, présence de formes tératologiques, classes de salinité et la diversité taxonomique. Elles ont été testées sur trois exemples d'application à diverses échelles d'étude (en mésocosme ou *in situ*). Plus précisément, nous avons testé la pertinence des diatomées pour la surveillance d'une pollution industrielle par un monomère (methacrylate de méthyle), d'une pollution industrielle en sortie de soudeuse (sel et micropolluants) et de pollutions en pesticides, HAPs, micropolluants organiques et minéraux à l'échelle de grands bassins hydrographiques (Rhin-Meuse).

Pour les pollutions industrielles en sortie de soudeuse, les classes **de salinité de Van Dam** ont permis une bonne caractérisation du gradient de conductivité du réseau d'échantillonnage. Pour les **formes tératologiques** : leur abondance ne semble pas facilement discriminante du niveau de pollution en dessous d'une certaine valeur (<1%), les connaissances sur ces formes mériteraient donc d'être approfondies. Les **classes de taille** semblent répondre aux niveaux de pollution par les micropolluants minéraux et les pesticides (tendance à confirmer sur un nombre supérieur de données). L'analyse des **formes de vie** s'est révélée être perspicace pour différents types de contamination (méthyle methacrylate, pesticides). L'assemblage de ces formes de vie en **guildes écologiques** permet de bien mettre en évidence les pollutions les plus aiguës (étude Solvay). Cependant, aucune de ces métriques n'a permis de dégager des tendances en ce qui concerne l'impact des hydrocarbures aromatiques polycycliques (données du bassin Rhin-Meuse).

En conclusion, des nouvelles métriques, telles que les formes de vie et leur regroupement en guildes écologiques semblent être particulièrement prometteuses pour analyser les effets de toxiques avec plus de spécificité que les indices diatomiques classiques de surveillance des milieux aquatiques. De plus ces approches permettent une mise en application simplifiée. En effet, la détermination taxonomique, qui est généralement un obstacle dans la mise en œuvre des indices diatomiques, s'effectue dans ce cas généralement au niveau du genre et non plus au niveau de l'espèce.

A l'avenir, il est nécessaire de confirmer les réponses de ces métriques aux grandes familles de micropolluants (micropolluants minéraux, micropolluants organiques, pesticides). Pour cela trois types d'approches sont envisagés :

- des expérimentations en mésocosmes dans lesquelles il est possible de contrôler les niveaux de pollution et de limiter le nombre de facteurs confondants
- des suivis *in situ* de rivières en zones présentant des pollutions spécifiques. Notamment, concernant les pesticides des bassins versants sur lesquels sont mises en oeuvre des programmes de réduction en pesticides.
- renforcer les bases de données existantes afin d'avoir un panel plus large de situations de pollutions.

La confirmation des réponses de ces métriques aux grandes familles de micropolluants devrait permettre de s'acheminer vers des outils d'indication de risque de présence de substances toxiques dans les cours d'eau.

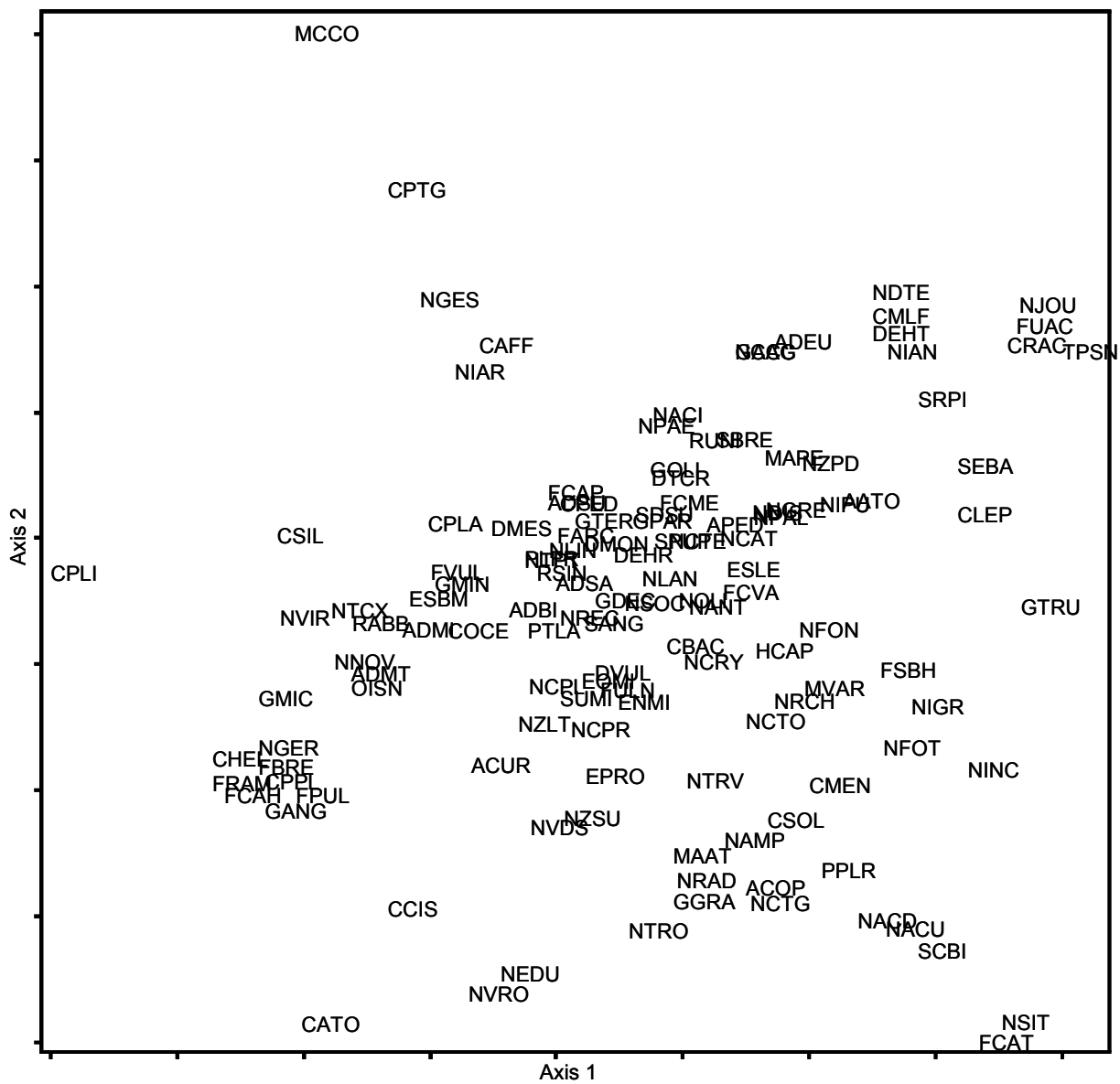
## 7. BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR (2000) Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD). Norme NF T 90 354. Juin 2000, 63 p.
- AFNOR (2007) NF T90-354. Qualité de l'eau - Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD). 79.
- Biondini, ME, CD Bonham and EF Redente (1985) Secondary successional patterns in a sagebrush (*Artemisia tridentata*) community as they relate to soil disturbance and soil biological activity. *Vegetatio* 60: 25-36.
- Bloom, AM, KA Moser, DF Porinchu and GM MacDonald (2003) Diatom-inference models for surface-water temperature and salinity developed from a 57-lake calibration set from the Sierra Nevada, California, USA. *J. Paleolimnol.* 29: 235-255.
- Burkholder, JM, RG Wetzel and KL Klomparens (1990) Direct comparison of phosphate uptake by adnate and loosely attached microalgae within an intact biofilm matrix. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2882-2890.
- Cemagref (1982) Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport QE Lyon, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse.
- Coffinet, S, C Cossu-Leguille, A Bassères, J-F Gonnet and P Vasseur (2008) Response of the bivalve *Unio Tumidus* and freshwater communities in artificial streams for hazard assessment of methyl methacrylate. *Environ. Contam. Toxicol.* 27: 1371-1382.
- Connell, JH (1978) Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science* 199: 1302-1310.
- Dell'Uomo, A and C Tantucci (1996) Impiego delle Diatomee nel monitoraggio biologico del Fiume Musone (Marche). *S.It.E. Atti* 17: 499-502.
- Diatomania n°10, FtcldeRF, 75 pp.
- Djomo, JE, A Dauta, V Ferrier, JF Narbonne, A Monkiedje, T Njine and P Garrigues (2004) Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments of *Scenedesmus subspicatus*. *Wat. Res.* 38: 1817-1821.
- Dufrêne, M and P Legendre (1997) Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* 67: 345-366.
- Falasco, E, F Bona, G Badino, L Hoffmann and L Ector (2009) Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. 1-35.
- Frontier, S (1983) L'échantillonnage de la diversité spécifique. In *Stratégie d'échantillonnage en écologie*, Frontier et Masson édit., Paris (Coll. D'Ecologie), XVIII + 494 p.
- Hanson, BG, SJ Munn, S Pakalin, C Musset, M Luatomo, J De Bruijn, F Berthault, V S., G Pellegrini, R Allanou and S Scheer (2002) European Union Risk Assessment Report Methyl Methacrylate. EUR 19832 EN. Final Report. European Union, Luxembourg, Luxembourg.

- Hill, MO and HG Gauch (1980) Detrended correspondence analysis: an improved ordination technique. *Vegetatio* 42: 47-58.
- Kelly, MG and BA Whitton (1995) The Trophic Diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *J. Appl. Phycol.* 7: 433-444.
- Kinross, JH, N Christofi, PA Read and R Harriman (1993) Filamentous algal communities related to pH in streams in the Trossachs, Scotland. *Freshw. Biol.* 30: 301-317.
- Koshmanesh, A, F Lawson and IG Prince (1997) Cell surface area as a major parameter in the uptake of cadmium by unicellular green microalgae. *Chem. Eng. J.* 65: 13-19.
- Lange-Bertalot, H (1979) Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation. *Nova Hedwigia Beiheft* 64: 285-304.
- Lecointe, C, M Coste and J Prygiel (1993) Omnidia: software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* 269/270: 509-513.
- Lenoir, A and M Coste (1996). Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the Frenche national water board network. Use of algae for monitoring rivers II. B. A. Whitton and E. Rott. Institut fuer Botanik, Universitat Innsbruck, E. Rott.: 29-43.
- McCune, B and J Mefford (2006) PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 5.18. Anonymous. Anonymous. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Norton, TA, M Melkonian and RA Andersen (1996) Algal biodiversity. *Phycologia* 35: 353-365.
- Passy, SI (2007) Differential cell size optimization strategies produce distinct diatom richness-body size relationships in stream benthos and plankton. *Journal of Ecology* 95: 745-754.
- Passy, S.I. (2007) Diatom ecological guilds display distinct and predictable behavior along nutrient and disturbance gradients in running waters. *Aquatic Botany* 86:171-178.
- Passy, SI (2008) Species size and distribution jointly and differentially determine diatom densities in U.S. streams. *Ecology* 89: 475-484.
- Pienitz, R, JP Smol and HJB Birks (1995) Assessment of freshwater diatoms as quantitative indicators of past climatic change in the Yukon and Northwest Territories, Canada. *J. Paleolimnol.* 13: 21-49.
- Potapova, M and P Snoeijs (1997) The natural life cycle in wild populations of *Diatoma moniliformis* (Bacillariophyceae) and its disruption in an aberrant environment. *J. Phycol.* 33: 924-937.
- Potapova, MG and DF Charles (2002) Benthic diatoms in USA rivers: distribution along spatial and environmental gradients. *Journal of Biogeography* 29: 167-187.
- Poulin, M and DM Williams (1998) Conservation of diatom biodiversity: A perspective. 15th Int. Diatom Symp. Perth, Austr. (Abstract).
- Raven, JA and RJ Geider (1988) Temperature and algal growth. *New Phytol.* 110: 441-461.
- Renberg, I and T Helberg (1982) The pH history of lakes in southwestern Sweden, as calculated from the sub-fossil diatom flora of the sediments. *Ambio* 11: 30-33.
- Rodriguez, MA (1994) Succession, environmental fluctuations, and stability in experimentally manipulated microalgae communities. *Oikos* 70: 107-120.

- Round, FE (1991). Use of diatoms for monitoring rivers. Use of algae for monitoring rivers. B. A. Whitton, E. Rott and G. Friedrich. Duesseldorf: 25-32.
- Roux, M, S Servant-Vildary and M Servant (1991) Inferred ionic composition and salinity of a Bolivian Quaternary lake, as estimated from fossil diatoms in the sediments. *Hydrobiologia* 210: 3-18.
- Sabater, S (2000) Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guadiamar River, S-W Spain, following a major mine tailings spill. *J. Appl. Phycol.* 12: 113-124.
- Schiefele, S and C Schreiner (1991) Use of diatoms for monitoring nutrient enrichment, acidification and impact of salt rivers in Germany and Austria. Teoksessa: Whitton, B.A., Rott, E. & Friedrich, G. (toim.): Use of algae for monitoring rivers. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, Innsbruck, 25-32.
- Servant-Vildary, S and M Roux (1990) Multivariate analysis of diatoms and water chemistry in Bolivian saline lakes. *Hydrobiologia* 197: 267-290.
- Shannon, CE and W Weaver (1949) The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.
- Sladeczek, V (1986) Diatom as indicators of organic pollution. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 14: 555-566.
- Stevenson, RJ and LL Bahls (2002) Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. 2nd edition. *Periphyton protocols*. M. T. Barbour, J. Gerritsen, B. D. Snyder, and J. B. Tribling. Anonymous. US EPA. 1-23, E493.
- Torres, E, A Cid, C Herrero and J Abalde (2000) Effect of cadmium on growth, ATP content, carbon fixation and ultrastructure in the marine diatom *Phaedactylum tricornutum* Bohlin. *Water Air Soil Pollut.* 117: 1-14.
- van Dam, H, A Mertens and J Sinkeldam (1994) A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-133.
- Watanabe, T, K Asai and A Houki (1985) Epilithic diatom assemblage to organic water pollution (DAIpo) and its ecological significance// Annual Report of Graduate Division of Human Culture, Doctoral Degree Program, Nara Women's University. 1: 76-94.
- Watanabe, T, K Asai and A Houki (1986) Numerical estimation to organic pollution of flowing water by using the epilithic diatom assemblage - Diatom Assemblage Index (DAIpo). *The Science of the Total Environment.* 55: 209-218.
- Ziemann, H (1999) Salzgehalt. Bestimmung des Halobienindex. In: V. Tuempling, W. v. and Friedrich, G. (eds.), *Biologische Gewaesseruntersuchung*, pp. 309-313. Jena.
- Zimmermann, GR, H Goetz and PW Mielke (2009) Use of an improved statistical method for group comparisons to study effects of prairie fire. *Ecology* 66: 606-611.

ANNEXES



**Fig. 1.** La contribution des espèces expliquant la distribution des canaux de l'analyse DCA pour la DCA des figures 11 et 12 (ici codes diatomées selon OMNIDIA, Lecoigne *et al.* 1993).