



HAL
open science

Bio-évaluation de la qualité écologique des rivières de l'île de la Réunion à partir des diatomées : Guide méthodologique

Gilles Gassiole, Sébastien Boutry, A. Picot, François Delmas, G. Jan, Sylvia Moreira, Juliette Tison-Rosebery, J.L. Giraudel, R. Le Cohu, Michel Coste, et al.

► **To cite this version:**

Gilles Gassiole, Sébastien Boutry, A. Picot, François Delmas, G. Jan, et al.. Bio-évaluation de la qualité écologique des rivières de l'île de la Réunion à partir des diatomées : Guide méthodologique. pp.31, 2011. hal-02606003

HAL Id: hal-02606003

<https://hal.inrae.fr/hal-02606003v1>

Submitted on 16 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Office De l'Eau Réunion

49, rue Mazagran
97400 Saint Denis



ASCONIT CONSULTANTS

Site Naturopole
Les bureaux de Clairfont -
Bât. G
3 Boulevard de Clairfont
66350 Toulouges

C/O PARETO
16, rue Albert Lounon
Village Entreprise
97490 Sainte Clotilde

Bio-évaluation de la qualité écologique des rivières de l'île de la Réunion à partir des diatomées Guide méthodologique Novembre 2011

Participants à l'étude :

Gilles Gassiole, Sébastien Boutry, Adeline Picot, François Delmas, Gwilherm Jan, Sylvia Moreira, Juliette Rosebery, Jean-Luc Giraudel, René Le Cohu, Michel Coste & Florence Peres



Sommaire

1	Introduction	4
2	Généralités sur les diatomées	5
3	Matériels et méthodes.....	10
3.1	Prélèvement des échantillons	10
3.1.1	Les stations d'études	10
3.1.2	Protocole d'échantillonnage	17
3.2	Traitement chimique et fabrication des lames	19
3.3	Détermination des taxons et inventaires	20

Figures

Figure 1 : quelques éléments de la structure des diatomées	6
Figure 2 : diagramme schématique des reproductions sexuée et asexuée chez les diatomées.....	7
Figure 3 : Diagramme schématique simplifié de la disposition des différentes diatomées dans le biofilm. Modifié d'après Kelly et Yallop – DARES – présentation	8
Figure 4 : Schéma explicatif des codes des relevés.....	10
Figure 5 : Carte de localisation des stations.....	16
Figure 6 : Microscope et logiciel de capture d'image et de mesures.....	20
Figure 7 : Capture d'écran d'un comptage.....	21
Figure 8 : Exemple de courbe d'épuisement	22

Tableaux

Tableau 1 : Liste des stations (code diatomée-code Office de l'Eau), coordonnées GPS et dates de prélèvement	11
Tableau 2 : Liste des stations prélevées (HER : Hydro-écorégion (Wasson), HMR : Hydro-Morpho-région (Malavoi))	13
Tableau 3 : Pourcentage de nouveaux taxons de l'inventaire apparaissant de 100 en 100 au cours du comptage (sur le jeu de tous les relevés de la deuxième campagne et de la troisième campagne)	22

1 Introduction

Dans le cadre de la DCE (Directive Cadre sur l'Eau) du Parlement Européen et du Conseil, adoptée le 23 octobre 2000, et transcrite en droit français par la loi n° 2004-338 du 21 avril 2004, la biologie est l'une des matrices de base dans l'étude et le suivi des masses d'eaux. Les diatomées sont un des bioindicateurs utilisés en Europe pour diagnostiquer l'état écologique des cours d'eau. La DCE a fixé comme objectif de retrouver le « bon état écologique » des eaux de surface et souterraines d'ici 2015 dans chaque Etat-Membre de l'Union Européenne. Le bon état écologique est défini par le faible écart avec un état de référence correspondant à des conditions non perturbées. Au niveau du territoire français métropolitain, dès les années 70 l'évaluation de la qualité des eaux par les diatomées a été approchée (Coste et Leynaud, 1974). Plusieurs indices ont par la suite été créés, comme l'IPS, Indice de Polluosensibilité Spécifique (Coste, 1982), ou encore l'IDG, Indice Diatomique Générique (Rumeau et Coste, 1988). Depuis l'IBD, Indice Biologique Diatomée, est normalisé en France métropolitaine (AFNOR, 2000 et AFNOR, 2007) et permet de définir et d'évaluer ce bon état écologique (Circulaire MEDD/DE/MAGE/BEMA N° 14 du 28 Juillet 2005 modifiée le 13 Juin 2007).

Une étude préalable utilisant le calcul des indices IPS et IBD, ainsi que les affinités écologiques à partir des compilations de Van Dam et al. (1994) a été effectuée sur l'île de la Réunion en 2006 et 2007 (Coste et al., 2008) au niveau de 95 relevés. Cette étude concluait qu'un effort d'adaptation des méthodes indiciaires existantes allant de pair avec une meilleure connaissance des espèces présentes était nécessaire pour estimer plus justement la qualité biologique des cours d'eau de cette île.

L'objet de ce programme est la conception d'un indice diatomique applicable à La Réunion par l'acquisition des données taxinomiques et écologiques des espèces rencontrées afin que les exigences de la DCE puissent s'appliquer sur ce territoire.

Ce rapport présente la méthodologie employée du prélèvement à la détermination.

Durant cette étude, les travaux de recherche ont été présentés à différents colloques sous forme de communication orales (28ème Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLAF) à Banyuls en septembre 2009, 30^{ème} Colloque ADLAF à Boulogne sur Mer en septembre 2011 et Colloque sur la Bioindication et la biodiversité des écosystèmes d'eau douce en milieu tropical en Martinique, décembre 2010) ou de poster (Journées Internationales de Limnologie à Thonon-les-Bains, octobre 2010). Un article scientifique sur une nouvelle espèce de diatomée, *Kobayasiella bebourensis*, a été accepté et est sous presse. Il va être publié dans la revue, Journal of Phycology (vol. 48 (2012)), sous le titre « *Kobayasiella bebourensis*, a new freshwater diatom species from Reunion Island, and further observations on *K. micropunctata* and *K. jaagii* ».

2 Généralités sur les diatomées

Historique

La Royal Society of London rapporte que la première diatomée a été observée et décrite par un diagramme pour la première fois en 1703 par un anglais dont le nom reste inconnu (Round, 1990). Leeuwenhoek, Néerlandais connu pour ses améliorations du microscope optique, en a sûrement vu la même année mais il n'était pas un aussi bon illustrateur que son contemporain. Au XIX^{ème} siècle, l'observation et la description de nombreuses diatomées sont faites par des personnes qui restent célèbres dans le monde des diatomistes comme Bory, Erhenberg (qui les classait déjà dans les algues) et Kützing. La classification des diatomées progressa alors en même temps que l'amélioration des microscopes. Pendant longtemps, les diatomées étaient l'objet préférentiel pour tester la qualité des objectifs des microscopes.

Morphologie

Les diatomées sont des microorganismes unicellulaires eucaryotes. Le noyau est l'organite qui a donné son nom aux eucaryotes (eu = vrai, caryos = noyau). Elles appartiennent au super groupe Chromalveolata Adl et *al.*, 2005 qui regroupe notamment les Stramenophiles Patterson, 1989, emend. Adl et *al.*, 2005 (Adl et *al.*, 2005) avec la division des Bacillariophyta Haeckel, 1878 (Diatomea Dumortier, 1821). Cette division est caractérisée par des cellules végétatives dépourvues de toute trace de flagelles, entourées d'une paroi cellulaire composée d'éléments silicifiés. La cellule est composée de deux valves et de plusieurs bandes de ceinture.

La forme de la valve (linéaire, sigmoïde, lanceolée, rhombique...), le type d'extrémité (capitée, rostrée, spatulée...), la présence de raphé, la disposition des stries (parallèles, radiantes...) et bien d'autres caractéristiques morphologiques permettent de différencier les différentes espèces. Il existerait 2×10^5 espèces différentes de diatomées (Mann et Droop, 1996) dans le monde, environ 15000 (en comptabilisant les synonymes) sont encodées sous Omnidia (logiciel de calcul d'indices diatomiques) (Lecoine et *al.*, 1993). Quelques structures sont illustrées sur les photos suivantes.

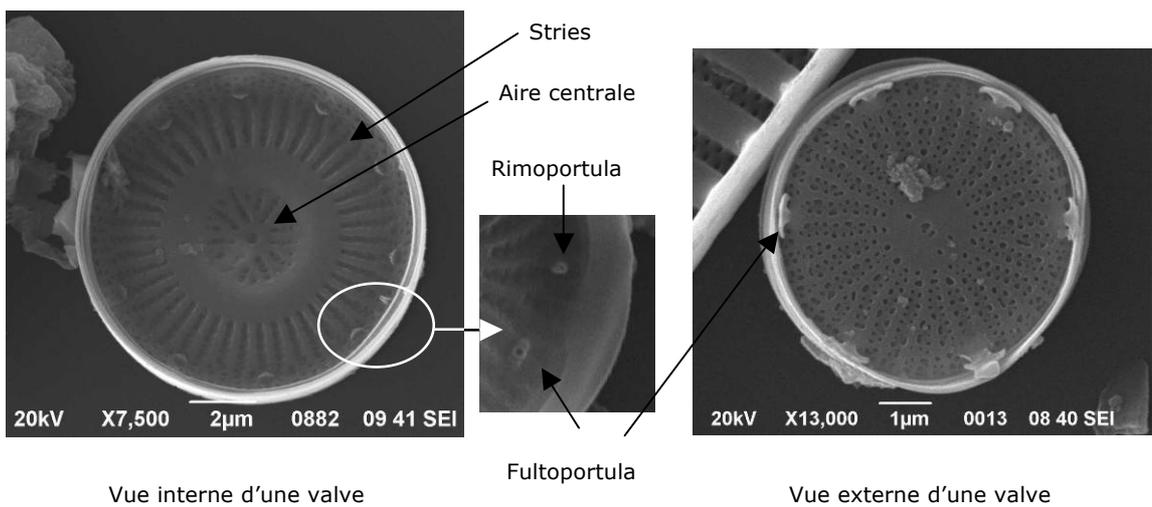
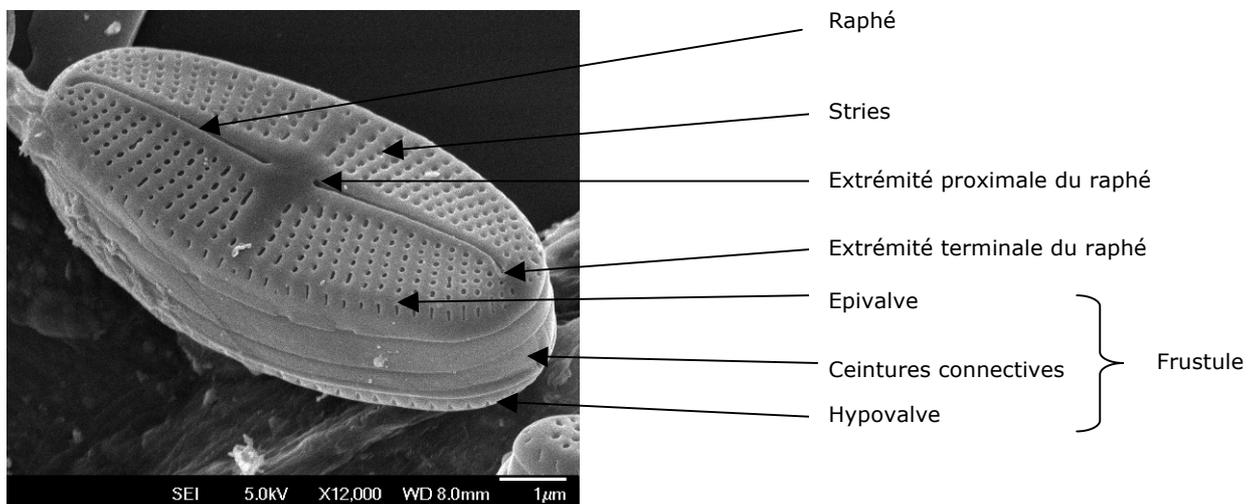


Figure 1 : quelques éléments de la structure des diatomées

Bien que certaines diatomées puissent vivre en hétérotrophes, c'est-à-dire en utilisant les matières organiques comme source de carbone, la plupart sont des organismes autotrophes qui utilisent donc l'énergie lumineuse pour réaliser la photosynthèse. Elles font partie des producteurs primaires et se retrouvent à la base des réseaux trophiques aquatiques.

Reproduction

La multiplication par division (reproduction asexuée), la plus fréquente, entraîne une diminution progressive de la taille des individus. En effet, une nouvelle hypovalve est secrétée à partir de la séparation des deux valves du frustule. Ce phénomène se répète jusqu'à ce que les dimensions du frustule

atteignent un seuil minimal, à partir duquel les diatomées ont recours à une reproduction sexuée qui permet de restituer la taille initiale de l'espèce considérée. Le premier individu issu de cette reproduction sexuée constitue la cellule initiale qui présente souvent une structure légèrement différente par rapport aux cellules végétatives.

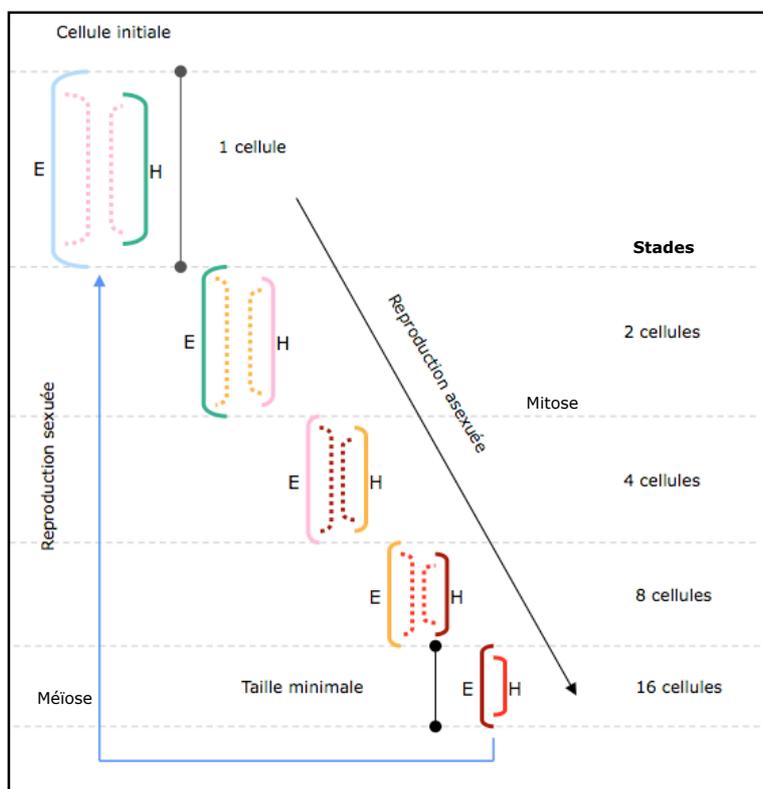


Figure 2 : diagramme schématisé des reproductions sexuée et asexuée chez les diatomées

Habitat

En rivière, le biofilm désigne la couche de couleur verte à brune, plus ou moins épaisse et glissante, qui recouvre les rochers et galets du fond du lit ainsi que les sédiments. Ce terme renvoie à la notion de micro-organismes agrégés entre eux (Othoniel, 2006). Le terme de périphyton est défini comme « une communauté complexe de micro-organismes (algues, bactéries, champignons, débris organiques ou inorganiques) attachée à un substrat. Les substrats peuvent être inorganiques, organiques, vivants ou morts » (Wetzel, 1983 in Othoniel, 2006). Biofilm et périphyton peuvent être considérés comme synonymes dans le cadre de cette étude. C'est ce biofilm (ou périphyton) contenant notamment les diatomées étudiées qui a été prélevé pour constituer les échantillons.

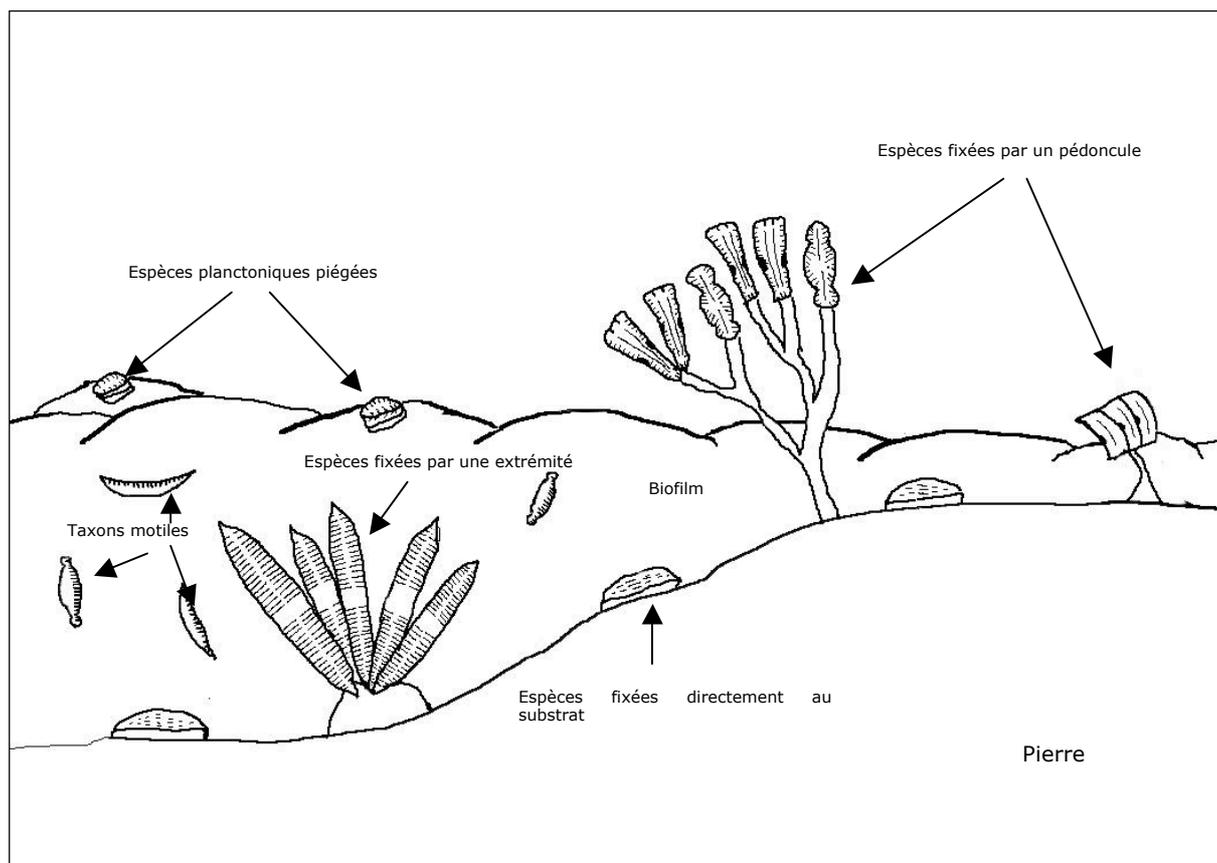


Figure 3 : Diagramme schématique simplifié de la disposition des différentes diatomées dans le biofilm. Modifié d'après Kelly et Yallop – DARES – présentation

Les diatomées comme bio-indicateurs

De part leur écologie, les diatomées peuvent être considérées comme de bons bio-indicateurs. « Un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un 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 et de mettre en évidence aussi précocement que possible les modifications, naturelles ou provoquées, de ce dernier » (Blandin, 1986).

Les principaux avantages des diatomées comme bio-indicateurs sont :

- une répartition importante dans toutes les rivières,
- un échantillonnage rapide et « facile »,
- un cycle cellulaire rapide et par voie de conséquence une réaction rapide aux perturbations,
- une relative insensibilité à la qualité physique du milieu,
- une technique de comptage au microscope « rapide » et fidèle,
- un nombre de cellules par unité de surface de substrat énorme ce qui rend l'évaluation des comptages aléatoires excellente,

- les besoins écologiques des diatomées peuvent être connus facilement,
- des enregistrements permanents peuvent être fait pour chaque échantillon (Round 1993 in Taylor 2005, Coste 1994).

Le plus gros inconvénient de l'étude des diatomées réside dans la perpétuelle évolution de la taxinomie. De plus, elle n'est pas forcément acceptée par les différents diatomistes. Un autre problème est le recours au microscope électronique qui devient nécessaire pour les détails non visibles au microscope optique.

Indices diatomiques

L'intérêt principal des études biocénotiques est l'intégration du facteur temps, ce qui est complémentaire aux analyses chimiques qui peuvent être comparées à une photographie instantanée des conditions du milieu.

Ces dernières décennies ont vu se développer, tant en Europe que dans le reste du monde, de nombreuses méthodes qui tendent à traduire de manière fiable le niveau de dégradation ou de qualité des biotopes aquatiques, à partir de l'étude des diatomées. Ces procédures se basent généralement sur les préférences écologiques des différentes espèces et ont conduit à la mise au point et au développement de divers indices diatomiques qui permettent d'évaluer la qualité biologique des cours d'eau, de manière chiffrée.

Bien que de nombreux indices soient développés pour le continent européen, il n'existe que peu d'application en milieu tropical, malgré l'existence de différentes études sur les diatomées qui aboutissent à la publication de flore. Peut être cité, un indice générique, GI pour Generic index, basé sur le ratio de l'abondance de certains genres par rapport à d'autres (Wu, 1999 et Wu et *al.*, 2002) qui a été appliqué pour des rivières de Taïwan.

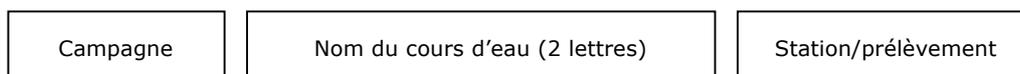
3 Matériels et méthodes

3.1 Prélèvement des échantillons

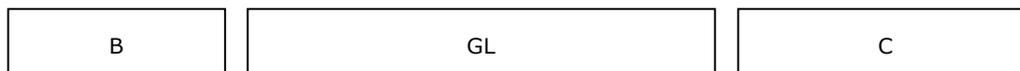
3.1.1 Les stations d'études

Les cinq campagnes de prélèvement prévues ont été effectuées et ont fait l'objet d'un rapport de terrain pour chacune d'entre elles. Après la première campagne (51 stations), un réajustement a été apporté aboutissant à l'ajout, notamment, de nouvelles stations suivies en physico-chimie (Avenant N° 1 de la convention). Ces stations deviennent celles définies pour toutes les campagnes suivantes de l'étude.

Un code de 4 lettres pour chaque station a été attribué dont la nomenclature est détaillée ci-dessous.



Exemple :



B = Campagne B = avril/mai 2009

GL = Rivière des Galets

C = Station C = Amont barrage Ilo

La même station lors de la campagne d'octobre/novembre 2008 a été codée AGLC.

Figure 4 : Schéma explicatif des codes des relevés

Le tableau 1 dresse la liste des stations (code diatomée-code Office de l'Eau) prélevées avec leurs coordonnées GPS ainsi que les dates de prélèvements selon les différentes campagnes.

Tableau 1 : Liste des stations (code diatomée-code Office de l'Eau), coordonnées GPS et dates de prélèvement

Station	Longitude WGS 84	Latitude WGS 84	Altitude (m)	Code OLE	Dates de prélèvement selon campagne				
					A	B	C	D	E
BCA	339048	7656089	370	34077	20/11/2008	24/04/2009	27/10/2009	24/04/2010	19/10/2010
BCB	339721	7650630	200	34079	20/11/2008	24/04/2009	27/10/2009	24/04/2010	19/10/2010
BEA	340964	7662566	1190	18800	20/11/2008	24/04/2009	27/10/2009	24/04/2010	19/10/2010
BNA	342502	7662218	1000	18121	20/11/2008	24/04/2009	27/10/2009	24/04/2010	19/10/2010
BPA	363475	7676522	8	23008	/	28/04/2009	28/10/2009	28/04/2010	12/10/2010
BSA	333748	7677727	346	14286	27/11/2008	20/05/2009	04/11/2009	27/04/2010	27/10/2010
CMA	319046	7675113	1	16800	26/11/2008	11/05/2009	02/11/2009	03/05/2010	25/10/2010
CVA	352860	7677010	250	22079	/	29/04/2009	21/10/2009	01/05/2010	20/10/2010
DNA	337065	7687272	70	14015	13/11/2008	28/04/2009	20/10/2009	04/05/2010	21/10/2010
DNB	336403	7686795	260	14800	24/11/2008	07/05/2009	23/10/2009	04/05/2010	21/10/2010
DNC	337926	7689400	20	14362	24/11/2008	28/04/2009	20/10/2009	04/05/2010	21/10/2010
ERA	319046	7675113	1	15109	26/11/2008	11/05/2009	02/11/2009	03/05/2010	11/10/2010
ESA	370214	7663999	190	28019	01/12/2008	27/04/2009	02/11/2009	29/04/2010	18/10/2010
ETA	357858	7665863	532	26083	01/12/2008	27/04/2009	26/10/2009	05/05/2010	13/10/2010
FJA	343424	7673061	670	25027	28/11/2008	01/05/2009	30/10/2009	05/05/2010	15/10/2010
FJB	348441	7675977	350	25031	19/11/2008	13/05/2009	21/10/2009	14/04/2010	20/10/2010
GJA	355036	7680648	312	22011	24/11/2008	04/05/2009	19/10/2009	22/04/2010	12/10/2010
GLA	337617	7666925	1400	18801	28/11/2008	30/04/2009	29/10/2009	04/05/2010	14/10/2010
GLB	335125	7667023	1200	18105	28/11/2008	30/04/2009	29/10/2009	05/05/2010	14/10/2010
GLC	334000	7674430	300	17055	27/11/2008	29/04/2009	04/11/2009	27/04/2010	27/10/2010
GLD	330555	7678396	120	13093	27/11/2008	29/04/2009	04/11/2009	27/04/2010	27/10/2010
GOA	333901	7645319	3	37101	/	11/05/2009	02/11/2009	03/05/2010	25/10/2010
GSA	347572	7656816	690	41016	04/12/2008	05/05/2009	03/11/2009	30/04/2010	26/10/2010
LGA	360302	7645148	685	46138	18/11/2008	25/04/2009	22/10/2009	23/04/2010	22/10/2010
LGB	359110	7642687	430	46078	18/11/2008	25/04/2009	22/10/2009	23/04/2010	22/10/2010
LGC	359369	7639703	270	46050	18/11/2008	25/04/2009	22/10/2009	23/04/2010	22/10/2010
LGD	359604	7635129	40	46090	18/11/2008	25/04/2009	22/10/2009	23/04/2010	22/10/2010
LNA	355695	7674288	666	26008	25/11/2008	04/05/2009	23/10/2009	25/04/2010	11/10/2010
MAA	344265	7671094	670	25026	19/11/2008	13/05/2009	21/10/2009	01/05/2010	15/10/2010
MAB	348944	7674644	360	25032	19/11/2008	13/05/2009	21/10/2009	14/04/2010	20/10/2010
MAC	352947	7677127	250	22078	19/11/2008	29/04/2009	21/10/2009	01/05/2010	20/10/2010
MAD	363045	7679219	30	23060	01/12/2008	29/04/2009	19/10/2009	22/04/2010	16/10/2010
MNA	332192	7646157	4	37800	/	11/05/2009	02/11/2009	03/05/2010	25/10/2010
MRA	351107	7664669	1300	25058	17/11/2008	27/04/2009	28/10/2009	25/04/2010	18/10/2010
MRB	355769	7666733	851	26800	17/11/2008	02/05/2009	26/10/2009	04/05/2010	12/10/2010
MRC	363101	7672829	60	27054	25/11/2008	27/04/2009	28/10/2009	25/04/2010	12/10/2010
MRD	366189	7672946	5	27107	01/12/2008	27/04/2009	28/10/2009	28/04/2010	12/10/2010
PLA	344866	7685016	140	21018	02/12/2008	28/04/2009	20/10/2009	20/04/2010	13/10/2010
PLB	343039	7680829	340	14287	02/12/2008	28/04/2009	20/10/2009	20/04/2010	13/10/2010
PLC	344381	7689221	25	21128	02/12/2008	02/05/2009	20/10/2009	03/05/2010	11/10/2010
PNA	344924	7653202	410	41012	05/12/2008	06/05/2009	03/11/2009	26/04/2010	23/10/2010
PNB	344673	7652339	350	41030	05/12/2008	06/05/2009	03/11/2009	26/04/2010	23/10/2010
PTA	361999	7676910	40	23034	25/11/2008	28/04/2009	28/10/2009	28/04/2010	12/10/2010
ROA	360483	7673453	12	27104	25/11/2008	04/05/2009	28/10/2009	25/04/2010	12/10/2010
ROB	364195	7676713	5	23063	25/11/2008	04/05/2009	28/10/2009	25/04/2010	12/10/2010
ROC	360643	7673362	158	27044	/	04/05/2009	28/10/2009	25/04/2010	13/10/2010
RPA	356739	7634990	10	46102	18/11/2008	25/04/2009	22/10/2009	23/04/2010	22/10/2010
SBA	361009	7673384	160	27046	25/11/2008	04/05/2009	26/10/2009	25/04/2010	13/10/2010
SEA	335830	7644693	35	38147	20/11/2008	11/05/2009	22/10/2009	03/05/2010	11/10/2010
SGA	316949	7671492	40	15057	21/11/2008	15/04/2009	09/11/2009	06/05/2010	18/10/2010
SJA	357545	7685433	6	22174	24/11/2008	04/05/2009	19/10/2009	22/04/2010	16/10/2010
SJB	357499	7686466	1	22136	26/11/2008	11/05/2009	02/11/2009	03/05/2010	25/10/2010
SZA	355794	7686544	3	22057	24/11/2008	28/04/2009	19/10/2009	28/04/2010	16/10/2010
SZB	353485	7684580	150	22180	24/11/2008	19/05/2009	19/10/2009	29/04/2010	16/10/2010
SZC	352549	7682561	365	22144	24/11/2008	19/05/2009	19/10/2009	28/04/2010	16/10/2010
SZD	355330	7687440	1	22800	26/11/2008	/	/	/	/

Le tableau 2 récapitule l'ensemble des stations prélevées et la correspondance des codes utilisés, leur appartenance aux hydro-écorégions de Wasson (2004) et certaines données de typologie de Malavoi (1998, 1999).

Tableau 2 : Liste des stations prélevées (HER : Hydro-écorégion (Wasson), HMR : Hydro-Morpho-région (Malavoi))

Code	Station	HER de Wasson	Typologie de Malavoi	Avenant 1
BCA	Le Grand Bras de Cilaos au Pavillon	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	HMR sous le vent , sous région cirque de Cilaos / système drainant l'ancienne caldeira, leurs couloirs de sorties et les cônes de déjection / profil en long concave classique / Roche mère 7,5% pour 29 km analysés = cours d'eau "alluviaux" / Cours d'eau à séquences très diversifiées	
BCB	Le Bras de Cilaos à llet Furcy	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		
BEA	Le Bras des étangs aux anciens thermes	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	/	
BNA	Le Bras de Benjoin à Cilaos (sentier de Trois Mares à Bras Sec)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	HMR sous le vent , sous région cirque de Cilaos /Cours d'eau peu diversifié / très torrentiel / 2 chutes	
BPA	Le Bras Panon aux Avocatsiers	5 : Versants au vent	HMR au vent, Sous région pentes orientales / Cours d'eau très diversifié (5,6 types de faciès dominants) / Cours d'eau peu torrentiels (radiers, plats dominant) + une proportion importante de faciès lenticques (plats et chenaux lenticques)	Station ajoutée à partir de la deuxième campagne
BSA	Le Bras de Sainte-Suzanne à Mafate (amont captage ILO)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	/	
CMA	La Ravine du Cimetière à Saint-Paul	1 : Versants Sud-Ouest secs	/	Station dégradée suivi chimie/diatomée
CVA	Le Bras de Caverne amont confluence Rivière du Mât	4 : Cirques Sud et Est au vent	HMR au vent, sous région cirque de Salazie / Cours d'eau très diversifiés à faciès plutôt torrentiels (cascades, cascades-baignoire, rapide) / 4 chutes	Station ajoutée à partir de la deuxième campagne
DNA	La Rivière Saint-Denis (amont captage AEP)	3 : Versants Nord intermédiaires	HMR au vent, sous régions vallées encaissées / Profil en long cahotique sur l'amont de son cours / Roche mère 34,5% pour 13,3 km analysée = cours d'eau mixtes (roche mère et alluvions) / Cours d'eau à séquences moyennement diversifiées	
DNB	La Rivière Saint-Denis à l'aplomb d'Ilet à Guillaume	3 : Versants Nord intermédiaires		
DNC	La Rivière Saint-Denis au pont Vihn San	3 : Versants Nord intermédiaires		
ERA	La Ravine de l'Ermitage à l'Ermitage	1 : Versants Sud-Ouest secs	/	
ESA	La Rivière de l'Est aval	5 : Versants au vent	HMR Sud-Est / profil en long : profil tendu / 6,8% roche mère = cours d'eau "alluviaux" / Cours d'eau à séquences moyennement diversifiées / Rapides dominant	
ETA	La Ravine de l'Etang de Grand Etang	5 : Versants au vent	/	
FJA	La Rivière des Fleurs Jaunes au CD 52	4 : Cirques Sud et Est au vent	HMR au vent, sous région cirque de Salazie / profil en long = profil concave classique / cours d'eau à séquences peu diversifiées	
FJB	La Rivière Fleurs Jaunes à Salazie (amont barrage ILO)	4 : Cirques Sud et Est au vent		

Code	Station	HER de Wasson	Typologie de Malavoi	Avenant 1
GJA	Le Grand Bras de la Grande Rivière Saint-Jean (captage AEP)	5 : Versants au vent	/	
GLA	La Rivière des Galets à Marla	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	HMR sous le vent / profil en long : chaotique sur l'amont de son cours / cours d'eau alluvial / cours d'eau à séquences très diversifiées	
GLB	La Rivière des Galets à Trois Roches	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		
GLC	La Rivière des Galets à Mafate (amont captage ILO et amont confluence Bras d'Oussy)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		
GLD	La Rivière des Galets à Ilet Malidé	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		
GOA	La Ravine du Gol à Bel Air	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		/
GSA	Le Bras de Sainte-Suzanne à Grand Bassin (600 m amont cascade)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	HMR sous le vent / Cours d'eau moyennement diversifiés à faciès plutôt torrentiels / 1 chute	
LGA	La Ravine des sept bras à Cap Blanc	4 : Cirques Sud et Est au vent	HMR Sud Est / profil en long intégralement cahotique / 100 % Roche mère sur 8,8 km / Cours d'eau à séquence moyennement diversifiées	
LGB	La Rivière Langevin (Cascade Grand Galet)	4 : Cirques Sud et Est au vent		
LGC	La Rivière Langevin à la Passerelle	4 : Cirques Sud et Est au vent		
LGD	La Rivière Langevin à Langevin (bassin Tamarin)	4 : Cirques Sud et Est au vent		
LNA	Le Bras des Lianes à Bellevue les Hauts	4 : Cirques Sud et Est au vent	HMR au vent, sous régions pentes orientales / Cours d'eau très diversifiés / Cours d'eau assez torrentiels / 16 Chutes	
MAA	La Rivière du Mât à l'Ilet à Vidot	4 : Cirques Sud et Est au vent	HMR au vent, sous régions cirque de Salazie / Profil en long concave classique / cours d'eau mixte Roche mère/alluviaux / cours d'eau rapides à radier rapides / Cours d'eau à trois tronçons caldeira/couloir/cône	
MAB	La Rivière du Mât à Salazie (amont barrage ILO)	4 : Cirques Sud et Est au vent		
MAC	La Rivière du Mât à l'Escalier	4 : Cirques Sud et Est au vent		
MAD	La Rivière du Mât à l'embouchure (Bras de Pierre)	4 : Cirques Sud et Est au vent		
MNA	La Ravine du Maniron au Plateau du Gol	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	/	Station dégradée suivi chimie/diatomée / Station ajoutée à partir de la deuxième campagne

Code	Station	HER de Wasson	Typologie de Malavoï	Avenant 1
MRA	La Rivière des Marsouins à La Plaine des Palmistes (Bébour)	5 : Versants au vent	HMR au vent, vallée encaissée / profil en long cahotique sur l'amont de son cours / cours d'eau mixte / cours d'eau à séquence très diversifiées	
MRB	La Rivière des Marsouins à Takamaka 1	5 : Versants au vent		
MRC	La Rivière des Marsouins à Bethléem	5 : Versants au vent		
MRD	La Rivière des Marsouins 50 m aval RN2	5 : Versants au vent		
PLA	La Rivière des Pluies à l'Illet Quinquina (amont canal la Mare)	3 : Versants Nord intermédiaires	HMR au vent, vallée encaissée / cours d'eau alluviaux / cours d'eau à séquence très diversifiées	
PLB	La Rivière des Pluies à l'aplomb du piton Tanan (gorge aval Ravine Diable)	3 : Versants Nord intermédiaires		
PLC	La Rivière des Pluies (embouchure)	3 : Versants Nord intermédiaires		
PNA	Le Bras de la Plaine (amont captage SAPHIR)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent	HMR sous le vent / profil en long concave classique / cours d'eau alluviaux / cours d'eau à séquence très diversifiées	
PNB	Le Bras de la Plaine à l'Illet du Bras Sec (aval puits AEP)	2 : Cirques Sud-Ouest sous le vent		
PTA	Le Bras Pétard Libéria	5 : Versants au vent	/	
ROA	La Rivière des Roches à Mon Désir	5 : Versants au vent	HMR au vent, sous région pente orientale / profil en long intégralement cahotique / Cours d'eau coulant majoritairement sur roche mère / cours d'eau à séquence moyennement diversifiées	
ROB	La Rivière des Roches à Beauvallon (amont radier)	5 : Versants au vent		
ROC	La Rivière des Roches à Abondance	5 : Versants au vent		Station ajoutée à partir de la deuxième campagne
RPA	La Rivière des Remparts Le Butor	4 : Cirques Sud et Est au vent	/	
SBA	Le Grand Bras à l'Olympe (amont confluence Rivière des Roches)	5 : Versants au vent	/	
SEA	La Rivière Saint-Etienne à la Chapelle	4 : Cirques Sud et Est au vent	/	
SGA	La Ravine Saint Gilles au captage du verrou	1 : Versants Sud-Ouest secs	HMR sous le vent / cours d'eau à séquence moyennement diversifiées	
SJA	La Grande Rivière Saint-Jean aval Quartier Français	5 : Versants au vent	HMR au vent, sous région pentes orientales	
SJB	La Grande Rivière Saint-Jean à Bois Rouge	5 : Versants au vent		Station dégradée suivi chimie/diatomée
SZA	La Rivière Sainte-Suzanne aux Cascades (radier Niagara)	3 : Versants Nord intermédiaires	HMR au vent, sous région pente orient / le profil en long intégralement cahotique / cours d'eau coulant majoritairement sur roche mère / cours d'eau à séquences peu diversifiées	
SZB	La Rivière Sainte-Suzanne (amont cascade Niagara)	3 : Versants Nord intermédiaires		
SZC	La Rivière Sainte-Suzanne au Bassin Grondin	3 : Versants Nord intermédiaires		
SZD	La Rivière Sainte-Suzanne au Village Desprez	3 : Versants Nord intermédiaires		Station supprimée à partir de la deuxième campagne

La figure 5 représente la localisation des différentes stations.

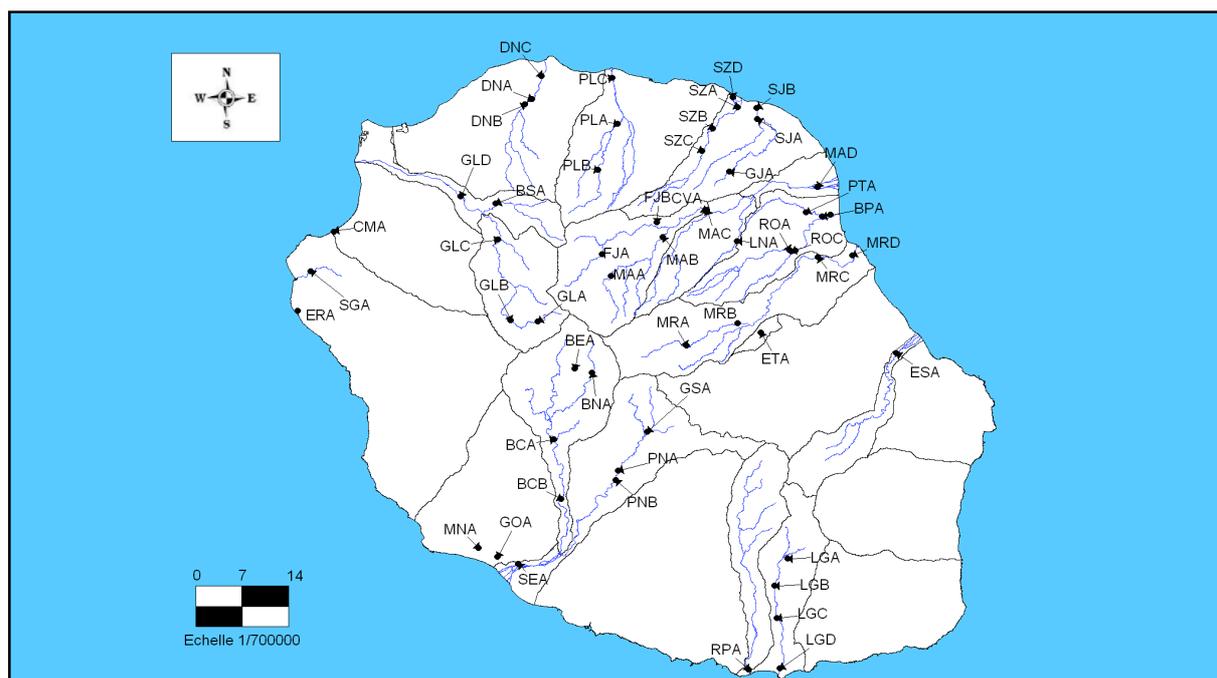


Figure 5 : Carte de localisation des stations

Le choix préliminaire des stations du réseau d'échantillonnage, mise en place en accord avec l'Office de l'Eau, permet une couverture relativement complète des différents bassins versants hydrographiques de l'île. Ce qui permet la capitalisation des informations nécessaires pour l'évaluation à terme de l'Etat Chimique et de l'Etat Ecologique des masses d'eau, comme requis par la DCE. L'ensemble des hydro-écorégions définies par Wasson (2004) à l'exception d'une, nommée formations volcaniques récentes, est pris en compte. Celle-ci correspond au versant Sud-Est du Piton de la Fournaise qui n'a pas de réseau hydrographique organisé.

Quatre stations particulièrement dégradées sont suivies spécifiquement pour les diatomées (avec prélèvements complémentaires en chimie) afin d'obtenir des informations sur les sites les plus pollués qui sont en faible nombre à La Réunion. En effet, le but des indices biologiques est d'évaluer le degré d'altération anthropique, ce qui nécessite de s'appuyer sur le gradient maximum d'altération qu'il est possible de rencontrer sur l'île. Ces jeux de données couplant chimie et flores phytobenthiques permettent de définir les différents profils écologiques des espèces de diatomées rencontrées au niveau de ces sites.

A l'exception de 12 stations qui font l'objet de prélèvements de diatomées exclusivement, les 43 autres sont en commun avec au moins un autre volet de l'étude ; poissons et macrocrustacés et/ou invertébrés.

Au bilan, le nombre de relevés phytobenthiques collectés tout au long de l'étude (51 + 55 x 4).

3.1.2 Protocole d'échantillonnage

La structure des communautés change selon les substrats utilisés, les perturbations (crues), les nutriments présents et par le broutage d'autres organismes (Biggs et al, 1998 in Taylor et al., 2005). L'effet saisonnier (différences thermiques, de débits, de dilution, voire rythmicité d'altérations comme celles liées aux usages agricoles, à l'agro-alimentaire...) n'est pas négligeable a priori sur les diatomées. Comme les espèces entrant dans l'indice seront seuillées sur un critère d'occurrence et/ou d'abondance relative, il est important d'avoir prospecté la variabilité saisonnière pour une assise représentative des espèces partie intégrante de l'indice.

Pour les campagnes de prélèvements déjà réalisées, les prélèvements ont été effectués à l'étiage. Pour la plupart, ils ont eu lieu à distance suffisante des événements hydrologiques perturbants (crues...) et préférentiellement au centre du lit du cours d'eau.

La méthode de prélèvement s'inspire des normes IBD (NF T 90-354) de décembre 2007 et de la norme européenne (NF EN 13946) de juillet 2003 et des articles de Kelly et al. 1998 et Prygiel et al. 2002.

Il existe différents microhabitats (épipelon (sédiments), épipsammon (sable), épilithon (graviers, pierres, blocs, roche mère), épiphyton (macrophytes)) qui présentent des assemblages différents de diatomées. Le substrat dur naturel (pierres, blocs) a été choisi parce que les rivières réunionnaises s'y prêtent bien, avec ce type de substrats facilement disponibles. La majorité des indices déjà existants est basée sur ce type de substrat qui s'est avéré performant (Kelly et al. 1998 et Prygiel et al. 2002). Les substrats devront être de taille suffisante pour ne pas être déplacés par le courant et une attention particulière a été portée pour être sûr qu'ils n'aient pas été exondés au cours de la période précédant le prélèvement.

Toutes les profondeurs sont échantillonnables tant qu'elles demeurent dans la zone euphotique.

Un échantillon n'est constitué que d'un seul type de support. Les zones proches des berges et/ou ombragées ont été évitées. Les prélèvements déjà effectués ont été faits préférentiellement dans la veine d'eau principale en zone lotique (préférence pour les radiers) et éclairée (évitement des couverts forestiers). Les zones à faible courant, quand cela était possible, ont été bannies car elles permettent le dépôt de sédiments et autres débris en suspension, ainsi que la persistance des diatomées mortes (thanatocénose). Si, malgré les précautions prises il reste des débris sur le support, il peut être agité brièvement dans l'eau du courant.

La pression d'échantillonnage étant à moduler en fonction de la densité des biofilms diatomiques présents sur les substrats, une surface comprise entre 100 et 1000 cm² a été prospectée et échantillonnée sur au moins 5 à 20 substrats différents. Par retour d'expérience sur les milieux tropicaux, cette surface est supérieure à ce qui se pratique généralement sur le continent européen. En effet, la disponibilité d'une quantité suffisante de matériel permet d'une part de sécuriser l'archivage des échantillons et d'autre part de faciliter le travail en laboratoire lors du traitement chimique des échantillons. Le but de l'analyse étant d'obtenir des valeurs fiables

d'abondances relatives des différentes espèces présentes dans l'échantillon, l'effort suffisant de l'échantillonnage permet une assise plus représentative de ces communautés, mais n'impose pas une connaissance de la surface exacte d'échantillonnage (approches non quantitatives). Le choix des supports est aléatoire vu la disponibilité du type de substrat prélevé. Les diatomées ont été récoltées par grattage de la surface supérieure des substrats (celle toujours en contact avec l'eau) (Cazaubon & Loudiki, 1986) à l'aide de brosses à dents. Afin d'éviter toute interférence entre deux échantillons, les brosses sont systématiquement remplacées à chaque relevé.

Le matériel biologique prélevé est immédiatement fixé au formol tamponné (10 % (v/v)) et conservé dans un pilulier. L'éthanol 90 % (v/v) peut également servir de fixateur.

Les renseignements suivants sont portés sur chaque flacon : code station, date du prélèvement, nom du préleveur. Des photographies de chaque station sont réalisées.

La plupart des sites se prête bien à la réalisation de prélèvement de diatomées selon le protocole choisi et détaillé ci dessus. Pour quelques stations comme sur l'ancien bras de la rivière Sainte-Suzanne (abandonné après la première campagne), la Ravine du Maniron et la rivière des Marsouins à Bébour (pour certaines campagnes) la récolte n'a pu être effectuée qu'en faciès lentique. La méthode doit pouvoir s'appliquer dans des zones lenticques bien que les faciès lotiques sont privilégiés.

Une fiche décrivant la station est remplie sur place.

En résumé

- 1- Vérification de la localisation du site (position GPS, cartographie, photos...).
- 2- Choix de la station de prélèvement (Pierres en zone lotique éclairée plutôt dans la veine principale du cours d'eau).
- 3- Choix du substrat, dans l'idéal, pierre sans dépôt de sédiments et sans macrophytes (bryophytes, algues filamenteuses...)
- 4- Récupération de l'épilithon par brossage de la face supérieure d'une dizaine de pierres avec une brosse à dent neuve
- 5- Récupération de la récolte dans un pilulier étiqueté
- 6- Fixation du prélèvement
- 7- Renseignement de la fiche de prélèvement et réalisation des photos

3.2 Traitement chimique et fabrication des lames

Les échantillons prélevés ont été acheminés à l'agence Asconit de Toulouges par nos soins.

Une partie aliquote fait l'objet d'un traitement chimique pour préparer les lames d'observation. L'objectif de ce traitement est de débarrasser les diatomées de leur contenu cellulaire ainsi que de la matière organique présente dans l'échantillon. A l'issue de ce traitement, il ne restera dans l'échantillon que les parties minérales et donc les frustules en silice des diatomées. L'aliquote est débarrassé du formol utilisé pour la fixation par des cycles de lavages/décantation à l'eau déminéralisée dans des béchers. Les béchers sont couverts pour éviter toutes contaminations entre échantillons. De l'acide chlorhydrique est ajouté pour éliminer les carbonates de calcium et commencer l'attaque de la matière organique. Après rinçage et décantation, le surnageant est éliminé par pipetage. La préparation est ensuite mise à chauffer avec du peroxyde d'hydrogène durant une journée. La température de la solution doit être d'environ 90°C pour obtenir un traitement optimal durant une dizaine d'heures. Quatre cycle rinçage/décantation sont ensuite effectués pour éliminer tous les résidus des produits chimiques utilisés.

La totalité des échantillons des cinq campagnes a été traitée.

Après homogénéisation de l'échantillon traité restant, une goutte est déposée à l'aide d'une pipette pasteur sur une lamelle préalablement dégraissée (dans de l'eau savonneuse) ensuite celle-ci est laissée au repos jusqu'à l'évaporation totale du liquide. Le séchage se déroule à température ambiante. Le montage de la lamelle sur la lame se fait dans un milieu à indice de réfraction élevé (Naphrax, Brunel Microscopes Ltd). La plupart des détails structuraux des diatomées sont à la limite de la résolution de la lumière ce qui explique l'utilisation de ce milieu de montage. Une vérification de la concentration en diatomée en conditions réelles de comptage (objectif X100) est réalisée, pour aboutir après réglage (dilution ou concentration de l'échantillon traité) à une densité correcte de 10 à 20 unités diatomiques par champs. La lame est alors prête pour la détermination et l'inventaire.

La majeure partie de l'échantillon traité est archivé dans l'éthanol et pourra être utilisée notamment pour les préparations pour le microscope électronique et la fabrication ultérieure de lame d'observation.

3.3 Détermination des taxons et inventaires

Les inventaires ont pu être effectués sur 269 relevés. Les inventaires floristiques des stations AROB (La Rivière des Roches à Beauvallon (amont radier) - première campagne) et BCVA (Le Bras de Caverne amont confluence Rivière du Mât – deuxième campagne) n'ont pu être réalisés par manque de matériel biologique. Un inventaire supplémentaire issu d'un rejet sur une rive de la Rivière Saint Denis a été effectué.

Les observations se font au grossissement X1000. Le microscope photonique utilisé est un Leica DM5000 B (Leica Microsystems GmbH, Germany) qui permet des observations en fond clair, en contraste de phase et en contraste interférentiel différentiel (DIC). Ces différentes techniques d'éclairage permettent une meilleure visualisation des petites espèces ainsi que des détails des ornements. Un système de capture vidéo (caméra Leica DFC 420 digital) permet de photographier les différents individus ainsi que de les mesurer en direct.



Figure 6 : Microscope et logiciel de capture d'image et de mesures

Il existe plusieurs méthodes de comptage des unités diatomiques référencées notamment dans CEN 2004. Les choix effectués sont listés ci-dessous.

L'unité de base choisie est la valve (1 frustule = 2 valves). Le nombre de valves comptées a été fixé à 500. Il est recommandé de compter entre 300 à 500 unités selon le CEN 2004 et au moins 400 selon la norme AFNOR 2007. L'analyse de la lame se fait par champs par un balayage lent, vertical ou horizontal, et chaque unité diatomique présente dans le champ d'observation est identifiée et ajoutée au total jusqu'au champ d'observation suivant. Le mode opératoire est répété jusqu'à l'obtention du total d'unités requis. Une attention particulière est apportée pour ne pas compter plus d'une fois une unité diatomique. La prise en compte des valves cassées se fait uniquement si au moins un pôle et la partie centrale sont présents, ce qui évite de compter deux fois la même unité. La même

règle est utilisée si l'unité dépasse du champ d'observation. Les taxons observés sont régulièrement photographiés pour éviter toute dérive d'identification pour les taxons déjà connus et pour une recherche ultérieure pour ceux encore non connus.

Des prises de vue au microscope électronique ont déjà été effectuées, soit par M. Coste (Cemagref Bordeaux) et E. Sellier (CREMEM de l'Université de Bordeaux 1) avec un microscope électronique ZEISS EVO50, soit par R. Le Cohu, C. Deshayes, S. Le Blond-Duplouy (Université Paul Sabatier Toulouse) et G. Gassiole (Asconit consultants) avec un microscope électronique JEOL-JSM 6700F.

D'un point de vue pratique, les inventaires sont effectués à l'aide d'une macro Excel qui joue le rôle de compteur manuel. Une « courbe d'épuisement » peut alors être tracée ce qui permet d'avoir une image de la diversité spécifique de la lame comptée. Cette méthode (1000 unités comptées) a été appliquée lors des inventaires de la deuxième campagne et de la troisième campagne.

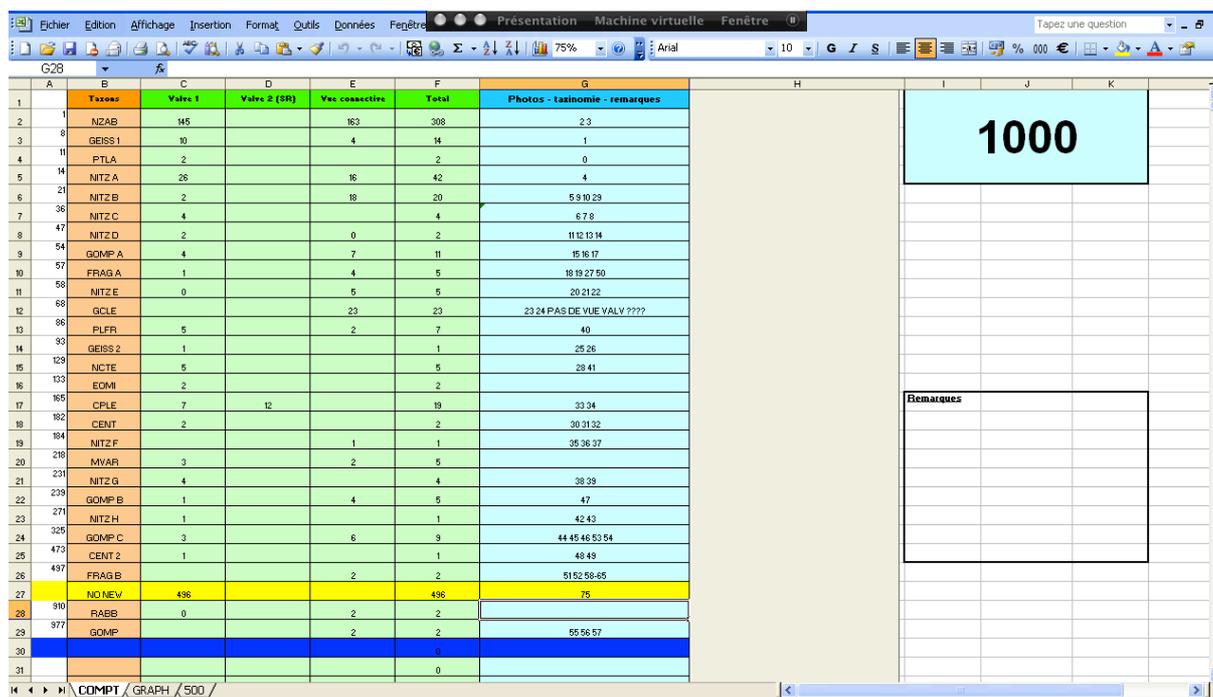


Figure 7 : Capture d'écran d'un comptage

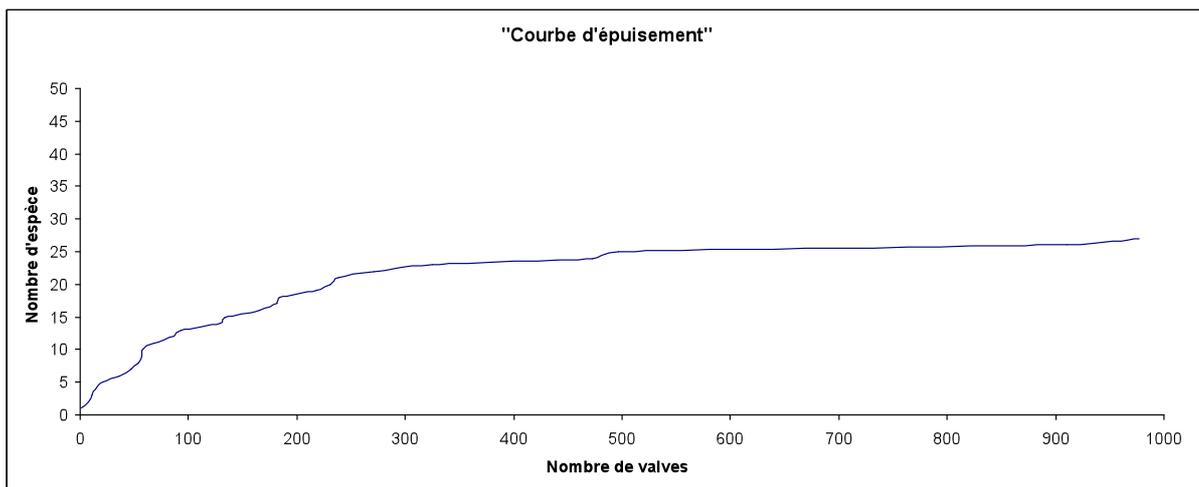


Figure 8 : Exemple de courbe d'épuisement

A partir de 500, les taxons nouveaux apparaissant dans le comptage présentent une abondance relative toujours inférieure à 1%. Au niveau de la diversité spécifique le tableau 2 récapitule le pourcentage de nouveaux taxons de l'inventaire apparaissant de 100 en 100 au cours du comptage.

Tableau 3 : Pourcentage de nouveaux taxons de l'inventaire apparaissant de 100 en 100 au cours du comptage (sur le jeu de tous les relevés de la deuxième campagne et de la troisième campagne)

Nombre d'unités comptées	Pourcentage de nouveaux taxons apparaissant dans l'inventaire par rapport à la diversité totale de l'inventaire			
	Moyenne	Minimum	Maximum	Médiane
100	46	8	73	46
200	15	0	35	14
300	10	0	26	10
400	9	0	27	9
500	12	0	50	8
600	5	0	25	2
700	2	0	13	0
800	5	0	33	0
900	3	0	50	0
1000	2	0	13	0

Si l'on considère la médiane, à partir de 600 unités comptées par rapport à 500, il n'y a plus que 2% de nouveaux taxons comptabilisés. La limite de 500 unités comptabilisées a été choisie et semble être représentative de la diversité spécifique d'un échantillon.

Les déterminations ont été effectuées en s'aidant de nombreuses flores disponibles dont un aperçu non exhaustif suit.

Sübwasserflora von Mitteleuropa :

KRAMMER K. and LANGE-BERTALOT H., *Bacillariophyceae 1. Naviculaceae*. H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer ed., Sübwasserflora von Mitteleuropa - Vol.2/1 (Gustav Fisher Verlag, Stuttgart - New York, 1986). 876 p.

KRAMMER K. and LANGE-BERTALOT H., *Bacillariophyceae 2. Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae*. H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer ed., Sübwasserflora von Mitteleuropa - Vol.2/2 (Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 1988). 611 p.

KRAMMER K. and LANGE-BERTALOT H., *Bacillariophyceae 3. Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae*. H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer ed., Sübwasserflora von Mitteleuropa - Vol.2/3 (Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 1991). 599 p.

KRAMMER K. and LANGE-BERTALOT H., *Bacillariophyceae 4. Achnanthaceae. Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema*. H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer ed., Sübwasserflora von Mitteleuropa - Vol.2/4 (Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 1991). 468 p.

KRAMMER K. and LANGE-BERTALOT H., *Bacillariophyceae 5. English and French translation of the keys*. H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer ed., Sübwasserflora von Mitteleuropa - Vol.5 (Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 2000). 311 p.

Diatoms of Europe :

KRAMMER K., *The genus Pinnularia*. H. Lange-Bertalot ed., Diatoms of Europe - Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats - Vol.1 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2000). 703 p.

KRAMMER K., *Cymbella*. H. Lange-Bertalot ed., Diatoms of Europe - Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats - Vol.3 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2002). 584 p.

KRAMMER K., *Cymbopleura, Delicata, Navicymbela, Gomphocymbellopsis, Afrocybella*. H. Lange-Bertalot ed., Diatoms of Europe - Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats - Vol.4 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2003). 530 p.

LANGE-BERTALOT H., *Navicula sensu stricto - 10 genera separated from Navicula sensu lato - Frustulia*. H. Lange-Bertalot ed., Diatoms of Europe - Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats - Vol.2 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2001). 526 p.

LEVKOV Z., *Amphora sensu lato*. H. Lange-Bertalot ed., Diatoms of Europe - Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats - Vol.5 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2009). 916 p.

Iconographia Diatomologica :

LANGE-BERTALOT H. and METZELTIN D., *Annotated Diatom Micrographs*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.2 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 1996). 390 p.

LANGE-BERTALOT H. and GENKAL S.I., *Diatoms from Sibéria I - Islands in the Arctic Ocean (Yugorsky-Shar Strait)*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.6 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 1999). 294 p.

LEVKOV Z., KRSTIC S., METZELTIN D. and NAKOV T., *Diatoms of Lakes Prespa and Ohrid*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.16 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2007). 613 p.

METZELTIN D. and LANGE-BERTALOT H., *Diatoms from the Island continent Madagascar*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.11 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2002). 286 p.

METZELTIN D. and LANGE-BERTALOT H., *Tropical Diatoms of South America*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.18 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2007). 877 p.

METZELTIN D. and LANGE-BERTALOT H., *Tropical Diatoms of South America I*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.5 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 1998). 695 p.

METZELTIN D., LANGE-BERTALOT H. and GARCIA-RODRIGUEZ F., *Diatoms of Uruguay. Compared with other taxa from South America and elsewhere*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.15 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2005). 736 p.

REICHARDT E., *Zur Revision der Gattung Gomphonema. Die Arten um G. affine/insigne, G. angustatum/micropus, G. acuminatum sowie gomphonemoide Diatomeen aus dem Obereroligozän in Böhmen*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.8 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 1999). 203 p.

REICHARDT E., *Die Diatomeen (Bacillariophyceae) in Ehrenbergs Material von Cayenne, Guyana Gallica (1843)*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.1 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 1995). 99 p.

RUMRICH U., LANGE-BERTALOT H. and RUMRICH M., *Diatomeen der Anden, Von Venezuela bis Patagonien/Tierra del Fuego*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.9 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2000). 673 p.

WERUM M. and LANGE-BERTALOT H., *Diatom in springs*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.13 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2004). 479 p.

WITKOWSKI A., LANGE-BERTALOT H. and METZELTIN D., *Diatom flora of marine coasts*. H. Lange-Bertalot ed., Iconographia Diatomologica - Vol.7 (A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, 2000). 925 p.

Bibliotheca Diatomologica :

ZALOCAR DE DOMITROVIC Y. and MAIDANA N.I., *Taxonomic and ecological studies of the Paraná River diatomflora (Argentina)*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.34 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1997). 122 p.

FOGED N., *Freshwater & Littoral diatoms from Cuba*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.5 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1984). 248 p.

HOFMANN G., *Aufwuchs-Diatomeen in Seen und ihre Eignung als Indikatoren der Trophie*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.30 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1994). 241 p.

KACZMARSKA I. and RUSHFORTH S.R., *The diatom flora of Blue Lake Warm Spring Utah, USA*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.2 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1983). 49 p.

KRAMMER K., *Die cymbelloiden Diatomeen. Eine Monographie der weltweit bekannten Taxa. Teil 1. Allgemeines und Encyonema Part.* H. Lange-Bertalot and P. Kociolek ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.36 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1997). 382 p.

KRAMMER K., *Die cymbelloiden Diatomeen. Eine Monographie der weltweit bekannten Taxa. Teil 2. Encyonema part., Encyonopsis and Cymbellopsis*. H. Lange-Bertalot and P. Kociolek ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.37 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1997). 469 p.

LANGE-BERTALOT H., *85 Neue taxa und über 100 weitere neu definierte taxa ergänzen zur Sübwasserflora von Mitteleuropa*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.27 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1993). 454 p.

LANGE-BERTALOT H., *85 Neue taxa und über 100 weitere neu definierte taxa ergänzend zur Sübwasserflora von Mitteleuropa - Talfen - Plates*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.27 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1993). 134 p.

LANGE-BERTALOT H. and KRAMMER K., *Achnanthes, eine Monographie der Gattung mit Definition der Gattung Cocconeis und Nachträgen zu den Naviculaceae*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.18 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1989). 389 p.

LANGE-BERTALOT H. and MOSER G., *Brachysira, Monographie der Gattung und Naviculadicta nov. gen.*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.29 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1994). 212 p.

LANGE-BERTALOT H. and KRAMMER K., *Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. Neue und wenig bekannte Taxa, neue Kombinationen und Synonyme sowie Bemerkungen und Ergänzungen zu den Naviculaceae*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.15 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1987). 289 p.

MOSER G., STEINDORF A. and LANGE-BERTALOT H., *Neukaledonien : Diatomeenflora einer Tropeninsel*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.32 (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1995). 340 p.

MOSER G., LANGE-BERTALOT H. and METZELTIN D., *Insel der Endemiten. Geobotanisches Phänomen Neukaledonien*. Bibliotheca Diatomologica - Vol. 38. H. Lange-Bertalot ed. (J. Cramer, Berlin - Stuttgart, 1998) 464 p.

MOSER G., *Die diatomeenflora von Neukaledonien*. H. Lange-Bertalot ed., Bibliotheca Diatomologica - Vol.43 (J.Cramer, Berlin - Stuttgart, 1999). 205 p.

Autres livres ou ouvrages :

BOURRELLY P., *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II : Les algues jaunes et brunes : Chrysophytes, Xanthophycées et Diatomées* (N. BOUBÉE & Cie, Paris, 1981) 517 p.

ECTOR L. and HLUBIKOVA D., *Atlas des diatomées des Alpes-Maritimes et de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur* (Conseil Général des Alpes-Maritimes, 2009) 393 p.

HÜRLIMANN J. and NIEDERHAUSER P., *Methodes d'analyse et d'appréciation des cours d'eau : Diatomées - Niveau R (région)*. (OFEV, Berne, 2007) 111 p.

KÜTZING F.T., *Die kieselschaligen Bacillarien oder Diatomeen* (Nordhausen, 1844) 152 p.

LAVOIE I., HAMILTON P.B., CAMPEAU S., GRENIER M. and DILLON P.J., *Guide d'identification des Diatomées des rivières de l'Est du Canada* (Presses de l'Université du Québec, Québec, 2008) 252 p.

ROUND F.E., CRAWFORD R.M. and MANN D.G., *The diatoms. Biology & morphology of the genera* (Cambridge University Press, Cambridge, 2007) 747 p.

VAN HEURCK H., *Synopsis des diatomées de Belgique* (H. Van Heurck, Anvers, 1885) 235 p.

VAN HEURCK H., *A treatise on the Diatomaceae* (William Wesley & Son, Strand, W.C., 1896) 558 p.

BIBLIOGRAPHIE

Adl S., Simpson A., Farmer M., Andersen R., Anderson O., Barta J., Bowser S., Brugerolle G., Fensome R., Fredericq S., James T., Karpov S., Kugrens P., Krug J., Lane C., Lewis L., Lodge J., Lynn D., Mann D., Mccourt R., Mendoza L., Moestrup O., Mozley-Standridge S., Nerad T., Shearer C., Smirnov A., Spiegel F. et Taylor M. (2005). The new higher level classification of Eucaryotes with emphasis on the taxonomy of Protists. *J. Eucaryot. Microbiol.* 52(5). pp. 399-451

AFNOR (2000). Qualité de l'eau. Détermination de l'Indice Biologique Diatomée. NF T 90-354 mai 2000. 63p.

AFNOR (2007). Qualité de l'eau - Détermination de l'indice biologique diatomées (IBD). Norme NF T90-354 Dec.2007. 79p.

Biggs BJ, Stevenson RJ et Lowe RL (1998). A habitat matrix conceptual model for stream periphyton. *Archiv für Hydrobiologie* 143 : 21-56.

Blandin P. (1986). Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.* 17: 215-307.

Cazaubon, A. et Loudiki, M. (1986). Microrépartition des algues épilithiques sur les cailloux d'un torrent Corse, le Rizzanèse. *Ann. Limnol.* 22: 3-16.

CEN (2003). Qualité de l'eau - guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières. Norme NF EN 13946. Juil. 2003. 16p.

CEN (2004). Qualité de l'eau - guide pour l'identification et le dénombrement des échantillons de diatomées benthiques de rivières, et leur interprétation. Norme NF EN 14407. Oct. 2004. 11p.

Coste M. et Leynaud G. (1974). Etudes sur la mise au point d'une méthode biologique de détermination de la qualité des eaux en milieu fluvial, Rapport CTGREF - AFBSN, Paris: 80 p.

Coste M., Peres F., Le Cohu R., Sellier E. et Morin S. (2008). Biodiversité des diatomées benthiques des rivières de la Réunion : floristique et biogéographie. 216p.

Coste M. (1994). Sur l'utilisation des diatomées dans le diagnostic biologique de la qualité des eaux courantes – Intérêts et limites des indices. Séminaire national 2 et 3 novembre 1994, Paris : Les variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques. Pp 136-152

Coste M., *in* CEMAGREF (1982). Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux., Rapport Q.E.Lyon-A.F. Bassin Rhône-Méditerranée-Corse: 218 p.

Kelly M.G., Cazaubon A., Coring E., Dell'Uomo A., Ector L., Goldsmith B., Guash H., Hürlimann J., Jarlman A., Kawecka B., Kwandrans J., Laugaste R., Lindstrom EA., Leitao M., Marvan P., Padisak J., Pipp E., Prygiel J., Rott E., Sabater S., Van Dam H. et Vizinet J. (1998). Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 10 : 215-224.

Lecoite C., Coste M. et Prygiel J. (1993). "OMNIDIA" software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia*. 269/270: 509-513.

Malavoi (1998). Typologie et sectorisation des cours d'eau de La Réunion. Rapport Final. DIREN Réunion.23p.

Malavoi (1999). Typologie et sectorisation des petits cours d'eau de La Réunion. Rapport Final. DIREN Réunion.43p.

Mann D. G. et droop S. J. M. (1996). 3. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia*. 336: 19-32.

Othoniel C. (2006). La croissance du biofilm photosynthétique : un indicateur du statut trophique des rivières ? Thèse de Doctorat en Biogéochimie de l'Environnement, Université Bordeaux 1, 277p.

Prygiel J., Carpentier P., Almeida S., Coste M., Druart J.-C., Ector L., Honoré M.-A., Iserentant R., Ledeganck P., Lalanne-Cassou C., Lesniak C., Mercier I., Moncaut P., Nazart M., Nouchet N., Peres F., Peeters V., Rimet F., Rumeau A., Sabater S., Straub F., Torrisi M., Tudesque L., Van De Vijver B., Vidal H., Vizinet J. and Zydek N. (2002). Determination of the biological diatom index (IBD NF T 90-354): results of an intercomparison exercise. *Journal of Applied Phycology* 14: 27-39.

Round F. E., Crawford R. M. et Mann D. G. (1990). The Diatoms. Biology and morphology of the genera, *Cambridge Univ. Press*, Cambridge, 747 p.

Round F. E. (1993). A review and methods for the use of epilithic diatoms for detecting and monitoring changes in river water quality. Methods for the examination of water and associated materials. HMSO Publications, London

Rumeau A. et Coste M. (1988). Initiation à la systématique des Diatomées d'eau douce. Bull. Fr. Piscic. 309: 69 p.

Taylor J., De La Rey P. A. et Van Rensburg L. (2005). Recommendations for the collection, preparation and enumeration of diatoms from riverine habitats for water quality monitoring in South Africa. African Journal of Aquatic Science, 30 (1) : 65-75

Van Dam H., Mertens A. and Sinkeldam J. (1994). A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. Netherlands Journal of Aquatic Ecology. 28: 117-133.

Wasson J. G., Chandesris A. et Pella H. (2004). Hydro-écorégions de l'île de la Réunion. Propositions de régionalisation des écosystèmes aquatiques en vue de l'application de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau. Rapport Cemagref, 16p.

Wetzel R. G. (1983). Periphyton of freshwater ecosystems. Development in Hydrobiology., JUNK Ed. The Hague. 17: 346 p.

Wu J. T (1999). A generic index of diatom assemblages as bioindicators of pollution in the Keelung River of Taiwan. Hydrobiologia 397 : 79-87.

Wu J.-T. et Kow L.-T. (2002). Applicability of a generic index for diatom assemblages to monitor pollution in the tropical River Tsanwun, Taiwan. Journal of Applied Phycology. 14: 63-69.

Résumé :

L'Indice Diatomique Réunion (IDR) est un nouvel outil de bioindication, destiné à l'évaluation de la qualité biologique des cours d'eau de l'île de la Réunion à partir de la composition spécifique des communautés locales de diatomées benthiques. Cet outil a été développé conjointement par Asconit et l'Irstea, dans le cadre d'un programme de Recherche-Développement mis en œuvre de 2008 à 2011 par l'Office de l'Eau et la DEAL de la Réunion, avec une contribution financière de l'Union Européenne (FEDER) et de l'ONEMA. L'objectif était de doter la Réunion d'un outil diatomique adapté aux conditions biogéographiques locales et dont la « DCE-compatibilité » pouvait être assurée pour le 2^{ème} plan de gestion DCE à venir (2016-2021). Ainsi, l'IDR a été pensé et élaboré pour pouvoir faire l'objet d'une utilisation en routine dans les réseaux institutionnels de surveillance et tout particulièrement dans le cadre du RCS, qui servira de réseau de base pour les opérations de rapportage de l'Etat Ecologique vers l'Union Européenne. Une première version opérationnelle d'IDR a été rendue disponible dans le courant de cette année 2011. Toutefois, elle présente quelques défauts de jeunesse qui seront prochainement amendés en s'appuyant sur une collecte d'échantillons complémentaires. Les problèmes détectés concernent en particulier le niveau élevé de saprobie naturelle trouvé sur sites de référence de la Réunion, du fait d'importantes chutes saisonnières d'organes végétaux (pièces florales, feuilles, fruits...) qui tombent directement dans les cours d'eau, dans des conditions de température sensiblement plus élevées qu'en métropole. A noter aussi l'instabilité climatique inter-annuelle des 2 zones de transition climatique Nord et Sud, qui rendent la typologie des flores naturelles très variable selon les caractéristiques de la séquence climatique cumulée intervenue sur 2 ou 3 ans, un facteur fortement structurant de la composition des communautés ayant trait aux caractéristiques du régime pluviométrique et hydrologique (succession d'années à précipitations abondantes *versus* séquence interannuelle à fort déficit pluviométrique). La version 1 de l'IDR a vocation à être reformulée sous 1 à 2 ans et il est notamment prévu d'y faire intervenir une gradation plus importante des taxons d'alerte. Le présent guide n'aborde donc pas la méthodologie de calcul indiciel, amenée à évoluer d'ici peu, mais toutes les phases opérationnelles intervenant dans l'acquisition puis l'exploitation d'un échantillonnage diatomique pluri-spécifique. Les opérations participant à la mise en œuvre de la méthode doivent faire l'objet d'une application rigoureuse et répétable se rapprochant de celles définies dans la Norme AFNOR NF-T 90-354. Cependant, des adaptations modérées ont été nécessaires pour tenir compte de certaines particularités du contexte local. En particulier, par rapport aux conditions métropolitaines, la pression d'échantillonnage et de comptage a dû être un peu augmentée pour tenir compte des caractéristiques peu biogènes de nombreux habitats aquatiques, ainsi que de la faible biodiversité spécifique des assemblages de la Réunion.

A chaque étape de l'acquisition des données de surveillance, il convient de respecter strictement le protocole de mise en œuvre de cette nouvelle méthode biologique. Le présent guide vise donc à cadrer la mise en œuvre opérationnelle de l'IDR afin d'obtenir des résultats d'évaluation les plus reproductibles et les plus fiables possibles. Il synthétise de manière didactique toutes les étapes clés de la mise en œuvre de l'IDR, allant de l'élaboration du plan d'échantillonnage aux méthodes de prélèvement, de préparation du matériel biologique et des lames permanentes, d'analyse et de comptage des échantillons et de bancarisation des résultats, l'objectif étant de limiter au maximum la variabilité du résultat indiciel lié à une différence de pratique d'opérateurs. L'hydrobiologie est une matière complexe nécessitant la capitalisation d'un bagage et d'une expérience qui s'acquiert sur le moyen terme. Aussi, en complément du présent guide méthodologique et du guide taxonomique qui l'accompagne, il est conseillé aux nouveaux opérateurs d'avoir recours, autant que de besoin, à des formations professionnelles adaptées.